TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BAŞ BOYUN KANSERLERİNİN GELİŞİMİNDE HERPES VİRÜSLERİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Dr. Merve GÜRLER

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Zeynep Ceren KARAHAN

ANKARA

2023

Merve GÜRLER
AÜTF – TIBBİ MİKROBİYOLOJİ TIPTA UZMANLIK TEZİ (2023)

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BAŞ BOYUN KANSERLERİNİN GELİŞİMİNDE HERPES VİRÜSLERİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Dr. Merve GÜRLER

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Zeynep Ceren KARAHAN

ANKARA
2023

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Baş Boyun Kanserlerinin Gelişiminde Herpes Virüslerin Rolünün Araştırılması" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımca yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından, 17.06.2021 tarihinde, İ6-404-21 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Merve GÜRLER
Tarih: 12.04.2023
İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Turnitin ***Orijinallik Raporu***

Orijinallik Raporu

Baş Boyun Kanserlerinin Gelişiminde Herpes Virüslerin Rolünün Araştırılması

Merve Gürler tarafından tez (Tıpta Uzmanlık Tezi) den işleme kondu

- İşleme kondu: 11-Nis-2023 13:45 +03
- NUMARA: 2061455160
- Kelime Sayısı: 27166
- Gönderildi: 1

Benzerlik Endeksi

%5

Kaynağa göre Benzerlik

Internet Sources: %4

Yayınlar: %2

Öğrenci Ödevleri: %3

KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı: Merve Gürler	**Sınav tarihi:** 27 / 04 / 2023
Anabilim/Bilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Z. Ceren Karahan	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER
Tezin Başlığı: Baş Boyun Kanserlerinin Gelişiminde Herpes Virüslerin Rolünün Araştırılması
Tezin Niteliği: ☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu: ☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız.

Jüri Başkanı
Prof. Dr. İştar Dolapçı
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Z. Ceren Karahan
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi
Doç. Dr. Duygu Öcal
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimle ilgili çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, desteğini ve sabrını esirgemeyen, öğrencisi olmaktan her daim gurur duyacağım değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Zeynep Ceren Karahan'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, destek ve tecrübelerini esirgemeyen Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki saygıdeğer hocalarıma,

Hastaların tanı ve izlemi sürecinde olduğu kadar projenin gerçekleştirilmesi aşamalarında da bilgi ve desteklerini esirgemeyen Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. M. Kürşat Gökcan'a, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Öğr. Gör. Dr. Seher Yüksel'e

Tanımış olmaktan mutluluk duyduğum ve beraber çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma,

Tüm eğitim hayatım boyunca desteği, sabrı ve sonsuz sevgileri ile hep yanımda olan, beni bu günlere getiren canım annem ve babama,

Desteğini ve sevgisini her zaman hissettiren, bana arkadaş olan canım kardeşime,

Sabrı, ilgisi, sonsuz sevgisi ve anlayışı ile her zaman yanımda olan, her anlamda bana güç veren, yol arkadaşım, sevgili eşim Dr. Fatih Gürler'e

Sonsuz teşekkürlerimle…

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 21L0230022 proje numarası ile desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan ii
Özgünlük Raporu iii
Kabul ve Onay Sayfası iv
Önsöz v
İçindekiler vi
Simgeler ve Kısaltmalar ix
Şekiller Dizini xiii
Tablolar Dizini xiv

1. TÜRKÇE ÖZET 1
2. ABSTRACT 2
3. GİRİŞ VE AMAÇ 3
4. GENEL BİLGİLER 4
   4.1. Herpes Virüsler 4
      4.1.1. Genel Özellikler 4
      4.1.2. Sınıflandırma 4
      4.1.3. Replikasyon 5
      4.1.4. Patogenez ve Bağışık Yanıt 7
      4.1.5. Epidemiyoloji 10
      4.1.6. Bulaşma ve Klinik 11
         4.1.6.1. HSV-1 ve HSV-2 12
         4.1.6.2. VZV 14
         4.1.6.3. EBV 15
         4.1.6.4. CMV 16
         4.1.6.5. HHV-6 ve HHV-7 17
         4.1.6.6. HHV-8 18
      4.1.7. Tanı 20
         4.1.7.1.HSV-1 ve HSV-2 20
         4.1.7.2. VZV 21
         4.1.7.3. EBV 21
         4.1.7.4. CMV 22
         4.1.7.5. HHV-6 ve HHV-7 23
         4.1.7.6. HHV-8 24
      4.1.8. Herpesvirus Enfeksiyonlarında Moleküler Tanı Yöntemleri 24

4.2. Baş ve Boyun Kanserleri 26
4.2.1. Tanım 26
4.2.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri 26
4.2.2.1.Sigara ve Alkol Kullanımı 26
4.2.2.2.Virüsler 26
4.2.2.3. Genetik Yatkınlık 27
4.2.2.4. Irk 27
4.2.2.5. Meslek 27
4.2.2.6. Diyet-Beslenme 27
4.2.2.7. Radyasyon 28
4.2.3. Epidemiyoloji 28
4.3. Baş-Boyun Kanserleri Gelişiminde Herpes Virüslerin Rolü 29
4.3.1. HSV-1 ve HSV-2 29
4.3.2. VZV 30
4.3.3. EBV 30
4.3.4. CMV 32
4.3.5. HHV-6 ve HHV-7 33
4.3.6. HHV-8 35
5. GEREÇ ve YÖNTEM 38
5.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri 38
5.2. Formalinle Fikse Edilmiş Parafine Gömülü Doku Örneklerinden DNA eldesi 39
5.2.1. Deparafinizasyon İşlemi 39
5.2.2. DNA'nın Saflaştırılması 39
5.2.3. Ekstraksiyon Sonrası Örnekteki DNA Varlığının Araştırılması 40
5.3. Örneklerde Herpes Virüs Varlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması 41
5.3.1. HSV-1,-2 ve EBV Varlığının Araştırılması 43
5.3.2. VZV Varlığının Araştırılması 44
5.3.3. CMV, HHV-6 ve HHV-7 Varlığının Araştırılması 46
5.3.4. HHV-8 Varlığının Araştırılması 47
5.4. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesi 49
5.5. İstatistiksel Analiz 49

6. BULGULAR 50
6.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri 50
6.2. PZR ile Örneklerde Herpes Virüs Varlığının İncelenmesi 52
6.2.1. HSV-1,-2 ve EBV Varlığının Araştırılması 52
6.2.2. VZV Varlığının Araştırılması 52
6.2.3. CMV, HHV-6 ve HHV-7 Varlığının Araştırılması 53
6.2.4. HHV-8 Varlığının Araştırılması 53
7. TARTIŞMA 54
8. SONUÇ ve ÖNERİLER 61
9. KAYNAKLAR 63

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma
κ	: Kappa
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
ml	: Mililitre
xg	: Bağıl merkezkaç kuvveti
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADV	: Adenovirüs
AIDS	: Edinilmiş immün yetmezlik sendromu
AP1	: Aktivatör protein
BBK	: Baş boyun kanseri
BB-SHK	: Baş ve boynun skuamöz hücreli karsinomu
BCR	: B cell receptor (B hücre reseptörü)
Bç	: Amplikon büyüklüğü
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CD4+	: Cluster of differentiation antigen 4 (Farklılaşma kümesi)
CD8+	: Cluster of differentiation antigen 8 (Farklılaşma kümesi)
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık kontrol ve önleme merkezi)

cdc2	: Siklin bağımlı kinaz-2
ciHHV-6	: Kromozoma entegre HHV-6
CMV	: Sitomegalovirüs
CR-2	: Complement reseptör
DFA	: Direkt floresan antikor
Dk	: Dakika
DLBCL NOS	: Spesifiye edilmemiş HHV8-pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EA	: Erken antijen
EBNA	: Ebstein-Barr Virüs Nükleer Antijen
EBV	: Ebstein-Barr Virüs
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent analizi
EMN	: Enfeksiyöz mononükleoz
EphA2	: Ephrin reseptörü tirozin kinaz A2
FGF-2	: Fibroblast büyüme faktörü-2
GLPD	: Germinotropik lenfoproliferatif bozukluk
HDAC	: Histon deasetilaz
HEK	: İnsan embriyonik böbrek hücreleri
HHV-6, 7	: İnsan Herpes Virüs 6, 7
HHV-8	: İnsan Herpes Virüs 8
HIV	: İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü
HL	: Hodgkin lenfoma
HPV	: İnsan papilloma virüsü
HSV-1, 2	: İnsan Herpes Virüs 1, 2

HVEM	: Herpes virüs giriş mediatörü
IE63	: En erken protein 63
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
IRF-7	: İnterferon düzenleyici faktör 7
KCP	: Tamamlayıcı kontrol proteini
KS	: Kaposi sarkomu
LANA-1	: Latentlikle ilişkili nükleer antijen-1
LMP	: Latent membran proteini
M	: Moleküler büyüklük belirteci
MCD	: Multisentrik castleman hastalığı
MHC	: “Major histocompatibility complex” (Doku uygunluk antijeni)
MMP-9	: Matriks metalloproteinaz-9
MRC-5	: İnsan akciğer fibroblast hücre dizileri
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
MSS	:Merkezi sinir sistemi
NK	: Doğal katil hücreler
NK	: Negatif kontrol
ORF	: Açık okuma çerçevesi
PEL	: Primer efüzyon lenfoması
PK	: Pozitif kontrol
pp65	: Fosfoprotein 65
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RK	: Tavşan böbreği

RNA	: Ribonükleik asit
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmleri
TCR	: T-hücre reseptörü
T-helper	: Yardımcı T-lenfosit
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü-α
UV	: Ultraviyole
VCA	: Viral kapsid antijen
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VZV	: Varicella Zoster Virüs
XBP-1s	: x box bağlayıcı protein-1s
QCDM	: "Quality Control for Molecular Diagnostics" (Moleküler Tanılarda Kalite Kontrol)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Herpes virüslerin yapısı ……..4

Şekil 4.2. Herpes virüslerin replikasyon basamakları…….7

Şekil 4.3. Herpes simpleks virüslerinin neden olduğu veziküler lezyon görüntüsü……..13

Şekil 4.4. **A/B**: Suçiçeğinde görülen karakteristik vezikül şeklinde döküntü görüntüsü, **C:** Tek bir dermatom ile sınırlı herpes zoster görüntüsü ……..14

Şekil 4.5. EMN'de farenjit görüntüsü……15

Şekil 4.6. Konjenital CMV enfeksiyonlu yenidoğan görüntüsü……16

Şekil 4.7. Ekzantem subitumda görülen makülopapüler döküntü görüntüsü……18

Şekil 4.8. **A.** Vücutta deri tutulumu olan Kaposi Sarkomu görüntüsü, **B.** Gövde ve sırtta Multisentrik Castleman hastalığı görüntüsü, **C.** Primer efüzyon lenfoması görüntüsü……...19

Şekil 4.9. HSV-1 veya HSV-2 ile enfekte biyopsi örneklerindeki karakteristik Cowdry tip A intranükleer inklüzyonları görüntüsü……...20

Şekil 4.10. EBV ile enfekte hastaların periferik yaymalarında görülebilen Downey hücresinin görüntüsü…….22

Şekil 4.11. CMV ile enfekte biyopsi örneklerindeki karakteristik "Baykuş gözü" (Owl eye) inklüzyon cisimciği görüntüsü…….23

Şekil 6.1. EBV agaroz jel görüntüsü…….52

Şekil 6.2. VZV agaroz jel görüntüsü…….52

Şekil 6.3. CMV agaroz jel görüntüsü……53

Şekil 6.4. HHV-6 agaroz jel görüntüsü…….53

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. *Herpesviridae* ailesi alt aileleri……5

Tablo 4.2. Herpes virüslerin primer hedef hücreleri, hedef hücrede kullanılan reseptörleri ve latent kaldıkları hücreler…….....9

Tablo 5.1. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan örnekler ……..…….41

Tablo 5.2. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve amplikon büyüklükleri ……..…..…..42

Tablo 6.1. Grupların demografik özellikleri ve BBK gelişimi açısından risk faktörlerinin karşılaştırılması……..50

Tablo 6.2. Klinik örneklerinde HHV pozitifliği tespit edilen hastaların özellikleri……...51

1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Baş ve boyun kanseri (BBK), dünya çapında en sık görülen yedinci malign tümördür. Etiyolojisi çok faktörlüdür ve virüsler önemli risk faktörleri olarak kabul edilir. BBK ile en sık ilişkilendirilen virüsler arasında herpes virüsler bulunmaktadır. *Herpesviridae* ailesinin özellikle bazı üyelerinin (Epstein-Barr Virus [EBV] ve İnsan Herpes Virüsü-8 [HHV-8]) kanser patogenezinde yer aldıkları çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur. Herpes Simplex Virus-1 ve -2 (HSV-1, HSV-2), Varicella Zoster Virus (VZV), Sitomegalovirüs (CMV) ve İnsan Herpes Virüsü-6 ve -7 (HHV- 6 ve 7) gibi diğer herpes virüslerin de malign bir fenotip ile ilişkili olabileceği üzerinde durulsa da, bunların kanser gelişimindeki rolleri halen belirsizliğini korumaktadır. Bu çalışmanın amacı, Türk popülasyonunda baş ve boynun skuamöz hücreli karsinomun (BB-SHK) gelişiminde herpes virüslerinin rolünü araştırmaktır.

Metod: 2000-2016 yılları arasında BB-SHK (hasta grubu, n=300) veya benign oral kavite/orofarinks hastalığı (kontrol grubu, n=200) tanısı alan 500 hastanın patolojik arşiv doku örnekleri değerlendirildi. BB-SHK grubunda 153 larenks, 122 oral kavite ve 25 orofarinks tümör örneği bulunmaktaydı. Kontrol grubunda 121 kronik tonsillit, 30 skuamöz epitelyal hiperplazi, 11 likenoid mukozit, 10 kronik iltihabi mukoza, sekiz skuamöz papilloma, 20 diğer örnek (oral mukoza, dil, gingiva gibi çeşitli dokuların benign lezyonları) mevcuttu. Dokulardan total nükleik asit ekstraksiyonu FFPE Tissue Kit (Qiagen, Germany) ile yapıldı. Doku örneklerinde herpes virüs varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı. Çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu tarafından onaylandı (17.06.2021/I6-404-21).

Bulgular: Hiçbir örnekte HHV-1, -2, -7 ve -8 saptanmamıştır. EBV; hasta grubundan bir örnekte (%0,3) ve kontrol grubundan üç örnekte (%1,5) tespit edilmiştir. VZV; hasta grubundan hiçbir örnekte saptanmazken, kontrol grubundan bir örnekte (%0,5) tespit edilmiştir. CMV; hasta grubundan hiçbir örnekte tespit edilmezken, kontrol grubundan beş örnekte (%2,5) saptanmıştır. HHV-6; hasta grubundan üç örnekte (%0,9) ve kontrol grubundan iki örnekte (%1) tespit edilmiştir.

Sonuç: Türk toplumunda herpes virüs seroprevelansı oldukça yüksek olmasına rağmen doku örneklerinde viral genom saptanmaması, toplumumuzda BB-SHK gelişiminde virüslerden ziyade diğer faktörlerin daha ön planda olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelime: Baş ve boyun kanseri, skuamöz hücreli karsinom, insan herpes virüsleri

2. ABSTRACT

Aim: Head and neck cancer (HNC) is the seventh most common malignant tumor worldwide. Their etiology is multifactorial and viruses are important risk factors. Among the viruses most commonly associated with BBK are herpesviruses. Various studies have shown that some members of the *Herpesviridae* family (Epstein-Barr Virus [EBV] and Human Herpes Virus-8 [HHV-8]) are carcinogenic. There are studies that other herpesviruses such as Herpes Simplex Virus-1 and -2 (HSV-1, HSV-2), Varicella Zoster Virus (VZV), Cytomegalovirus (CMV) and Human Herpes Virus-6 and -7 (HHV-6, -7) may also be associated with a malignant phenotype. however, their carcinogenic role still remains unclear. The aim of this study was to investigate the role of herpes viruses in the development of HNC in the Turkish population.

Method: Pathological archive tissue samples of 500 patients diagnosed with HN-SCC (patient group, n=300) or benign oral cavity/oropharyngeal disease (control group, n=200) between 2000 and 2016 were evaluated. There were 153 laryngeal, 122 oral cavity and 25 oropharyngeal tumor specimens in the HN-SCC group. There were 121 chronic tonsillitis, 30 squamous epithelial hyperplasia, 11 lichenoid mucositis, 10 chronic inflammatory mucosa, eight squamous papilloma, 20 other specimens in the control group. Total nucleic acid extraction from tissues was performed with FFPE Tissue Kit (Qiagen, Germany). The presence of herpes virus in tissue samples was investigated by polymerase chain reaction (PCR). The study was approved by the ethics committee of Ankara University Faculty of Medicine (17.06.2021/I6-404-21).

Results: HHV-1, -2, 7 and -8 were not detected in any of the samples. EBV was detected in one sample (0.3%) from the patient group and in three samples (1.5%) from the control group. While VZV was not detected in any samples from the patient group, it was detected in one sample (0.5%) of the control group. While CMV was not detected in any of the samples from the patient group, it was detected in five samples (2.5%) from the control group. HHV-6 was found in three samples (0.9%) from the patient group and in two samples (1%) from the control group.

Conclusion: Although herpes virus seroprevalence is quite high in the Turkish population, absence of viral genome in tissue samples indicates that other factors rather than viruses are more prominent in the development of HN-SCC in our population.

Keyword: Head and neck cancer, squamous cell carcinoma, human herpes viruses

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Baş ve boyun kanseri (BBK), tüm dünyada en sık görülen malign tümörler arasında yedinci sırada yer alır ve halk sağlığı sorunlarından birini oluşturur (1, 2). BBK paranazal sinüsler, burun boşluğu, ağız, larenks, tükürük bezleri ve tiroid bezi dâhil olmak üzere baş ve boynun birçok yerinde ortaya çıkabilir. BBK sıklıkla 45-50 yaş arası hastalarda tespit edilirken, son yıllarda daha genç yaşlarda görülme eğiliminde artış vardır. Bu durum, bu tür kanserlerin sigara ve alkol kullanımı, diyet, ağız hijyeni ve viral enfeksiyonlar gibi çevresel faktörlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (3). Üst aerodigestif sistemin bu kanserojen faktörlere kronik olarak maruz kalması, orofaringeal mukozada displastik veya premalign lezyonlara yol açabilir ve sonuçta BBK ortaya çıkabilir (4). Tüm oral skuamöz hücreli karsinom vakalarının yaklaşık %75'inin ana nedeni olarak kabul edilen alkol ve sigara kullanımı gibi faktörlere ek olarak, virüsler de BBK gelişiminde önemli bir risk faktörüdür (3). BBK'nın %90'ından fazlası geliştikleri bölgenin skuamöz epitelinden kaynaklanır. Bu kanserlere baş ve boynun skuamöz hücreli karsinomları (BB-SHK) denir (1).

Onkojenik virüslerin BB-SHK gelişimindeki rolü çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir (5). BBK ile ilişkisi üzerine en fazla araştırma yapılan virüsler; insan papilloma virüsü (HPV), herpes virüsler, adenovirüsler ve hepatit C virüsüdür. Herpes virüslerin bağışık yanıttan kaçma konusundaki üstün başarısı, bu virüslerin uzun süren latent enfeksiyonlar oluşturma olasılığını arttırmaktadır (3). *Herpesviridae* ailesi üyelerinden olan Epstein-Barr Virus (EBV) ve İnsan Herpes Virüsü-8 (HHV-8)'in çeşitli kanserlerle ilişkisi yapılan çalışmalarla ile ortaya konmuştur (6-10). Herpes Simplex Virus-1 ve -2 (HSV-1, HSV-2), Varicella Zoster Virus (VZV), Sitomegalovirüs (CMV) ve İnsan Herpes Virüsü-6 ve -7 (HHV- 6 ve 7) gibi diğer herpes virüslerin de malign dönüşüm ile ilişkili olabileceği üzerinde durulsa da, bunların kanser gelişimindeki rolleri halen belirsizliğini korumaktadır (5, 7, 11-13).

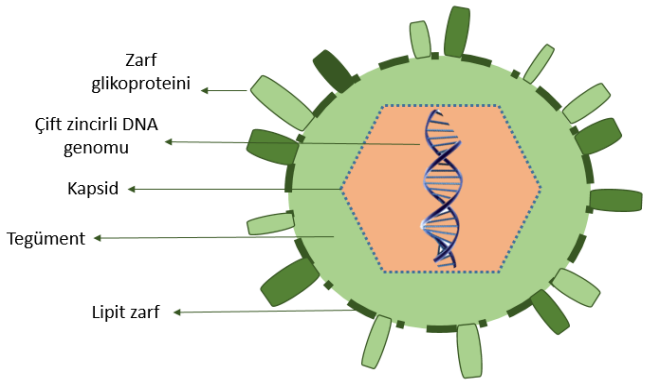
Bu araştırmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesinde BB-SHK tanısı ile opere edilen 300 hasta (hasta grubu) ile benign oral kavite ve orofarenks hastalıkları nedeni ile opere edilen 200 hastanın (kontrol grubu) patolojik tanı için gönderilen arşiv doku örneklerinde herpes virüs DNA'sı varlığının araştırılması ve herpes virüslerin BBK gelişimindeki olası rollerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Herpes Virüsler

4.1.1. Genel Özellikler

Herpesviridae ailesi üyeleri olan herpes virüsler; zarflı, çift iplikçikli DNA virüsleridir (Şekil 4.1). Viral partikül, çift zincirli lineer bir DNA ve DNA'yı çevreleyen 12'si pentamer, 150'si hekzamer olmak üzere 162 kapsomer içeren ikozahedral bir kapsidden oluşmaktadır. Kapsidin dışında lipit içeren bir zarf bulunur (14). Zarf ile kapsid arasında bulunan ve tegüment adı verilen boşlukta, replikasyonu başlatmaya yardımcı olan viral proteinler ve enzimler bulunur (15). Zarflı virüs 150- 200 nm, çıplak virion ise yaklaşık 125 nm çapındadır (16).



Şekil 4.1. Herpes virüslerin yapısı

4.1.2. Sınıflandırma

Herpesviridae ailesi içinde farklı türleri enfekte edebilen 200'den fazla virüs bulunmaktadır. Bunlar arasında sekizinin insanlarda hastalığa sebep olduğu bilinmektedir. Hepsi latent enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahiptir. Herpes virüsler; genom yapısı, doku tropizmi, replikasyon süresi, sitopatik etki, latent olarak yerleştiği hücre tipi, oluşturduğu hastalığın patogenezi ve hastalığın klinik özelliklerine dayanarak *alfa-herpesviridae*, *beta-herpesviridae* ve *gama-herpesviridae* olmak üzere üç alt aileye ayrılmaktadır (17, 18) (Tablo 4.1).

- Alfa-herpes virüsler farklı konaklarda latent kalabilirler. Diğer alt gruplar ile kıyaslandığında replikasyon süreleri daha kısadır. Primer olarak çeşitli gangliyonlarda latent kalma eğilimindedirler. Konak savunma sisteminin zayıfladığı dönemlerde tekrar reaktive olarak enfeksiyon oluşturabilirler (17, 19, 20).

- Beta-herpes virüslerin yerleşebileceği konak çeşidi daha kısıtlıdır. Replikasyon süreleri, diğer alt gruplara göre daha uzundur. Enfekte ettikleri hücrelerin büyümesine yol açarak dev hücrelerin oluşmasına neden olurlar. Lenforetiküler hücreler, salgı bezleri, böbrek ve diğer dokulara yerleşerek latent kalabilirler (17, 19, 20).

- Gama-herpes virüslerin konakları oldukça sınırlı kalmaktadır. Bu virüsler lenfoblastoid hücrelerde çoğalabilirler. Bazı epiteloid ve fibroblastoid hücrelere yerleşerek litik enfeksiyonlara neden olabilirler (17, 19, 20).

Tablo 4.1. *Herpesviridae* ailesi alt aileleri

Alt aile	**Taksonomik adı**	**Sıklıkla kullanılan adı**
Alfa-herpesviridae	Human Herpes Virus-1 (HHV-1) Human Herpes Virus-2 (HHV-2) Human Herpes Virus-3 (HHV-3)	Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1) Herpes Simplex Virus-2 (HSV-2) Varicella-Zoster Virus (VZV)
Beta-herpesviridae	Human Herpes Virus-5 (HHV-5) Human Herpes Virus-6 (HHV-6) Human Herpes Virus-7 (HHV-7)	Sitomegalovirus (CMV) HHV 6A ve HHV 6B HHV-7
Gama-herpesviridae	Human Herpes Virus-4 (HHV-4) Human Herpes Virus-8 (HHV-8)	Epstein-Barr Virus (EBV) Kaposi Sarkomu İlişkili Herpes Virus (KSHV)

4.1.3. Replikasyon

Herpesviridae ailesi üyelerinin replikasyonu, virüsün füzyon ile konak hücrenin içine girmesi ile başlar. Virüs zarf glikoproteinleriyle, heparan sülfat ve glikozaminoglikanlar gibi özgül hücre yüzey reseptörlerine tutunur (14, 21).

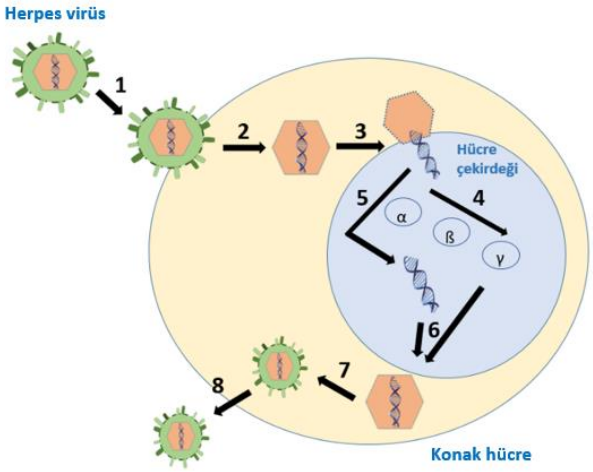
Zarfın plazma zarı ile füzyonunu kolaylaştıran viral glikoproteinler, nükleokapsidin sitoplazmaya aktarılmasına katkıda bulunur. Virionun tegümentinde bulunan enzimler ve

transkripsiyon faktörleri hücre içine taşınır. Nükleokapsid çekirdek zarına tutunur ve genomu, genomun replike ve transkribe edildiği hücre çekirdeğine iletilir. Viral genomun transkripsiyonu ve viral protein sentezi üç aşamada gerçekleşir (22-24):

1. Gen transkripsiyonunun düzenlenmesi için gerekli olan en erken proteinlerin sentezi (α geni tarafından kodlanır)
2. DNA polimeraz dâhil olmak üzere transkripsiyon faktörlerinin de içinde bulunduğu erken proteinlerin sentezi (β geni tarafından kodlanır)
3. Viral genom replikasyonu başladıktan sonra üretilen ve esas olarak yapısal proteinleri içeren geç proteinlerin sentezi (γ geni tarafından kodlanır)

Alfa geni tarafından kodlanan proteinlerin ana fonksiyonu, β geninin ekspresyonunun aktivasyonudur. β geni tarafından kodlanan protein ve enzimler (DNA polimeraz, UL30) viral genom replikasyonunda, nükleotid metabolizmasının regülasyonunda, α geninin baskılanmasında ve γ geninin aktivasyonunda rol almaktadır (14). Sitoplazmada translasyona uğrayan en erken proteinler hücre çekirdeğine taşınır ve erken gen grubunun transkripsiyonunu sağlar (24). Viral genom; hücresel enzim olan DNA'ya bağımlı RNA polimeraz tarafından RNA'ya transkribe edilir, transkripsiyon aşaması; viral ve hücresel nükleer faktörler tarafından düzenlenir. Bu faktörlerin etkileşimi; virüsün litik, persistan veya latent bir enfeksiyon oluşturup oluşturamayacağını belirler. Latent enfeksiyonu destekleyen hücreler, genom replikasyonu olmadan özel bir viral gen dizisini kopyalar. Latent enfeksiyon sırasında virüs replikasyonu en erken fazdan sonra ilerlemez. Erken ve geç gen ekspresyonuna ilerleme ise hücre ölümü ve litik enfeksiyonla sonuçlanır. Replikasyon sırasında viral DNA polimeraz, viral genomu kopyalar. Virüs tarafından kodlanan çöpçü ("scavenging") enzimler, DNA polimeraz için deoksiribonükleotit substratlarını sağlar. Bu ve diğer viral enzimler, viral DNA sentezi için yeterli deoksiribonükleotit ve enzimlerden yoksun hücrelerde (örn., nöronlar) virüsün replikasyonunu kolaylaştırır (25). Bu esnada virüsün yapısal proteinlerini oluşturan gama proteinler (geç proteinler) sentezlenir (24). Kapsid proteinleri tarafından boş kapsid oluşturulur ve sitoplazmada toplanır. Yeni sentezlenen virüs DNA'ları bu kapsidlerin içine yerleşir, tegümentle ilişkili proteinleri alır ve golgi zarından tomurcuklanarak hücreyi terk ederken zarfını alır. Ekzositoz veya hücrenin parçalanması yolu ile virüsler hücreden çıkar (26).

Transkripsiyon, protein sentezi, glikoprotein işleme ve hücreden ekzositotik salınım, hücresel mekanizmalar tarafından gerçekleştirilir. Replikasyon sırasında, herpes virüsler hücresel süreçleri sekteye uğratır, hücresel DNA'yı bozar ve hücre iskeletini değiştirir (25). Herpes virüslerin replikasyon basamakları Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Herpes virüslerin replikasyon basamakları: 1-Virüsün reseptörler aracılığıyla hücreye tutunması ve hücreye girişi; 2-Virüsün zarfını kaybedilip nükleokapsid halinde sitoplazmaya salınması; 3-Nükleokapsidin hücre çekirdeğine iletimi; 4-Viral genom transkripsiyonu; sırasıyla en erken (α geni ile), erken (ß geni ile) ve geç (γ geni ile) proteinlerin sentezi; 5-Viral DNA replikasyonu; 6-Virüs DNA'sının kapsid içine yerleşerek nükleokapsid yapısının oluşması; 7-Tomurcuklanma ile zarfın şekillenmesi ve nükleokapsidin etrafını sarması; 8-Ekzositoz yolu ile hücreden çıkış.

4.1.4. Patogenez ve Bağışık Yanıt

HSV-1 ve HSV-2 mukoepitelyal hücreleri enfekte edip bu bölgelerde replike olurken; VZV'nin primer enfeksiyonu tonsillerde ve solunum yolu mukozasında başlar. EBV, ağız epiteline ve tonsillerin B hücrelerine adapte olmuştur ve bu hücrelerde primer enfeksiyonu başlatır. CMV, vücut salgıları ile bulaşarak epitelyal hücreler başta olmak üzere pek çok hücreyi enfekte eder. HHV-6 ve HHV-7 sıklıkla tükürük bezlerinde replike olarak primer enfeksiyona neden olur; HHV-8'in ise primer enfeksiyonda hedef hücresi çoğunlukla B hücreleridir (25).

Başlangıç enfeksiyonunu takiben virüsün konak hücrede latent kalabilmesi için; konak hücre çekirdeğinde herpes virüs genomunun dairesel epizomlar şeklinde varlığını sürdürebilmesi; bölünen hücrelerde viral genomun oluşan hücrelere aktarılabilmesi ve protein ekspresyonunun sınırlanarak bağışıklık sisteminden kaçabilmesi gerekmektedir. Bu latent evre sırasında herpes virüs, enfekte ettiği hücrede oldukça uzun bir süre canlılığını korur (27)

HSV-1 ve HSV-2, enfekte ettiği hücrelerin çoğunda litik enfeksiyona yol açarken, HSV-1 trigeminal ve servikal, HSV-2 ise sakral ganglionlarda latent enfeksiyona neden olur. Litik enfeksiyonda virüs tarafından hücresel makromoleküllerin sentezinin inhibisyonu, konak hücre DNA'sının parçalanması, hücre iskeletinin bozulması ve hücresel yaşlanma sonucu sitoliz

meydana gelir. Nükleer yapıda değişiklikler ortaya çıkar ve Cowdry tip A asidofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleri oluşur (28, 29).

VZV, primer enfeksiyondan sonra dorsal kök veya kranial sinir ganglionlarında latent olarak kalır (30, 31).

EBV, konakta yaşam boyu süren enfeksiyon oluşturmak ve yayılımını sürdürmek için gelişiminin farklı evrelerindeki B hücrelerini kullanır (32).

CMV, yaygın litik enfeksiyon oluşturmak yerine latent enfeksiyon oluşturmayı tercih eder. CMV çoğunlukla hücre içinde kalır ve özellikle lenfosit ve lökosit içinde tüm vücuda yayılır (25). CMV, enfekte ettiği hücrelerin çekirdeğinde genişlemeye yol açarak minimal sitopatolojik etkiler yapar. Çekirdekte oluşturduğu inklüzyon cisimciklerinin etrafı boşlukludur ve bu görünüme baykuş gözüne benzediği için "owl eye'' inklüzyon cisimcikleri adı verilir (33).

HHV-6 ve HHV-7 primer enfeksiyondan sonra T hücrelerinde latent enfeksiyon oluşturur, bu hücrelerin aktivasyonu ile replike olabilir. Virüsün çoğaldığı hücreler; büyür, elektron yoğun (refraktil) hale gelir. Bu hücreler nadiren intranükleer ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri içerir (34).

HHV-8 tükürük yoluyla bulaşarak orofarinkste primer enfeksiyona neden olur ve çoğalan lenfoid hücrelerde latent olarak kalabilir (35).

Latent kalan herpes virüs, gen ekspresyonu ile zaman zaman aktifleşir ancak bir herpes virüsün latent evreden yeniden aktivasyon sürecine geçiş sırasındaki genetik ve biyokimyasal mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Stres, çeşitli enfeksiyon hastalıkları, immünosüpresif ilaçlar gibi pek çok faktör herpes virüslerin reaktivasyonuna neden olabilir (36). Virüsün reaktivasyonu sonucu semptomatik veya asemptomatik enfeksiyonlar meydana gelebilir.

Herpes virüslerin primer hedef hücreleri, hedef hücrede kullandıkları reseptörleri ve latent kaldıkları hücreler Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Herpes virüslerin primer hedef hücreleri, hedef hücrede kullanılan reseptörleri ve latent kaldıkları hücreler (21, 27, 37-41)

Virüs	Primer hedef hücre	Hedef hücre reseptörü	Latent kaldığı hücre
HSV-1	Mukoepitelyal hücre	Herpes virüs giriş mediatörü (HVEM), nektin-1, heparan sülfat	Trigeminal ve servikal ganglion
HSV-2	Mukoepitelyal hücre	Herpes virüs giriş mediatörü (HVEM), nektin-1, heparan sülfat	Sakral ganglion
VZV	Mukoepitelyal hücre	Heparan sülfat	Dorsal kök veya kranial sinir ganglionları
EBV	Epitelyal hücre, B lenfosit	Complement reseptör (CR-2) veya CD21	B lenfosit
CMV	Monosit, lenfosit, epitelyal hücre	Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), integrin	Monosit ve lenfositler
HHV-6A	Epitelyal hücre, monosit	CD46	T lenfosit ve monosit
HHV-6B	T lenfosit	CD134	T lenfosit
HHV-7	Epitelyal hücre, monosit	CD4	T lenfosit
HHV-8	B lenfosit	Heparan sülfat, Integrin α3β1, ephrin reseptörü tirozin kinaz A2 (EphA2)	B lenfosit ve diğer lenfoid hücreler

Viral enfeksiyona karşı oluşan ilk tepki doğal immün yanıt olup bu yanıt viral replikasyonu sınırlar. Doğal immün yanıttan kaçabilen virüs ile savaşmak için kazanılmış immün yanıtta görev alan hücreler devreye girer. Humoral bağışık yanıt, herpes virüs enfeksiyonunun yayılmasının ve ciddi enfeksiyon oluşumunun önüne geçilmesini amaçlar. Bu yol ile herpes virüs enfeksiyonları kontrol altında tutulur ancak tamamen yok edilemez (36). Hücresel bağışık yanıtta ise virüs ile enfekte olan hücrelerin lenfositler yolu ile elimine edilmesi amaçlanır (42). Sitotoksik T-lenfositler ve doğal öldürücü hücreler (NK) herpes virüs replikasyonunun baskılanmasında ve virüsün latent kalmasında rol alan en önemli hücrelerdir (43). Hücresel bağışıklığın baskılanması ile herpes virüs enfeksiyonlarının aktivasyonu buna kanıttır. Herpes virüslere karşı oluşan T-lenfosit yanıtı zamanla CD4+ T-lenfosit yanıtına

dönüşür. Daha sonra CD4+ T-lenfositler CD8+ T-lenfositlerinin aktivasyonunu sağlar (44). Yardımcı T-lenfosit (T-helper) tip 1 (Th-1) proenflamatuvar immün yanıtı herpes virüsler gibi hücre içi patojenleri yok etmeyi amaçlar. Th-1 sitokinleri; güçlü hücresel bağışık yanıtların, Th-2 sitokinleri; güçlü humoral bağışık yanıtların gelişmesini sağlarlar (36).

Herpes virüs enfeksiyonları sitokin-kemokin mekanizmasını da etkiler. Sitokin ve kemokinler herpes virüs enfeksiyonlarında hücre savunmasında yer alırlar. Herpes virüs enfeksiyonu, interlökin-1β (IL-1β), IL-6, tümör nekroz faktörü-α (TNF-α), interferon (IFN)-α, -β ve –γ gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınmasını aktive eder. IFN-γ, TNF-α ve IL-6 özellikle antiviral aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte, herpes virüsler antiviral sitokinlerle savaşmak için de stratejiler geliştirirler (45).

Herpes virüsler makrofaj ve lenfositlerin yapısını bozmak yoluyla konakta immünsupresyona neden olarak inatçı enfeksiyonlara yol açabilirler (44). Özellikle CMV başta olmak üzere herpes virüsler, makrofajların yüzeyindeki sınıf I ve sınıf II doku uygunluk antijenlerinin (“major histocompatibility complex’’, MHC) yapısına etki ederek sitotoksik T-lenfositler tarafından tanınmaktan kurtulabilme yeteneğine sahiplerdir. MHC sınıf-I molekülünü eksprese eden hücreler NK hücreleri tarafından tanınır ve yok edilir ancak herpes virüsle enfekte hücreler; MHC sınıf-I molekülünün ekspresyonunu azaltarak NK hücreleri tarafından parçalanmaktan kurtulurlar. Böylece NK hücreleri fonksiyonsuz kalır ve herpes virüs enfeksiyonu devamlılığını korur (46).

4.1.5. Epidemiyoloji

Herpes virüs enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Primer HSV-1 enfeksiyonu sıklıkla erken çocukluk döneminde geçirilirken, HSV-2 ile primer enfeksiyon HSV-1’e nazaran daha ileri yaşlarda geçirilir. Gelişmekte olan toplumlarda popülasyonun %90’ından fazlasında iki yaşına kadar anti-HSV-1 antikor oluşumu izlenmektedir (47). Dünya nüfusunun yaklaşık %70'i HSV-1 ile enfekte olmasına karşın (48-50); HSV-2 için bu oran %2-17 arasındadır. (49-51). Türkiye’de enfeksiyon prevalansı HSV-1 için yaklaşık %90 iken, HSV-2 için %4-6 olarak bildirilmiştir (52-54).

İleri derecede bulaşıcı olan VZV üzerine yapılan araştırmalar, gelişmiş ülkelerdeki erişkinlerin %80-95'inin anti-VZV antikorları taşıdığını ortaya koymuştur (55-57). Ülkemizdeki seropozitiflik oranları ise yaklaşık %93 olarak bildirilmiştir (58, 59).

Kötü hijyen koşulları, kalabalık ortamlarda yaşam gibi faktörler yaşamın ilk yıllarında EBV enfeksiyonlarının görülme sıklığını arttırsa da, EBV enfeksiyonu en sık adölesan çağda görülmektedir (60). Dünyada %66-87 arasında değişkenlik gösteren seropozitiflik oranları (61, 62); ülkemizde %91-99 arasındadır (63, 64).

Fırsatçı bir patojen olan CMV, immünkompetan kişilerde nadiren semptomlara sebep olurken, özellikle kazanılmış bağışıklık yetmezliği sendromu (AIDS) gibi bağışıklık sisteminin baskılanmasına sebep olan hastalıkları olanlarla, yenidoğanlar gibi bağışıklık sistemi yetersiz bireylerde ciddi hastalıklara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda CMV seroprevalansı %40-100 arasında değişiklik göstermektedir (65). Türkiye'de yapılan araştırmalarda ise CMV seropozitifliği %96-99,8 arasında, konjenital CMV enfeksiyonu ise %0,2-1,19 arasında saptanmıştır (66-70).

Yaygın görülen bir çocukluk çağı hastalığı olan ekzantem subitum diğer adıyla roseola infantum ile ilişkilendirilen HHV-6 ve HHV-7'nin seroprevalansı dünyada %69-100 arasındadır. Sıklıkla altı ay ile üç yaş aralığındaki çocuklarda görülür (71).

Dünyada HHV-8'in seroprevalansı oldukça heterojendir. İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte hasta grupları hariç tutulduğunda; Kuzey Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'da genel popülasyonun %10'undan azında HHV-8 antikorları tespit edilirken, Sahra altı Afrika'da ise seropozitiflik %50'nin üzerine çıkmaktadır (72).

4.1.6. Bulaşma ve Klinik

Herpes virüs ailesi üyelerinin bulaşması sıklıkla yakın temas ile olur. Bunun dışında solunum yolu ile (örn., VZV, EBV), vücut salgıları ya da organ nakli (örn., CMV, EBV) yoluyla da bulaşabilmektedirler (25).

4.1.6.1. HSV-1 ve HSV-2

HSV-1 ve HSV-2, yaygın insan patojenleridir. HSV-1 genellikle oral sekresyonlar ile bulaşıp; ağız, dudak, deri ve beyni tutar. HSV-2 ise sıklıkla cinsel yolla bulaşır ve genital enfeksiyonlara neden olur. Bu virüsler primer enfeksiyonu takiben konağın vücudunda ömür boyu latent olarak kalabilir. Soğuk, güneş ışığı, stres, travma, menstrual döngü gibi faktörlere bağlı olarak reaktive olabilirler (73).

Primer herpetik gingivostomatit, HSV-1 enfeksiyonunun en sık rastlanılan klinik şeklidir, ancak nadiren HSV-2 de buna neden olabilir. Primer enfeksiyon genellikle asemptomatik seyreder (74). En sık altı ay-altı yaş arasındaki çocuklarda görülür. Semptomatik enfeksiyonlarda ani başlayan ateş, baş ağrısı, halsizlik, ağrılı ağız lezyonları görülebilmektedir. Üç-on günlük inkübasyon döneminden sonra, lezyonların çıkacağı yerde lokal hassasiyet meydana gelir. Lezyonlar eritematöz bir taban üzerinde şeffaf veziküller şeklinde başlar ve ağrılı, derin olmayan ülserlere dönüşürler (Şekil 4.3). İlk 3-5 gün süresince yeni lezyonlar oluşmaya devam eder. Ateş 3-4. günden itibaren düşmeye başlar, lezyonlar 10-14 gün içinde kendiliğinden söner (73, 75).

Herpetik dolama, el parmaklarının distal falankslarının etkilendiği bir enfeksiyondur. Genellikle HSV enfeksiyonu olan hastalara bakan hastane personelinde, diş hekimlerinde, parmak emen bebeklerde ve genital HSV enfeksiyonu olan kişilerde görülür (76). Etken, HSV-1 veya HSV-2 olabilir. Hastalık 3-4 hafta içinde kendiliğinden iyileşme eğilimindedir (77).

Genital herpeste veziküler yapıdaki lezyonlar erkek hastalarda tipik olarak penis başı veya gövdesinde ve bazen de üretrada gelişirken; kadın hastalarda lezyonlar vulva, vajina, serviks, perianal bölge veya iç uylukta görülür ve sıklıkla kaşıntı ve mukoid vajinal akıntı eşlik eder (78). Olguların %60- 95'i HSV-2'ye bağlıdır. Lezyonlar çok ağrılıdır ve çoğunlukla ateş, bitkinlik, idrar yaparken ağrı ve bölgesel lenfadenopati ile birliktedir (79). Ortalama üç hafta süreyle lezyonlardan virüs salınımı olur ve bu sürenin sonunda hastalık klinik olarak iyileşir, ancak sakral ganglionlarda etken latent olarak kalır (73).

Neonatal herpes olgularının çoğunda etkenin doğum esnasında doğum kanalından, daha az bir kısmının ise in utero veya doğumdan sonraki dönemde bulaştığı saptanmıştır. Doğum esnasında olan bulaşlarda olguların büyük kısmında etken HSV-2'dir (80). Neonatal enfeksiyonun gelişebilmesi için annenin doğum sırasında virüsü taşıması gerekmektedir. Neonatal herpeste "deri-göz ve ağızda lokalize hastalık'', "ensefalit" ve " çoklu organ

tutulumu'' (merkezi sinir sistemi, akciğer, karaciğer, adrenal bezler, deri, göz, ağız) olmak üzere üç farklı tip enfeksiyon kliniği görülebilir (81).



Şekil 4.3. Herpes simpleks virüslerinin neden olduğu veziküler lezyon görüntüsü (https://coem.com/blog/genital-herpes-symptoms-causes-treatment. Son erişim tarihi: 08.02.2023)

HSV-1 ve HSV-2 nörovirulans yetenekleri ile insanlarda merkezi sinir sisteminde çeşitli enfeksiyonlara sebep olabilen virüslerdir. Vakaların % 90'ından fazlasından HSV-1 sorumludur (82). HSV beyin parankiminde nekrotizan ensefalit ve dissemine hemorajik nekroz yapar. Sıklıkla temporal lob tutulma eğilimindedir. Merkezi sinir sisteminde HSV enfeksiyonları, yenidoğanlarda neonatal herpes olarak, daha büyük çocuklar ve erişkinlerde ise herpes simpleks ensefaliti veya aseptik menenjit şeklinde görülmektedir (83).

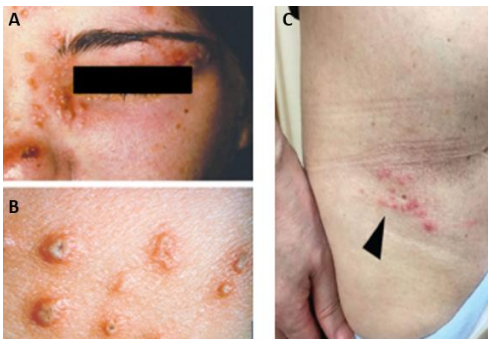
Rekürren herpetik stomatit, HSV-l 'in reaktivasyonundan kaynaklanır, sekonder herpetik stomatit olarak da adlandırılır. Sıklıkla dudaklar, sert damak, dişetinde tekrarlar. Yanma, kaşıntı ve eritem prodromal semptomlardır. Lezyonlar klinik olarak küçük vezikül kümeleri şeklindedirler (73).

Rekürren herpes labialis, latent kalan virüsün reaktivasyon sonucunda duysal gangliyondan enfeksiyon bölgesine doğru göç etmesiyle gelişir (84). Özellikle deri ve mukozanın birleştiği ağız ve burun etrafında, eritematöz alan üzerinde çok sayıda veziküllerle kendini gösterir ve aynı yerde tekrar çıkar. Veziküllerin patlamasıyla sekonder enfeksiyonlar ve ağrılı ülserasyonlar oluşabilir. Yaş, genetik yatkınlık, bağışıklık sisteminin durumu, viral subtip gibi etkenler tekrarlayan enfeksiyonların sıklığını belirler. Primer enfeksiyona göre daha hafif ve kısa süreli seyreder. Lezyonlar primer enfeksiyonun oluştuğu dermatomla sınırlıdır. "Herpes simpleks labialis" veya diğer adıyla "uçuk" tekrarlayan orofasiyal herpesin en sık görülen klinik tablosudur (85).

4.1.6.2. VZV

VZV, çocukluk çağının döküntülü hastalıklarından biri olan su çiçeğinin (varisella) etkenidir. Hastalık, VZV'nin primer enfeksiyonu sonucu meydana gelir; genellikle hafif seyirli, kendi kendini sınırlayan çocukluk çağı hastalığıdır ve sıklıkla semptomatiktir (86-89). Virüs ile karşılaşma sonrası yaklaşık 10-15 gün içinde klinik belirtiler ortaya çıkar. Halsizlik, iştahsızlık, ateş, boğaz ağrısı ve burun tıkanıklığı gibi genel semptomların olduğu prodromal bir dönem vardır (87). Bunu takiben genellikle 24 saat içerisinde makül şeklinde başlayan, hızla papüle ve ardından karakteristik veziküllere dönüşen döküntüler oluşur (86) (Şekil 4.4). Suçiçeği hastalarında tipik olarak yüzde, gövdede ve ekstremitelerdeki lezyonlar aynı anda farklı evrelerde görülürler. Yeni vezikül oluşumu genellikle dört gün içinde sonlanır ve çoğu lezyon altı gün içinde kabuklanır (87). Kabuklar yaklaşık bir-iki hafta içinde dökülme eğilimindedir ve ciltte geçici hipopigmentasyon /hiperpigmentasyon alanları bırakabilmektedir (86). Primer enfeksiyon yetişkinlerde çocuklara göre genellikle daha şiddetlidir (86-89).

Primer VZV enfeksiyonu sonrası virüs, arka sinir kök ve gangliyonlarında latent döneme girer. Yaşamın ilerleyen dönemlerinde genellikle bağışıklık sisteminin baskılandığı durumlarda reaktive olarak herpes zoster (zona hastalığı) şeklinde kendini gösterebilir. Latent kaldığı gangliondan köken alan sinir tarafından innerve edilen bölgede şiddetli ağrı, hiperestezi ve genellikle suçiçeğindekine benzer şekilde kümelenmiş veziküler lezyonlar ortaya çıkar. Döküntü ilgili dermatomla sınırlıdır (86-89) (Şekil 4.4). Yaygın olarak servikal, trigeminal ve lumbosakral dermatomlar etkilenir (73, 75). Postherpetik nevralji adı verilen ve aylarca hatta yıllarca sürebilen kronik bir ağrı sendromu, herpes zoster gelişen hastaların %30'unda görülür (86-89).



Şekil 4.4. A/B: Suçiçeğinde görülen karakteristik vezikül şeklinde döküntü görüntüsü (Jeffrey I. Cohen, Herpes Zoster, New England Journal of Medicine 2013; 369:255-263) **C:** Tek bir dermatom ile sınırlı herpes zoster görüntüsü (Junki Mizumoto, Abdominal pseudohernia due to herpes zoster, Cleveland Clinic Journal of Medicine September 2021; 88:480-481).

4.1.6.3. EBV

Bebek ve çocuklardaki EBV enfeksiyonlarının çoğu asemptomatik seyrederken, ergen ve yetişkinlerde sıklıkla enfeksiyöz mononükleoz (EMN) klinik tablosu ile kendini göstermektedir (90, 91). Tükürük ile bulaşma sonrası enfeksiyon orofarenkste başlar. Viral replikasyon orofaringeal epitel hücreleri ve tükürük bezlerinde gerçekleşir ve virüs tonsiller gibi yakın lenfatik bölgelerde bulunan B lenfositlerini enfekte eder (92, 93). EMN, EBV ile enfekte B lenfositler ile koruyucu T-lenfositleri arasındaki savaş olarak nitelendirilebilir. Klasik semptomları; lenfadenopati, farenjit ve yüksek ateş olup, bunlara sıklıkla halsizlik, baş ağrısı, boğaz ağrısı, hepatosplenomegali eşlik edebilir (Şekil 4.5). Semptomların çoğu 10 gün içerisinde gerilemeye başlar fakat servikal lenfadenopati üç haftaya kadar devam edebilmektedir (92, 94, 95).

Virüs, B lenfositlerini enfekte ettikten sonra bu hücrelerde latent olarak uzun süre canlılığını koruyabilir. Bağışıklık sistemi sağlam olan kişilerde virüsle enfekte olan hücrelerin çoğu hücresel bağışık yanıt ile elimine edilir, ancak az sayıda enfekte lenfosit ömür boyu konakta kalır (92). Hücresel bağışık yanıtları yetersiz kişilerin, EMN'den ziyade yaşamı tehdit eden poliklonal lösemi benzeri B hücreli proliferatif hastalık ve lenfomaya eğilimli olmaları muhtemeldir. Yine doğuştan T hücre fonksiyon bozukluğu olan erkeklerde, yaşamı tehdit eden X'e bağlı lenfoproliferatif hastalık görülme olasılığı yüksektir. EBV; Burkitt lenfoma, Hodgkin lenfoma (HL) ve diğer birçok lenfoproliferatif hastalık yanı sıra nazofaringeal karsinom gelişimi ile de ilişkilidir. Dil ve ağız lezyonları ile karakterize oral tüylü lökoplaki, özellikle edinilmiş immin yetmezlik sendromu olan (AIDS) hastalarda ortaya çıkan fırsatçı bir hastalıktır (92, 94, 95).



Şekil 4.5. EMN'de farenjit görüntüsü (https://jetem.org/infectious_mononucleosis. Son erişim tarihi: 08.02.2023).

4.1.6.4. CMV

Genç erişkinlikte edinilen CMV enfeksiyonlarının çoğu asemptomatik seyreder. Bununla birlikte hastalarda, klinik olarak EMN'yi andıran ancak heterofil negatif mononükleoz sendromu görülebilir. CMV, konjenital enfeksiyonların en sık viral nedenidir. Hastalık belirtileri, düşük doğum ağırlığı, trombositopeni, mikrosefali, intraserebral kalsifikasyon, sarılık, hepatosplenomegali ve döküntü olarak sıralanmaktadır. Gebelikleri sırasında primer CMV enfeksiyonu geçiren annelerin bebeklerinde ciddi doğum defektleri görülme riski son derece yüksektir (25). Norveç'te, gebelerin yaklaşık %60'ının gebelik öncesi CMV ile enfekte olduğu ortaya konmuş olup gebelik sırasında virüs yeniden aktive olabilir (96). Enfekte bir anneden doğan yenidoğanların yaklaşık yarısı CMV ile enfekte olur (Şekil 4.6) (25).

CMV aynı zamanda önemli bir fırsatçı patojendir. Akciğerin CMV hastalığı (pnömoni ve pnömonit), bağışıklığı baskılanmış hastalarda sık görülür ve tedavi edilmezse ölümcül olabilir. CMV, ciddi derecede bağışıklık yetmezliği olan hastalarda (örn. AIDS hastaları) sıklıkla retinit, kolit veya özofajite neden olur (96, 97). Son zamanlarda organ transplantasyonu sonrası karşılaşılan fırsatçı patojenler arasında dikkat çeken CMV, immünsüpresyon zemininde ciddi enfeksiyonlara neden olabilir (98). Transplantasyon sonrası CMV enfeksiyonu sıklıkla ilk 3 ay içinde görülür (99). CMV ensefaliti sıklıkla bağışıklığı baskılanmış kişilerde yaygın enfeksiyonun bir sonucu olarak görülse de immünkompetan bireylerde de vakalar bildirilmiştir (98).



Şekil 4.6. Konjenital CMV enfeksiyonlu yenidoğan görüntüsü (Pessoa FS, Gonçalves VC, Lacerda EMDCB. Haemophagocytic lymphohistiocytosis secondary to intrauterine cytomegalovirus infection. Revista do Instituo de Medicina Tropical de Sao Paulo. 2021; 63:15).

4.1.6.5. HHV-6 ve HHV-7

Çocukluk çağı döküntülü hastalıklarından biri olan ekzantem subitum diğer adıyla roseola infantum etkenidirler (100, 101). Anneden geçen koruyucu antikorların azalmasını takiben sıklıkla altı ay ile üç yaş arası çocuklarda görülen, 3-4 gün devam eden yüksek ateş, yaygın ve kısa süreli makülopapüler döküntüler ile karakterize bir hastalıktır (Şekil 4.7). Dokuz-on günlük inkübasyon süresi ve 3-4 günlük prodromal dönemi mevcuttur (100, 102). Döküntü; ateşin düşmesi ile beraber boyun, kulak arkası ve sırtta başlayıp yüz ve distal ekstremiteler hariç vücudun diğer kısımlarına yayılma eğilimindedir, basmakla solar (100). Döküntü deride enfekte olmuş T-lenfositlerin varlığına veya gecikmiş tip aşırı duyarlılığa neden olan T-lenfositlerin aktivasyonu bağlı olabilir (100, 101). Diğer klinik belirtiler arasında döküntü öncesindeki palpebral ödem ve suboksipital, postaurikuler ve servikal lenfadenopati sayılabilir (100).

HHV-6, 6-24 aylık çocuklarda görülen febril nöbetlerin en sık nedenidir (100, 101). Süt çocuğu ateşi; çocuklarda döküntü olmaksızın görülen yüksek ateşli klinik tablodur. Bu tabloda konvulzif semptomların varlığı virüsün sinir sistemindeki replikasyonunun bir sonucu olarak karşımıza çıkabilir (102, 103).

Toplumda HHV-6 seroprevalansı yüksek olduğundan yetişkinlerde primer enfeksiyon görülme olasılığı düşüktür (34). Erişinlerde klinik olarak; mononükleoz sendromu, lenfadenopati, fulminan hepatit, ateş, pnömoni, deri döküntüleri görülebilir (100, 101). HHV-6 bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, özellikle organ transplantasyonu olan hastalarda reaktive olabilir (34). HHV-6 reaktivasyonu genellikle transplantasyonu takiben iki-üç hafta içinde meydana gelir. Bu hastalarda ateş, interstisyel pnömoni, lökopeni, trombositopeni, hemofagositik sendrom ve greft rejeksiyonu görülebilir (104, 105). CD4+ T-lenfosit hücre tropizmi nedeniyle HHV-6'nın HIV gelişimini indükleyebileceği gösterilmiştir. HHV-6 enfeksiyonu, ileri dönem AIDS olgularında; ateş, halsizlik, grip benzeri semptomlar, hepatosplenomegali, deri döküntüsü, retinit, pnömoni gibi belirti ve bulgularla seyreden yaygın HHV-6 hastalığına neden olabilir (34). HHV-6'nın nöral doku tropizmi bulunmaktadır. Primer enfeksiyonda febril konvülziyon, hemipleji, menenjit veya ensefalit tablolarına sebep olabilir (102). HHV-6 ve HHV-7'nin ekzantem subitum dışında; Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma, Langerhans hücreli histiyositozis, serviks kanseri, disproteinemi ile birlikte anjiyoimmünoblastik lenfadenopati gibi malign hastalıklar (106) ve multipl skleroz gibi klinik tablolara yol açabilecegi gösterilmiştir (107).



Şekil 4.7. Ekzantem subitumda görülen makülopapüler döküntü görüntüsü (Çiftçi E, Altıncı hastalık-roseola infantum-ekzantem subitum, Journal Pediatric Infectious 2021; 15:202)

4.1.6.6. HHV-8

HHV-8; Kaposi sarkomu (KS), Castleman hastalığı ve nadir bir B hücreli lenfoma türü olan primer efüzyon lenfoması gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (108-111). KS, genellikle deri ve mukozal tutulum ile karakterize vasküler bir neoplazmdır (112, 113). (Şekil 4.8-A) Yaşlı erkeklerde, organ nakli hastalarında, immünsüpresif kişilerde, özellikle de AIDS hastalarında yaygın görülür. Çoğunlukla cinsel yol ile bulaşırken, anneden bebeğe bulaşma da olabilir (114). Klasik (Avrupa) tip, endemik (Afrika) tip, AIDS ilişkili (epidemik) ve iyatrojenik olmak üzere dört alt tipi mevcuttur (112, 115).

Klasik KS, tanımlanan ilk klinik tip olup genellikle alt ekstremitenin deri/mukozasını tutar, prognozu oldukça iyidir. Çoğunlukla 40-70 yaş grubundaki erkeklerde görülür. Çocuklarda son derece nadir rastlanır (115, 116).

Endemik (Afrika) formunda alt ekstremite ve/veya lenf nodu kaynaklı çok sayıda deri tümörlerine rastlanır. Özellikle orta yaştaki erkekler ve çocuklarda görülür. Özellikle Afrika'daki AIDS salgınından sonra görülme sıklığı belirgin şekilde artmıştır. Prognozu en kötü KS formudur (116, 117).

AIDS ilişkili (epidemik) form, HIV ile enfekte homoseksüel ya da biseksüel erkeklerin çoğunda KS oluşumunun tespit edilmesi ile tanımlanmıştır. Ayrıca kadınlarda, çocuklarda, intravenöz uyuşturucu kullananlarda ve AIDS riski altındaki diğer popülasyonda da görülebilir. Gövde, boyun, ekstremiteler gibi vücudun pekçok yerinde çok sayıda cilt lezyonuna sebep olur.

Agresif biçimde yayılması ve iç organlarda fonksiyon kaybına yol açması ile diğer klinik formlardan ayrılır (115, 118, 119).

İyatrojenik form, transplantasyon yapılan hastalarda ve uzun süreli immünsupresif tedavi alan hastalarda görülen nadir bir formdur. Bu tip hastalarda KS genellikle immünosüpresif tedavi sonlandırıldığında kendiliğinden gerileme eğilimindedir. Transplantasyon yapılan hastalarda KS gelişme riskinin diğer hastalara göre 400-500 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu hastalardaki KS gelişmesinin nedeni olarak latent HHV-8 reaktivasyonu veya transplante edilen organ/ transfüzyon aracılığı ile enfeksiyon gelişimi öne sürülmektedir (116, 117, 120).

Castleman hastalığı benign lenfoproliferatif bir hastalıktır. Multisentrik ve unisentrik olmak üzere iki klinik alt grubu vardır. Multisentrik Castleman hastalığı enfeksiyöz komplikasyonlara, malign lenfomaya ve KS'ye neden olarak genellikle ölümle sonuçlanan bir tablo oluşturur (Şekil 4.8-B). Daha sık görülen hiyalin vasküler tip ve daha nadir görülen plazma hücreli tip olmak üzere iki farklı histolojik alt tipi bulunmaktadır (121, 122).

Primer efüzyon lenfoması (PEL), özellikle HIV ve HHV-8 enfeksiyonu kaynaklı nadir görülen agresif bir Hodgkin dışı lenfoma alt türüdür (Şekil-4.8-C). Genellikle vücut boşluklarını saran zarlarda herhangi bir tutulum olmaksızın en az birinde sıvı birikimi ile karakterizedir. PEL hastalarında EBV ko-enfeksiyonuna sıklıkla rastlanır (121-123).

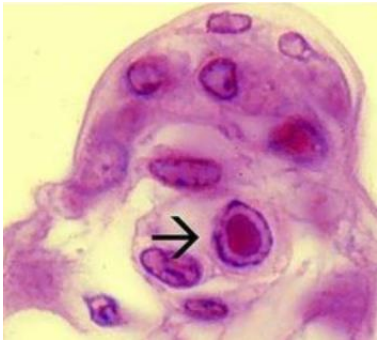


Şekil 4.8. A.Vücutta deri tutulumu olan Kaposi Sarkomu görüntüsü (https:// www.sciencephoto.com /media/251567/ view/kaposi-sarcoma-skin-plaques. Son erişim tarihi: 08.02.2023) **B.** Gövde ve sırtta Multisentrik Castleman hastalığı görüntüsü (Phadungsaksawasdi Pawit, Multicentric Castleman's disease presenting with cutaneous plasmacytosis, Journal of Cutaneous Immunology and Allergy 2020; 3:86-87) **C.** Primer efüzyon lenfoması görüntüsü (Chaudhry, Saad; Singh, Lovepreet; Wills, Shannon; and Osobamiro, Omokayode, Primary Effusion Lymphoma in an HIV negative male with history of Kaposi Sarcoma, Medical Education Research Forum 2019. *Case Reports*. 102).

4.1.7. Tanı

4.1.7.1. HSV-1 ve HSV-2

HSV enfeksiyonlarında meydana gelen lezyonlar tipiktir ve tanı klinik olarak konabilir. Ancak klinik tanı her zaman tek başına yeterli gelmeyebilir. Lezyon tabanından alınan örnek ile hazırlanan ve Wright-Giemsa boyası ile boyanan Tzank yaymasında, karakteristik sitopatolojik değişikliklerin izlenmesi ile tanı konabilse de bu yöntemle HSV-1, 2 ayrımı yapılamaz (124). Doku biyopsi örneklerinde sitopatik etki önce sitoplazmik granülasyonla başlayıp hücre boyutunun artışı ve balonlaşma ile kendini gösterirken; daha sonra hücrelerin füzyonu ile "çok çekirdekli dev hücreler" ve "sinsitya" oluşumu meydana gelir, bu yapı Cowdry tip A intranükleer inklüzyonları içerir (28) (Şekil 4.9). HSV tipine özgül DNA primerleri kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), HSV-1 ve HSV-2'yi saptamak ve ayırt etmek için kullanılır (125). Serolojik testler primer HSV enfeksiyonunun tanısı ve epidemiyolojik çalışmalar için yararlı olabilir. HSV'ye karşı oluşan antikorların tespitinde enzim immün essey (EIA), indirekt immunofloresan (IIF), nötralizasyon testi gibi çeşitli serolojik yöntemler kullanılmaktadır (126). Hızlı, duyarlı ve özgül bir yöntem olan direkt floresan antikor (DFA) testi ve immunohistokimyasal testler ile hücre kültüründe viral antijenlerin tespiti ve viral tiplendirme yapılabilmektedir. HSV enfeksiyonları için en duyarlı ve özgül tanı yöntemi virüsün izolasyonudur. HSV, başta primer tavşan böbrek (RK) ve insan akciğer fibroblast hücre dizileri (MRC-5) olmak üzere çok çeşitli hücre dizilerinde kolaylıkla üretilebilir (127).



Şekil 4.9. HSV-1 veya HSV-2 ile enfekte biyopsi örneklerindeki karakteristik Cowdry tip A intranükleer inklüzyonları görüntüsü (https://www.slideserve.com/galvin/cytomegalovirus-infection-owl-s-eye-nuclear-inclusion-bodies-basophilic. Son erişim tarihi: 08.02.2023).

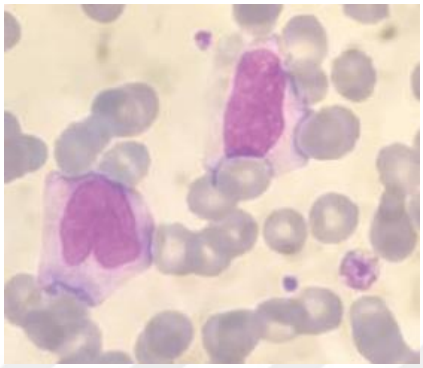
4.1.7.2. VZV

VZV tanısı sıklıkla klinik olarak konulmasına rağmen komplike vakalarda klinik tanının yanısıra laboratuvar tanısına da ihtiyaç duyulabilmektedir. Veziküler sıvı ve lezyonlar, deri kazıntıları, BOS gibi örnekler VZV enfeksiyonu tanısı için laboratuvara gönderilen örneklerdir. Sitolojik incelemede deri kazıntılarından hazırlanan preparatların (Tzanck yayması) Giemsa veya Wright boyası ile boyanması sonucunda çok çekirdekli dev hücrelerin varlığı HSV veya VZV enfeksiyonunu akla getirir (128). VZV'ye karşı oluşan antikorları saptayan serolojik testler günümüzde kullanılmaktadır. Antikoru daha hassas biçimde saptayabilmek için immünofloresan ve EIA gibi testler kullanılmalıdır. Anti VZV IgM ve IgG antikorları birkaç gün ara ile pozitifleşir. IgM iki ay içinde negatifleşirken, IgG ömür boyu pozitif kalır. Serolojik testler ile akut varisella veya geçirilmiş enfeksiyon ayrımının yapılabilmesi için akut ve konvalesan serumların birlikte çalışılması ve dört kat titre artışının gösterilmesi gerekir (129). VZV dış ortam koşullarına dayanıklı olmadığı için hücre kültüründe güç ürer bu yüzden virüs izolasyonu yapılmamaktadır. Ancak yapıldığında insan diploid fibroblast hücrelerine ekim gerçekleştirilir (130). PZR ve genom saptama teknikleri, tanıyı doğrulamakta yararlı olabilir (131).

4.1.7.3. EBV

EBV enfeksiyonlarının tanısında tam kan, plazma, beyin omurilik sıvısı (BOS), doku kullanılan örnekler arasındadır (25). Lenfositoz, EMN hastalarının %70'inden fazlasında görülebilen bir bulgudur. Periferik yayma yapıldığında %10-20 oranında atipik lenfositler (Downey hücreleri) görülebilir (Şekil 4.10). İlk kez Paul ve Bunnell tarafından tanımlanan ve koyun eritrositlerini aglütine eden heterofil antikorlar, EMN hastalığının her evresinde oluşabilir. Heterofil antikorların tespitinde Paul-Bunnel Testi veya monospot testi gibi ticari spot kitler kullanılmaktadır (132). Heterofil antikor bulundurmayan veya atipik olgularda tanı Epstein Barr virüs nükleer antijen (EBNA), erken antijen (EA), viral kapsid antijeni (VCA) gibi EBV'ye spesifik antikorların tespiti ile konur (133). Akut enfeksiyonun kronik enfeksiyon ya da reaktivasyondan ayrımında da antikor profilinden yararlanılmaktadır. (134). Serolojik yöntemler ile tespit edilen EBV spesifik antikor profilinin yorumlanamadığı durumlarda IgG olgunlaşma derecesini değerlendiren IgG avidite testi kullanılmaktadır (135, 136). Serolojik testler arasında immünfloresan testleri altın standart testlerdir (137). İmmünblot testleri de

yüksek özgüllüğe sahip oldukları için doğrulama testi olarak kullanılmaktadır (135). Örnekteki EBV DNA miktarının belirlenmesi ve tedavi sırasında hastalık seyrinin takibi amacıyla gerçek zamanlı PZR yöntemi kullanılmaktadır (132). Çeşitli klinik örneklerden virüs izolasyonu yapılabilir ancak virüsün enfekte ettiği hücrelerde belirgin sitopatik etki görülmediği için rutinde yaygın olarak kullanılmamaktadır (137, 138).

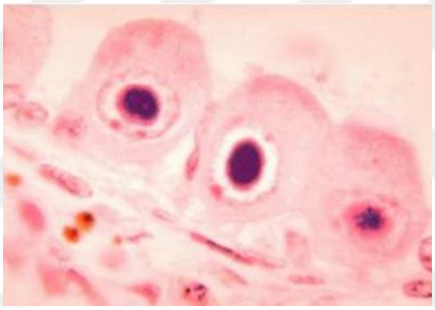


Şekil 4.10. EBV ile enfekte hastaların periferik yaymalarında görülebilen Downey hücresinin görüntüsü (Çiftçi E, Erat T. Tonsillopharyngitis not responding to antibiotic treatment. Journal Pediatric Infectious 2020; 14:148-149).

4.1.7.4. CMV

CMV ile enfekte dokuların biyopsi örneklerinden Wright-Giemsa, Papanicolaou veya hematoksilen/eozin boyaları ile hazırlanan preparatların histolojik olarak incelenmesi sonucu bazofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleri içeren genişlemiş sitomegalik hücreler izlenir. Bu yapı baykuş gözüne benzediği için ‘’owl eye’’ olarak isimlendirilir (Şekil 4.11). Bu yöntemlerin özgüllüğü yüksek olmasına rağmen duyarlılıkları oldukça düşüktür (139). CMV tanısında ‘altın standart’ tanı yöntemi hücre kültürü olsa da virüsün ancak belirli hücrelerde üreyebilmesi, replikasyonunun oldukça uzun sürede gerçekleşmesinden dolayı hücre kültüründe geç üremesi ve moleküler yöntemlerin rutin kullanıma girmesi nedeniyle klinik tanıda önemini yitirmiştir (140). Ancak sitopatik etki ortaya çıkmadan replikasyonun erken döneminde oluşan viral antijenlerin tespit edilebildiği hızlı hücre kültürü yöntemi (shell vial) tanıda kullanılmaktadır (139). Antijenemi testi; CMV enfeksiyonunun erken tanısında kullanılan hızlı bir yöntemdir. Bu test periferik kan polimorfonükleer lökosit çekirdeklerinde CMV pp65 antijeninin gösterilmesine dayanır (141). Aktif replikasyonu gösterir ve hücre kültüründen daha yüksek duyarlılığa sahiptir (139). Son zamanlarda CMV’nin tanı ve tedavi takibinde; tükürük, idrar,

plazma, serum, doku gibi pek çok örnekten genom kantitasyonu da yapan PZR testleri kullanılmaktadır. Bu testlerin duyarlılık ve özgüllüğü oldukça yüksektir. Ancak PZR yöntemi ile tespit edilen nükleik asit varlığı aktif veya latent enfeksiyon ayrımında kullanılamaz (142, 143). Serolojik yöntemlerden EIA testi ile spesifik anti-CMV IgM ve anti-CMV IgG antikorları araştırılmaktadır. Test sırasında diğer herpes virüslerle çapraz reaksiyon oluşabildiği için yanlış pozitif sonuçlar görülebilir (144, 145). CMV IgG antikoru, enfeksiyondan sonra 4-6. haftada saptanabilir ve ömür boyu pozitif kalır. CMV IgG antikoru saptanması hastalığın geçirildiğini gösterir (146). CMV IgG antikor pozitifliğinin primer enfeksiyonun göstergesi olup olmadığının belirlenebilmesi için avidite testleri kullanılabilir. Düşük avidite indeksi genellikle geçmiş üç ay içinde gerçekleşen yeni bir enfeksiyonu gösterirken; yüksek avidite indeksi üç aydan önce geçirilmiş veya tekrarlayan bir CMV enfeksiyonuna işaret eder (147).



Şekil 4.11. CMV ile enfekte biyopsi örneklerindeki karakteristik "Baykuş gözü-Owl eye" inklüzyon cisimciği görüntüsü (https://www.slideserve.com/galvin/cytomegalovirus-infection-owl-s-eye-nuclear-inclusion-bodies-basophilic. Son erişim tarihi: 08.02.2023)

4.1.7.5. HHV-6 ve HHV-7

HHV-6, insan göbek kordon kanı lenfositleri ile periferal mononükleer hücrelerden kültür yöntemi kullanılarak izole edilebilirse de klinik örneklerden primer izolasyon tanı laboratuvarlarında rutin olarak yapılmamaktadır (148, 149). HHV-6 ve HHV-7'nin rutin tanısında hücre kültürü yönteminden ziyade serolojik ve moleküler yöntemlerden yararlanılır (150-152). HHV-6 ve HHV-7'nin doğrudan tanısında in-situ hibridizasyon, in-situ PZR ve immünohistokimya yöntemleri kullanılabilir ancak en yaygın kullanılan yöntem, yüksek duyarlılığa sahip olan PZR'dır (151, 152). HHV-6 ve HHV-7 antikorlarının tayini için EIA yöntemleri de kullanılmaktadır. Primer veya geçirilmiş enfeksiyonun ayrımında avidite testlerinden yararlanılmaktadır (150).

4.1.7.6. HHV-8

HHV-8 enfeksiyonunun tanısında anti-HHV-8 antikorlarının tespit edilebildiği serolojik testler ve viral-DNA'nın saptanabildiği moleküler yöntemler kullanılabilir. Moleküler testler için, Kaposi sarkomu doku örnekleri, plazma, tükürük, periferik kan mononükleer hücreleri gibi pek çok klinik örnek kullanılmaktadır. HHV-8'e karşı oluşan antikorlar ömür boyu kalıcıdır. Serolojik yöntemler arasında; litik veya latent enfeksiyona karşı oluşmuş özgül antikorların tespit edildiği immunfloresan yöntemi ve viral proteinlerin kullanıldığı immunoblot yöntemler yöntemler yer alır (153). HHV-8'in dokudaki varlığını belirlemek amacı ile immunohistokimyasal yöntemlere başvurulmaktadır. Formalin ile fikse edilmiş ya da parafinlenmiş dokularda HHV-8'in farklı antijenlerini tespit etmeye yönelik monoklonal antikor testleri bulunur. Bu yöntem ile Kaposi sarkomu lezyonlarında iğsi hücrelerde, primer efüzyonlu lenfoma tümör hücrelerinde ve multisentrik Castleman hastalığı hücrelerinde HHV-8'i saptamak mümkündür (35). Şimdiye kadar HHV-8 enfeksiyonu tanısında herhangi bir tanı yöntemi altın standart olarak belirlenmemiştir.

4.1.8. Herpesvirus Enfeksiyonlarında Moleküler Tanı Yöntemleri

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR); hedef DNA dizisinin, spesifik komplementer oligonükleotidler ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimi kullanılarak *in vitro* olarak çoğaltılmasını sağlayan tekniktir. PZR, basit bir yöntem olup üç basamaktan meydana gelmektedir. İlk basamakta, çift iplikli kalıp DNA zincirinin belli bir süre yüksek sıcaklığa (94-96 °C) maruz bırakılarak ayrılması sağlanır. İkinci basamakta, hedef DNA bölgesine spesifik tasarlanmış primer dizisinin belirli bir sıcaklıkta (50-65 °C) tek iplikçikli DNA molekülüne bağlanması hedeflenmektedir. Üçüncü basamakta ise genellikle 72 °C'de DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) tarafından serbest nükleotidler kullanılarak istenilen DNA bölgesi tamamlanır. Tüm bu işlemler 25-45 defa tekrar edilerek başlangıçtaki hedef DNA dizisinden çok sayıda kopya meydana getirilir (154).

Monopleks polimeraz zincir reaksiyonu tek bir primer kullanılarak amplifikasyonun gerçekleştirilmesi iken; multipleks polimeraz zincir reaksiyonu iki veya daha fazla farklı PZR amplifikasyonunun aynı reaksiyonda gerçekleştirilmesi işlemine dayanmaktadır. Klasik PZR ile aynı basamaklarda gerçekleşir ancak çoklu primer setleri kullanılmaktadır. Yuvalanmış (Nested) polimeraz zincir reaksiyonunda ise birbirini takip eden iki polimeraz zincir reaksiyonu mevcuttur. Uygulanan ilk PZR aşamasında, hedef DNA dizisinin dış bölgesine özgü iki dış primer kullanılarak

uzun bir bölgenin çoğaltılması gerçekleşmektedir. İkinci PZR aşamasında, ilk PZR sonucu elde edilen ürün kalıp olarak kullanılarak iç bölgesine bağlanan iki iç primer kullanılarak küçük alanın çoğaltılması gerçekleştirilir. Bu yöntem, birçok amplifikasyon ürünü içerisinden çoğaltılmak istenilen DNA dizisinin bulunup çıkarılmasını sağlayan oldukça spesifik bir yöntemdir (155).

4.2. Baş ve Boyun Kanserleri

4.2.1. Tanım

Baş ve boyun kanserleri (BBK), baş ve boyun bölgesinin genellikle mukozal yüzeylerini kaplayan hücrelerden gelişir (1, 156). BBK'nın %90'ından fazlası geliştikleri bölgenin skuamöz epitelinden kaynaklanır. Bu kanserler, baş ve boynun skuamöz hücreli karsinomları (BB-SHK) olarak adlandırılır (1). BBK sıklıkla oral kavite (%42) ve larenksten (%25) köken alırken; orofarenks ve hipofarenks (%15), tükürük bezleri (%7), nazofarenks (%4), burun ve paranazal sinüsler (%4), tiroid bezi, deri ve konnektif dokulardan (%3) da kaynaklanabilir (157, 158).

4.2.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

4.2.2.1. Sigara ve Alkol Kullanımı

Özellikle oral kavite, hipofarenks ve larenks kanserleri gelişiminde sigara ve alkol kullanımı en önemli iki risk faktörüdür (159-163). Sigara veya tütün ürünleri kullanımının; BB-SHK gelişimini kadınlarda üç kat, erkeklerde ise yaklaşık iki kat arttırdığı gösterilmiştir (164). Özellikle sigara ile beraber alkol kullanımının, sigaranın kanser gelişimi üzerindeki etkisini daha da arttırdığı gösterilmiştir (165).

4.2.2.2. Virüsler

Hücre transformasyonunda rol oynayan ve BBK ile en sık ilişkilendirilen virüsler; insan papilloma virüsü (HPV) (166, 167), insan herpes virüsleri (HHV), adenovirüsler (ADV) (168) ve hepatit-C virüsüdür (HCV) (169, 170). Özellikle HPV tip-16, orofaringeal kanser gelişimi için en önemli risk faktörlerinden biridir (171-173). Herpes virüs ailesinin üyeleri içinde sadece EBV ve HHV-8'in bazı kanserlerin gelişimindeki rolleri kanıtlanmışken, diğer herpes virüslerin etkileri henüz tartışmalıdır (3, 174, 175).

4.2.2.3. Genetik Yatkınlık

Genetik yatkınlık birçok kanserin gelişiminde olduğu gibi BB-SHK gelişiminde de önemli bir yere sahiptir. Örneğin aril hidroksikarbon hidroksilaz enziminin, özellikle sigaradaki polisiklik hidrokarbonu aktive ederek larenks kanser gelişiminde rol aldığı gösterilmiştir (176, 177). Altıncı ve 13. kromozomlarda tespit edilen çeşitli tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), *HLA-A (rs2975042), HLA-F (rs3129055, rs9258122), GABBR1 (rs2076483, rs29232)* ve *TNFRSF19 (rs9510787)* gen grupları gibi birçok genetik faktör, bunların ürünlerinin dahil olduğu yolaklar ve bunların birbiriyle etkileşimi BBK gelişiminde tetikleyici role sahiptir (178, 179).

4.2.2.4. Irk

Sarı ırk, nazofarenks kanseri gelişimi için bir risk faktörüdür (180).

4.2.2.5. Meslek

Mesleki veya çevresel ajanlara maruz kalmanın BBK gelişimi açısından tetikleyici rollerinin olduğu gösterilmiştir. Ahşap ve nikel tozuna maruz kalanlarda, deri sanayiinde çalışanlarda paranazal sinüslerde adenokarsinom, burun boşluğu kanseri veya nazofarenks kanseri (180, 181); plastik-kauçuk ve tekstil sektöründe çalışanlarda orofarenks, oral kavite ve larenks kanserleri (182-184) daha sık görülmektedir. Yine çiftçilerde özellikle güneşe maruz kalma, dudak ve cilt kanserlerinin gelişimi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (182, 183).

4.2.2.6. Diyet-Beslenme

Beslenme şekli, kanser gelişimi üzerine farklı etkilere sahip olabilir. Yapılan bazı çalışmalarda sebze ve meyve ağırlıklı beslenme ile oral kavite kanserleri riskinin azaldığı belirlenirken, diğer bazı çalışmalarda kızartılmış gıdaların veya işlenmiş et ürünlerinin aşırı tüketimi sonucu larenks ve nazofarenks kanseri gelişme riskinin arttığı tespit edilmiştir (185-188).

4.2.2.7. Radyasyon

Baş boyun bölgesinde radyasyonla ilişkili olarak daha sık karşılaşılan maligniteler, tiroid bezi ve tükürük bezi tümörleridir (180, 189-191).

4.2.3. Epidemiyoloji

BBK tüm dünyada en sık görülen malign tümörler arasında yedinci sırada yer alır (192). Yılda 650.000'den fazla yeni vaka tespit edilirken; BBK yılda yaklaşık 330.000 kişinin ölümüne sebep olmaktadır (157). BBK Amerika Birleşik Devletleri'ndeki (ABD) tüm kanserlerin yaklaşık %4'ünü (193), Türkiye'de ise yaklaşık %3,3'ünü oluşturmaktadır (194). Bu kanserler, 50 yaş üstü kişilerde gençlerden, erkeklerde kadınlardan yaklaşık iki kat daha sık görülmektedir (193).

Dünya genelinde en sık görülen BBK tipleri sırasıyla dudak ve oral kavite, larenks ve nazofarenks kanserleridir. Türkiye'de en sık görülen tip larenks kanseri olup bunu sırasıyla dudak ve oral kavite kanserleri ile nazofarenks kanseri takip etmektedir (195).

4.3. Baş-Boyun Kanserleri Gelişiminde Herpes Virüslerin Rolü

4.3.1. HSV-1 ve HSV-2

Herpes simpleks virüsler, insanlarda çeşitli malignitelerin gelişiminde rol oynayan risk faktörleri arasında sayılmaktadır. HSV-1 ve HSV-2, konağın bağışık yanıtından kaçmak ve genellikle ömür boyu latent kalabilmeyi sağlamak için sayısız mekanizma geliştirmiştir (196). HSV-1, benign ve malign tiroid tümörlerinde saptanırken, HSV-2 papiller tiroid kanseri ve lenf nodu metastazlarının varlığı ile ilişkili bulunmuştur (197). HSV-2 ayrıca prostat kanseri (198), serviks kanseri (199) ve melanoma (198) gelişimi ile de ilişkilendirilmiştir.

HSV'nin karsinojenezdeki rolünün, *c-myc* ve *c-erb-B-1* gibi önceden var olan onkogenlerin aktivasyonunu, amplifikasyonunu ve aşırı ekspresyonunu arttırmak olduğu düşünülmüştür (200). Ayrıca HSV-1 ve HSV-2, T-hücre reseptörü ("T-cell receptor", TCR) sinyalini etkileyerek, TCR ile uyarılan NF-κB aktivasyonu ve IL-10 sentezini inhibe eder. Bunun sonucunda hücresel bağışıklık yanıtlar baskılanır ve viral replikasyon sürdürülür (201).

Yapılan bazı çalışmalarda, HSV ile BBK gelişimi arasında bir ilişki olabileceğine dair tespitlerde de bulunulmuştur (202-204).

HSV, enfekte ettiği hücreleri in-vitro ortamda malign bir yapıya çevirebilmektedir (205). Ancak in-vitro çalışmalardan elde edilen HSV bulgularının insan popülasyonlarında BBK gelişimi için geçerli olup olmadığı netlik kazanmamıştır (206). HSV'nin BBK gelişimindeki rolünü araştırmak amacı ile yapılan, hayvan çalışmaları (207-209) ve klinik çalışmalar (210) BBK gelişiminde dumansız tütün kullanımı ile HSV-1 arasında olası bir etkileşim olabileceğini göstermiştir. İki veya daha fazla virüs türünün birlikte bulaşmasının genel olarak kanser gelişimi riskinin artışına yol açabileceği ve aynı zamanda BBK gelişimi için de bir faktör olabileceği öne sürülmüştür (200, 210-212).

Ağız boşluğunda virüsün persistan olarak bulunuşunun ve HSV'nin konakçı DNA sentezini uyarmasının BBK gelişimine katkıda bulunabileceği ortaya konmuştur (204). HSV ile BBK ilişkisi, HPV ve EBV'deki gibi güçlü değildir. Ancak yapılan serolojik çalışmalarda, BBK ile izlenen hasta grubunda HSV-1 immünglobulin M (IgM) pozitifliği kontrol grubuna göre daha sık görülmüştür (213). Oral kavite tutulumlu SHK'arın bir bölümünde rol alabileceği birkaç çalışmada ileri sürülmüştür (206, 214).

HSV-1 ve HSV-2'nin BBK gelişimine doğrudan katkıları olup olmadığına veya bu malignitelerin gelişimi açısından bilinen risk faktörlerini etkileyen kofaktörler olarak hareket edip etmediklerine ilişkin yeterli kanıt bulunmamaktadır. HSV-1 ve HSV-2 ile BBK ilişkisi halen aydınlatılamamıştır.

4.3.2. VZV

Çalışmalarda, VZV'nin özellikle CD4+ T-lenfositleri enfekte ettiği gösterilmiştir (215, 216). Enfekte CD4+ T-lenfositleri MHC sınıf-I ekspresyonunu azaltarak VZV'nin bağışıklık sisteminden kaçmasına izin verir (217). VZV, IFN-α aracılı antiviral yanıtın inhibisyonu için gerekli olan majör bir viral latentlik proteini olan IE63 proteininin neden olduğu apoptozis inhibisyonuna bağlı olarak konakçıda uzun süre latent halde kalabilmektedir (218, 219). Aynı zamanda VZV, hücresel proliferasyonu artıran bir transkripsiyon faktörü olan AP1'i de aktive eder (220). Hem IE63 proteini ile apoptozisin inhibe edilmesi hem de AP1 ile hücresel proliferasyonun aktive edilmesi VZV'nin karsinogenez mekanizmaları arasında sayılmaktadır (196).

Hem VZV'nin neden olduğu herpes zoster enfeksiyonu hem de malignitenin immünsupresyon ile ilişkili olduğu bilinmesine rağmen (221), herpes zoster ile enfeksiyon sonrası koyulan kanser tanısı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda birbiriyle uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir (13, 222-225). VZV'nin sıklıkla lösemi, lenfoma, cilt kanseri, meme kanseri gelişimindeki olası rolü üzerinde durulmaktadır (196).

VZV'nin BBK etiyolojisinde onkojenik bir faktör olup olmadığı henüz aydınlatılamamıştır.

4.3.3. EBV

Dünya genelinde yetişkin popülasyonun %90'ından fazlası EBV ile enfekte olmuştur (226, 227). Semptomatik veya asemptomatik akut enfeksiyondan sonra, latent EBV enfeksiyonu uzun süre devam etmektedir (228). Virüsün, baş ve boyun bölgesi de dâhil olmak üzere vücudun her yerinde hem B lenfositlerini hem de epitel hücrelerini enfekte etme

yeteneğine sahip olduğu kanıtlanmıştır (121, 228-230). Doğrudan karsinogenez ile ilişkili olduğu ortaya konulan ilk virüs olma özelliğine sahiptir (231).

EBV, EBV latent membran proteinleri-1 ve -2 (LMP-1 ve LMP-2) ve EBV nükleer antijenleri -1, -2 ve -3 (EBNA-1, EBNA-2 ve EBNA-3) de dâhil olmak üzere enfekte ettiği hücreyi transforme etme potansiyeline sahip birkaç viral proteini kodlar (232, 233).

LMP-1, kemirgen fibroblastları da dâhil olmak üzere çeşitli hücre tiplerini transforme edebilir (233). LMP-1, EBV'nin B hücrelerini ölümsüzleştirme yeteneği için gereklidir ve bu olayı antiapopitotik gen olan *bcl-2* indüksiyonu ile gerçekleştirmektedir (234, 235). LMP-1'in çoklu transmembran alanları ve karboksil terminali, tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktörler (TRAF'ler) ile etkileşime girebilir (236). Bu etkileşim, LMP-1 eksprese eden epitelyal hücreler ve B lenfositlerde Jun ve p38'in yüksek düzeyde aktive olmasıyla sonuçlanır (237-239). LMP-1 ayrıca; çok sayıda antiapoptotik ve adezyon geninin ekspresyonunu arttırır ve interferon düzenleyici faktör (IRF-7), matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) ekspresyonunu aktive eder (240). LMP-2, naif B hücrelerinin transformasyonu için vazgeçilmezdir. LMP-2, B hücre reseptörü (B-cell receptor, BCR) sinyalini taklit etmek için tirozin kinaz ailesinden Lyn ve Syk ile etkileşime girer. Bu yollar yapısal olarak aktiftir ve normal hücre döngüsü kaskadı yoluyla proliferasyonu yönlendirir (241).

Epstein-Barr nükleer antijeni (EBNA-1), EBV genomunu epizomal kalıcılığa aracılık eden kromozomlara bağlar; Glisin-Alanin tekrarı, hücre yüzeyinde MHC sınıf-I ile antijenik peptitlerin sunumunu önleyerek EBNA-1'in protezomlar yoluyla işlenmesini engeller, böylece $CD8^+$ T-lenfositler tarafından saptanmasını önler. *EBNA-2; hücresel transformasyon için gerekli olan birkaç viral genin (LMP-1 ve LMP-2) ve hücresel genlerin (CD21, c-FGR, c-MYC, CD23) aktivatörü olarak görev alır. EBNA-3; primer B lenfositlerinin EBV aracılı transformasyonu için gereklidir (242).*

EBV etiyolojik olarak çeşitli malignitelerle ilişkilendirilmiştir (226, 227). EBV varlığı ile ilişkilendirilen malignitelerden biri, Hodgkin lenfomadır (157, 243-245). Ayrıca Hodgkin dışı lenfoma grubu (Burkitt lenfoma, NK hücreli lenfoma ve proliferatif lenfoma) ile EBV arasında bir ilişki olduğu da gösterilmiştir (196, 246-248). Virüsün, transplantasyon sonrasında ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde proliferatif hastalıklara neden olabileceği kanıtlanmıştır (249-251). EBV ayrıca mide kanseri gelişimi ile ilişkili olarak da tespit edilmektedir (252-254).

Birçok çalışma, BBK gelişimi ile EBV'nin varlığı arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (3, 5, 229, 255). Ayrıca EBV'nin çeşitli virüslerle (örn., HPV) koenfeksiyonun kanser gelişimi üzerinde etkisi olduğunu gösteren kanıtlar da vardır (256-258). EBV'nin etiyolojisinde yer aldığı önemli bir kanser tipi nazofaringeal karsinomdur (259-261). Nazofarenks kanserli hastalarda yapılan serolojik testler, viral kapsid antijenlerine, erken antijenlere ve nükleer antijenlere karşı artmış IgA ve IgG antikoru göstermiştir (262).

EBV'nin konakçı epigenetik mekanizmasını manipüle edebileceği veya "vur ve kaç" şeklinde hareket edebileceği kanıtlanmıştır, yani EBV hücre içinde onkojenik değişiklikler başlatarak tümör gelişiminin erken evrelerine katılır, ancak daha sonra hücreden kaybolur. Ayrıca EBV'nin hipofaringeal ve laringeal tümörlerin gelişimindeki rolü de çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (263-266).

EBV ve oral SHK gelişimi arasında ilişki olduğunu gösteren çok sayıda çalışma olmasına karşın, hiçbir ilişki bulunamayan da çok sayıda çalışma vardır.

4.3.4. CMV

CMV; monosit, makrofaj, dendritik hücre ve granülosit dâhil olmak üzere birçok bağışıklık hücresini enfekte edebilir. Akut enfeksiyon sırasında nötrofiller ana taşıyıcıdır, monositler ve makrofajlar ise yayılmadan sorumludur ve latent virüs rezervuarlarıdır (267). Enfeksiyondan sonra virüs tükürük bezlerinde, lenfositlerde ve monositlerde latent olarak kalabilmektedir (268-270). CMV ile enfekte olmuş monositler dentritik hücrelere farklılaşamazlar, dolayısıyla antijen sunum süreci inhibe edilmiş olur (271). Proenflamatuvar sitokin üretimi inhibe edilir ve MHC sınıf-I ve sınıf-II moleküllerinin ekspresyonu azalır, böylece immünsupresif bir tablo meydana gelir. Bu durum virüsün primer enfeksiyon oluşturmasına ve kalıcı viral saçılıma katkıda bulunur (272). Ek olarak CMV, IL-6 ve TNF-α ekspresyonunu indükleyerek onkojenik mikro-ortam oluşumuna katkıda bulunur (267).

HSV-1 veya HSV-2'ye benzer şekilde CMV, genellikle onkojenik bir virüs olarak kabul edilmezken bazı çalışmalar, farklı tümör dokularında viral DNA, mRNA ve proteinlerinin varlığını ortaya koymaktadır (273, 274). Çalışmalarda CMV'nin tümörlerin gelişimini ve yayılmasını kolaylaştırdığı gösterilmiştir; bu paradigma onkomodülasyon olarak adlandırılmıştır (274). Onkomodülasyon, CMV'nin tümör hücrelerini enfekte edebileceği ve doğrudan transformasyona neden olmasa da malign özelliklerini modüle edebileceği anlamına

gelmektedir. CMV'nin neden olduğu onkomodülasyon; hücre proliferasyonu, hayatta kalma, istila da dâhil olmak üzere tümör hücrelerinin özelliklerini etkileyen virüs düzenleyici proteinlerin aktivitesinden kaynaklanabilir. Bu şekilde CMV enfeksiyonu, tümör hücrelerinin daha malign bir fenotipe ilerlemesine sebep olabilir (268, 275). Normal kemirgen hücrelerini kullanan çalışmalarda, CMV'nin malign transformasyon için kritik olan genlerde mutasyonları indüklediği gösterilmiştir (276-278). Bununla birlikte, transformasyona uğramış çoğu hücrede viral DNA saptanmamıştır. Bu bulgular, CMV'nin de EBV gibi "vur ve kaç" mekanizmasıyla onkogeneze katkıda bulunabileceği görüşünü öne çıkartmıştır (276-278).

CMV'nin hücre döngüsü ilerlemesini, kromozomal aberasyonları ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu indükleme, hücre hareketliliğini ve göçünü aktive etme, DNA hasar onarımını ve apoptotik yolakları inhibe etme gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla onkojenik bir etkiye neden olduğu gösterilmiştir (267). Glioblastoma, lenfoma, nazofarenks kanseri, KS, kolorektal karsinom, prostat kanseri, cilt kanseri ve astrositoma gibi maligniteleri olan hastaların yaklaşık %90'ının tümör hücrelerinde CMV'nin genom ve antijenlerinin varlığını gösteren pek çok çalışma, CMV'nin kanser gelişimindeki onkomodülasyon rolüne olan ilgiyi tekrar uyandırmaktadır. (270, 279-284).

CMV enfeksiyonu ve kanser arasındaki olası ilişki yıllardır araştırılmaktadır; ancak CMV'nin kanser patogenezindeki rolü halen belirsizliğini korumaktadır.

4.3.5. HHV-6 ve HHV-7

Hem HHV-6 hem de HHV-7 için için ana hedef hücreler CD4+ T-lenfositler olmasına rağmen iki virüs de geniş hücresel tropizm sergileyerek NK hücreleri, $CD8^+$ T-lenfositleri, makrofajları, epitelyal, endotelyal, nöral hücreleri ve fibroblastları da enfekte edebilirler (196, 285, 286). T-lenfotropik bir virüs olan HHV-6, T hücre yanıtı için önemli olan ve IL-10 üretimini indükleyebilen insan CD46 reseptörü yoluyla hücreye girer (287, 288). Akut enfeksiyondan sonra monosit/makrofaj kökenli hücrelerde veya lenfositlerde latent olarak kalabilir (288). HHV-6, immünmodülatör özelliklere sahiptir ve güçlü bir sitokin indükleyicisidir. HHV-6 patogenezinin önemli bir aşaması, doğal ve edinsel bağışık yanıtlar arasında bağlantı sağlayan kompleman düzenleyici bir hücre yüzeyi molekülü olan CD46'nın viral reseptör olarak kullanılmasıdır (289). HHV-6 ile karşılaşmanın, litik bir viral enfeksiyon yokluğunda farklılaşmış insan makrofajları tarafından IL-12 üretiminin dramatik bir şekilde

inhibisyonu ile sonuçlandığı, buna da muhtemelen CD46 katılımının aracılık ettiği öne sürülmüştür (290).

HHV-6'nın immünregülasyonda bozulmayla sonuçlanan diğer etkileri arasında, dendritik hücreler tarafından kusurlu antijen sunumu ve periferik kan mononükleer hücreleri tarafından anormal sitokin üretimi (örn., IL-1β, TNF-α ve IL-10 salınımında artış ve IL-2 salınımında azalma) yer alır (291, 292).

Persistan HHV-6 enfeksiyonunun yol açtığı IL-2 salınımının azalması erişkinde T hücreli löseminin daha hızlı ilerlemesine neden olsa da, in-vivo çalışmalarda HHV-6'nın patogenezdeki rolü henüz kesinlik kazanmamıştır (293). HHV-6, CD4+ T-hücrelerini de doğrudan enfekte edebilir ve apoptozu indükleyebilir. CD4+T-hücre yanıtının azalması bağışıklık sisteminin baskılanmasına yol açarak kanser gelişimine katkıda bulunabilir (294, 295).

HHV-6'nın karsinom gelişimindeki rolü üzerine yapılan çalışmalarda, bu virüsün apoptozda, hücresel dönüşümde, istila ve çoğalma yollarında belirli roller üstlenerek karsinom gelişimine katkıda bulunabileceği (296), ayrıca G2/M fazında hücre döngüsünü durdurabileceği gösterilmiştir (297).

İnsan kromozomuna entegrasyonun, onkojenik bir viral mekanizma olması nedeniyle kromozoma entegre olan HHV-6'nın (ciHHV-6) tanımlanması çok önemlidir (298, 299). HHV-6A ve HHV-6B, bir latentlik biçimi olarak kromozomların telomerlerine entegre olma yetenekleriyle insan herpes virüsleri arasında benzersizdir. Dünya nüfusunun yaklaşık %1'i kalıtsal olarak ciHHV-6 taşır ve tam HHV-6 genomu tüm çekirdekli hücrelerde kromozomun subtelomerik bölgesine entegre halde bulunur (298). Bu entegre genomlar ilaçlar tarafından aktive edilebilir (300) ve ciHHV-6'lı bağışıklığı baskılanmış hastalar, entegre virüse bağlı semptomatik enfeksiyonlar geliştirebilir (301). Kalıtsal ciHHV-6 ayrıca, telomerik stabiliteyi etkileyebilir (302). Telomerik bozulma, aplastik anemi gibi hematolojik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (303). Son çalışmalar, ciHHV-6'nın histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri tarafından yeniden aktive edilebileceğini ve karaciğer transplantasyonu yoluyla yatay olarak aktarılabileceğini düşündürmektedir (304, 305).

Doğrudan onkojenik bir davranış sergilemese bile HHV-6, EBV ve HPV gibi diğer virüslerle işbirliği içinde onkogeneze katkıda bulunabilir (306). Bu durumun moleküler temeli sadece kısmen anlaşılmıştır. Tükürük bezleri, HHV-6 için bir rezervuar görevi görür. HHV-6'nın doğrudan oral SHK'ya neden olduğu gösterilmemiş olsa da, "vur ve kaç" mekanizmasını

kullanarak ve dönüşüm sürecini kolaylaştırarak HHV-6; HPV ile ve tütün ve alkolde bulunan kimyasal kanserojenlerle bir kofaktör olarak kanser gelişimine hizmet edebilir (307, 308).

HHV-7, HHV-6 ile birçok özelliği paylaşsa da, HHV-7'nin hücresel CD4 molekülüne bağlanması ve bu proteini reseptörünün bir bileşeni olarak kullanması gibi önemli farklılıkları bulunur (309). HHV-7 genellikle daha yavaş çoğalır ve HHV-6'dan daha az sitopatiktir. HHV-7, CD4+ T-lenfositlerde hem aktif hem de latent enfeksiyon oluşturabilir ve tükürük bezlerinde persistan enfeksiyona neden olur (38). HHV-7 persistan enfeksiyonu, cilt, akciğerler, meme bezleri, tonsiller, karaciğer ve böbrekler dâhil olmak üzere çok çeşitli dokularda tespit edilmiştir (310, 311). HHV-7, primer CD4+ T-lenfositlerini enfekte eder. Bu tip enfeksiyon, G2/M fazında hücre döngüsünün durmasına yol açarak hücre birikimine, poliploidiye ve hücre boyutunun artmasına neden olarak kanser gelişimine katkıda bulunur. HHV-7, enfekte hücrelerde hücre döngüsü regülasyonu nedeniyle siklin bağımlı kinaz-2'yi (cdc2) aktive eder, böylece sitotoksik T-lenfositlerinin aktivitesini önler ve bağışık yanıtın değişmesine neden olur (297, 312). HHV-6 ve HHV-7, enfekte ettikleri hücrelerin sitokin ekspresyon profilini değiştirme yetenekleriyle, hem immünsupresif hem de proenflamatuvar özelliklere sahiptirler (313, 314).

HHV-6 ve HHV-7; pediatrik lenfoma (315), akut lenfoblastik lösemi (316), bazal hücreli karsinom (317) ve glioma (299, 313) başta olmak üzere çeşitli maligniteler ile ilişkilendirilmişlerdir. HHV-6 ve HHV-7'nin bu virüsler için bir rezervuar olan tükürük bezlerinde var olduğu daha önce doğrulanmıştır ancak bunların BBK üzerinde bir etkileri olup olmadığı net olarak tespit edilememiştir (318-320). Yine bu virüslerin tükürük bezlerinde bulunması dışında, tükürük bezi kanseri gelişiminde katkılarının olmadığı yönünde sonuca varan çalışmalar da bulunmaktadır (12).

HHV-6 ve HHV-7'nin çeşitli mekanizmalar aracılığıyla karsinom gelişimine katkıda bulunabilecekleri öngörülse de BBK gelişimindeki rollerinin araştırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

4.3.6. HHV-8

1994 yılında tanımlanan HHV-8, kanıtlanan ikinci onkojenik insan herpes virüsü olma özelliğine sahiptir (321, 322). İlk olarak KS'nda keşfedilen HHV-8, tüm insan malignitelerinin yaklaşık %1'i ile ilişkilidir (321, 323). KS, tipik olarak deride ortaya çıkan, lokal agresif bir vasküler endotelyal neoplazidir (324). KS genellikle HIV/AIDS ile ilişkilidir, ancak EBV

koenfeksiyonu olmadan varlığını sürdüremez. Bazı lenfomalarda, EBV ve HHV-8, vakaların %90'ında tümör hücrelerini birlikte enfekte eder (325). KS'nin tanı ve tedavisindeki birçok başarıya rağmen, patogenez süreci halen açıklanamamıştır (326). Farelerde yapılan in-vivo çalışmalar, HHV-8/EBV ikili enfeksiyonunun HHV-8 kalıcılığını ve tümör oluşumunu arttırdığını doğrulamıştır (323). HHV-8; B lenfositlerini enfekte eder, latent olarak uzun yıllar varlığını sürdürebilir (327) ve daha sonra vasküler endotelyal hücrelere yayılır (328).

HHV-8 genomu, yaklaşık dörtte biri konak bağışıklık sisteminin modülasyonunda rol oynayabilen 86-87 açık okuma çerçevesi (ORF) içerir. Bu ORF'lerin çoğunun, konak proteinlerle homoloji taşıyan proteinler ürettiği tahmin edilmektedir. Bu nedenle HHV-8, konağın bağışıklık yanıtından kolayca kaçabilme potansiyeline sahiptir (329, 330). HHV-8 ile ilişkili kanserlerin gelişimi genellikle immünsupresyonla bağlantılıdır (216). Örneğin KS, tedavi edilmemiş AIDS hastalarında yaklaşık 100 kat daha sık görülür (216, 331).

HHV-8 esas olarak tükürük yoluyla bulaştığından, mukoza ilişkili makrofajları, dendritik hücreleri, lenfositleri ve endotel hücrelerini enfekte edebilir. B hücreleri, bir epizom olarak bulunduğu ve birkaç moleküler yolak yoluyla konakçı bağışıklık tepkilerinden kaçtığı için HHV-8 latensisi için ana rezervuardır. Bu moleküler yolaklar, konak bağışıklığı bozulduğunda doğrudan onkogenezi tetikleyebilir (216, 332). Plazma hücresi olgunlaşması için konakçı transkripsiyon faktörlerinden biri olan x box bağlayıcı protein-1s (XBP-1s), litik anahtar proteininin transkripsiyon aktivasyonu için HHV-8 tarafından da kullanılır. Böylece, HHV-8, B hücrelerinin farklılaşması sırasında litik replikasyona uğramaktadır. B hücre farklılaşması için kullanılan bir başka faktör, hücresel mikroRNA-155'tir (miR-155) (333). Özellikle EBV ve HHV-8 tarafından kodlanan mikroRNA'lar, karsinogenezde doğrudan rol oynar (334). HHV-8'in viral interlökin-6 (vIL-6) proteini, mitojenik özelliklere sahiptir ve B lenfosit proliferasyonunu ve anjiyogenezi uyarır (335, 336). HHV-8, MHC sınıf-I antijen sunumunu inhibe ederek (330), ORF4'te kodlanan HHV-8 tamamlayıcı kontrol proteini (KCP) yoluyla kompleman sistemini inhibe ederek (329, 337), HHV-8 tarafından kodlanan viral interferonlar aracılığıyla p53 tarafından indüklenen transkripsiyonu ve apoptozu inhibe ederek (329, 338), HHV-8 genomunda kodlanan viral kemokinler Th2 hücre reseptörü agonistleri olarak hareket ederek konağın antiviral yanıtını azaltır ve bağışıklık sisteminin baskılanması yönünde katkıda bulunur (329). ORF73 tarafından kodlanan latentlikle ilişkili nükleer antijen-1 (LANA-1), onkojenik özelliklerin kazanılmasına ek olarak epizomal HHV-8'in çoğaltılması ve stabilizasyonunda önemli bir rol oynar (339, 340). Başka bir deyişle, HHV-8 ile enfekte olmuş hücreler, aktif virüs replikasyonu olmadan LANA-1 ekspresyonu altında latent olarak çoğalır (324, 341). HHV-8 enfeksiyonu HHV-8 ile ilişkili hematolenfoid proliferasyonun ortaya

çıkmasına neden olur. Bu hematopoietik proliferatif lezyonlar arasında PEL (323, 342), HHV8-pozitif multisentrik Castleman hastalığı (HHV8+ MCD) (343, 344), ayrıca spesifiye edilmemiş HHV8-pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma (HHV8+ DLBCL NOS) (345) ve HHV8-pozitif germinotropik lenfoproliferatif bozukluk (GLPD) yer almaktadır (346, 347).

Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, bu virüsler için enfeksiyon ve kanser arasındaki ilişkinin gücünü ve tutarlılığını ortaya koymuştur (348, 349). HHV-8'in dolaylı yoldan BBK gelişimindeki rolünün araştırıldığı çalışmada, HHV-8'in tükürük ile yayılması dışında BBK gelişimindeki potansiyel önemi henüz belirlenememiştir (350).

Bütün bu verilerin ışığında; herpes virüslerin çeşitli mekanizmalar aracılığıyla kanser patogenezinde yer alabilecekleri öngörülse de BBK gelişiminde olası potansiyel rolleri henüz aydınlatılamamıştır. Bundan yola çıkılarak çalışmamızda Türk popülasyonunda BB-SHK gelişiminde herpes virüslerinin rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri

Araştırmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2000-2016 yılları arasında opere edilen toplam 500 hastaya ait doku örneği dahil edilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirilmesi için, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu'ndan (17 Haziran 2021, karar no: İ6-404-21) izin alınmıştır.

Hasta grubu olarak; dudak hariç BBK olan 300 olgu, kontrol grubu olarak; benign oral kavite tümörleri ve tonsillektomi vb. gibi ağız/orofarenks/ suppraglottik larenks biyopsi/cerrahi materyalleri olan 200 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların demografik ve klinik verileri hastane bilgi yönetim sisteminden elde edilmiştir.

Araştırmaya dahil edilme kriterleri:

1. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2000-2016 yılları arasında opere edilen dudak hariç oral kavite, orofarenks ve supraglottik larenks kanserli olguların parafin bloklar halinde saklanmış olan cerrahi materyalleri araştırma için kullanılmıştır.

2. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2000-2016 yılları arasında opere edilen benign oral kavite tümörleri ve tonsillektomi vb. gibi ağız/orofarenks/suppraglottik larenks olan olguların parafin bloklar halinde saklanmış olan biyopsi/cerrahi materyalleri araştırma için kullanılmıştır.

5.2. Formalinle Fikse Edilmiş Parafine Gömülü Doku Örneklerinden DNA Eldesi

5.2.1. Deparafinizasyon İşlemi

Protokol öncesinde; örnekler oda sıcaklığına (15-25°C) getirilmiş, kuru ısı bloğu 56 °C ve 90 °C'ye ayarlanmıştır. Patoloji laboratuvarı tarafından 5-10 mikron kalınlığında en fazla 4 kesit hazırlanıp mikrosantrifüj tüpleri içine konulmuştur. Örnekler üzerine 320 µl deparafinizasyon solüsyonu (Qiagen, Almanya) eklenip iyice vortekslenmiştir. Daha sonra 9000xg'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. 56 °C'de 3 dakika inkübe edilip ardından oda sıcaklığına soğutulan örnekler üzerine 180 µl Buffer ATL (Qiagen, Almanya) eklenip iyice vortekslenmiştir. 9000xg'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası, mikrosantrifüj tüpündeki örnek iki faza ayrılmıştır. Üstteki fazdan pipet yardımı ile dikkatlice geçilerek, alttaki temiz faza 25 µl Proteinaz K (Qiagen, Almanya) eklenip pipetaj ile karıştırılmıştır. 56 °C'de doku tamamen parçalanıncaya kadar çalkalayıcı kuru ısı bloğunda inkübe edilmiştir (en az 1 saat). Ardından örnek 90 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Mikrosantrifüj tüplerinin kapaklarının içinde kalan damlaları tüpün içine almak için kısaca santrifüj edilmiştir. Ardından alttaki berrak faz yeni bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.

5.2.2. DNA'nın Saflaştırılması

DNA eldesi, hazır ticari kit (QIAamp DNA FFPE Doku Kiti, Qiagen, Almanya) kullanılarak üreticilerin önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Protokole başlamadan önce; elüsyon işlemi için Buffer ATE (Qiagen, Almanya) oda sıcaklığına getirilmiş, Buffer AW1 (Qiagen, Almanya) içine 25 ml etil alkol ve Buffer AW2 (Qiagen, Almanya) içine 30 ml etil alkol eklenerek kullanıma hazırlanmıştır. Deparafinizasyon işlemi ile elde edilen arınmış örnekler yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılarak, üzerine 200 µl Buffer AL (Qiagen, Almanya) eklenip vortekslenmiş ardından her birinin üzerine 200 µl etil alkol eklenip tekrar vortekslenmiştir. Kısaca santrifüj edildikten sonra 1,5 ml mikrosantrifüj tüplerinin içindeki karışım, 2 ml mikrosantrifüj tüpleri içine yerleştirilen QIAamp MinElute spin kolona (Qiagen, Almanya) aktarılmıştır. Tüplerin kapağı kapatıldıktan sonra 6000xg hızda 2 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra spin kolonun yerleştiği ve kolondan akan artıkları toplayan tüp atılmış, QIAamp MinElute spin kolon temiz 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir. QIAamp MinElute spin kolon dikkatlice açılıp tüplerin içine 500 µl Buffer AW1 eklenmiştir. Tüplerin

kapağı kapatıldıktan sonra 6000xg hızda 2 dakika santrifüj edilmiştir. Spin kolonun yerleştiği tüp tekrar atılmış ve QIAamp MinElute spin kolon temiz 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir. QIAamp MinElute spin kolon dikkatlice açılıp tüplerin içine 500 µl Buffer AW2 eklenmiştir. Tüplerin kapağı kapatıldıktan sonra 6000xg hızda 2 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra spin kolonun yerleştiği tüp atılmış, QIAamp MinElute spin kolon temiz 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilerek 20.000xg hızda 4 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra spin kolonun yerleştiği tüp atılmış, QIAamp MinElute spin kolon 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. QIAamp MinElute spin kolon dikkatlice açılıp 50 µl Buffer ATE kolonun tam ortasına gelecek şekilde aktarılmıştır. Kolonun kapağı kapatılıp 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha sonra 20.000xg hızda 2 dakika santrifüj edilmiştir. Mikrosantrifüj tüpüne inen DNA saklanmak üzere -20°C'ye kaldırılmıştır.

5.2.3. Ekstraksiyon Sonrası Örnekteki DNA Varlığının Araştırılması

Ekstraksiyon sonrası elde edilen örnekteki DNA varlığı, %1'lik agaroz jel elektroforezi ile değerlendirilmiştir. 100 ml 0,5X TBE (0,11 M Tris, 90 mM Borat, 2,5 mM EDTA, pH:8,3) içerisinde bir gram (gr) moleküler grade agaroz (Prona Biomax, İspanya) mikrodalga fırında (Arçelik, Türkiye) kaynamadan berraklaşıncaya kadar eritilerek agaroz jel hazırlanmıştır. Agaroz jel oda sıcaklığında 40-45°C'ye kadar soğutulduktan sonra uygun tarakların konulduğu jel tabağına (Thermo, Almanya) aktarılmış ve eğimi su terazisi ile kontrol edilen tezgah bölümüne yerleştirilmiştir. Yaklaşık 30 dk beklenip agarozun donmasının ardından, agaroz jel tabağıyla birlikte elektroforez tankı (Thermo, Almanya) içerisine yerleştirilmiştir. Tank 0,5X TBE tampon çözeltisi ile jelin üstünü hafifçe geçecek şekilde doldurulup, jelde kuyucukları oluşturan tarak çıkartılmıştır. Temiz bir parafilm (Parafilm, Chicago, ABD) üzerinde 3 µl ekstraksiyon sonrası elde edilen örnek ve 2 µl yükleme solüsyonu (Fermentas, Litvanya) pipetaj ile karıştırılmış ve kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez güç kaynağında (Thermo, Almanya) bir saat 100 V elektrik akımda uygulanan elektroforez işleminden sonra, 312 nm'de UV transillüminatör (Vilber-Lourmat TFX–20.M [ETX–20 M], Fransa) ile görüntülenmiştir.

5.3. Örneklerde Herpes Virüs Varlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Araştırılması

Tüm örneklerde herpes virüs varlığı, her bir herpes virüs için özgül hedef gen bölgelerini amplifiye etmek üzere uygun primerler kullanılarak PZR ile araştırılmıştır. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan örnekler Tablo 5.1'de, primer dizileri ve amplikon büyüklükleri Tablo 5.2'de verilmiştir. Tüm primerler (Sentebiolab, Türkiye) ticari olarak yüksek saflık derecesinde (HPLC) üretilmiş ve liyofilize olarak teslim edilen primerlerin üretim konsantrasyonları dikkate alınarak son konsantrasyon 10 μM olacak şekilde steril distile su ile sulandırılmıştır. Tüm amplifikasyon reaksiyonları Arktik Thermal Cycler Block (Thermo Fisher Scientific, Finlandiya) termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Literatürde tanımlanan yöntemlerde yapılan değişiklikler, çalışmada kullanılan reaksiyon karışımlarının içerikleri ve amplifikasyon koşulları her bir hedef için ilgili madde altında açıklanmıştır.

Tablo 5.1. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan örnekler

Hedef	**Pozitif Kontrol Örneği**
HSV-1, 2	QCMD dış kalite kontrol örnekleri
VZV	Zona hastasının vezikül sıvısından ekstrakte edilen total nükleik asit örneği
EBV	QCMD dış kalite kontrol örnekleri
CMV	QCMD dış kalite kontrol örnekleri
HHV-6	QCMD dış kalite kontrol örnekleri
HHV-7	Kullanılmamıştır
HHV-8	KS tanılı hastanın patoloji örneğinden ekstrakte edilen total nükleik asit örneği

Tablo 5.2. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve amplikon büyüklükleri

Hedef	Primer Adı	Oligonükleotid dizisi (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü (bç)	Kaynak
HSV-1,2	HSVs-F	AAGCTGCTGGTGTCCGAG	272	Matsushima ve ark. 2017
	HSVs-R	ATTCGACGAGTTTCCTCCG		
HHV-3 (VZV)	VZV-F	TCCGACATGCAGTCAATTTCAACGTC	161	
	VZV-R	GGTCGGGTAGACGCTACCACTCGTTT		
HHV-4 (EBV)	EB-F	AAGACGTACTGGATGCGGTC	210	
	EB-R	TTTTGCCCGTCATTGACAT		
HHV-5 (CMV)	CMV-F	GCGCGTACCGTTGAAAGAAAAGCATAA	131	
	CMV-R	TGGGCACTCGGGTCTTCATCTCTTTAC		
HHV-6A,6B	HHV-6A/B-F	ATGCGCCATCATAATGCTCGGATACA	183	
	HHV-6A/B-F	CCCTGCATTCTTACGGAAGCAAAACG		
HHV-7	HHV-7F	GCCCGTTTTCGGAAATATTGGAGAGAT	347	
	HHV-7R	ACGCACGAGACGCACTTTTCTTAAACA		
HHV-8	Dış Forward	AGCCGAAAGGATTCCACCAT	233	Machado ve ark. 2015
	Dış Reverse	TCCGTGTTGTCTACGTCCAG		
	İç Forward	TTCCACCATTGTGCTCGAAT	211	
	İç Reverse	TACGTCCAGACGATATGTGC		
HSV-1	H1P32	TGGGACACATGCCTTCTTGG	147	Markoulatos ve ark. 2000
	H1M32	ACCCTTAGTCAGACTCTGTTACTTACCC		
HSV-2	H2M40	GTACAGACCTTCGGAGG	227	
	H2P4	CGCTTCATCATGGGC		

5.3.1. HSV-1,2 ve EBV Varlığının Araştırılması

Örneklerde 272 bç HSV-1,2 ve 210 bç EBV hedef gen bölgelerinin varlığının saptanması amacıyla Tablo 5.1'de verilen primer dizileri kullanılarak minör modifikasyonlarla literatürde tanımlandığı şekilde PZR ile hedef bölge amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (351). Literatürden farklı olarak, PZR içeriğine bovin serum albümin (BSA) eklenmiş ve PZR koşulları şu şekilde gerçekleştirilmiştir: Başlangıç denatürasyon süresi 15 dakika yerine 5 dakika olarak gerçekleştirilmiş, primer bağlanma aşamasında 70 °C'den 60 °C'ye bir derece düşürülerek 90 saniye sürelerle "touchdown" PZR yapılırken, çalışmamızda 60 °C'den 55 °C'ye bir derece düşülerek 60 saniye sürelerle "touchdown" PZR yapılmıştır. Literatürde 45 döngü ile PZR tamamlanırken; çalışmamızda 38 döngü yapılmıştır. PZR için hazırlanan karışımın içeriği ve PZR koşulları aşağıda verilmiştir:

HSV-1, 2 ve EBV için multipleks PZR karışımı

dH_2O	: 5,8 µl
Master Mix (Qiagen, Almanya)	: 12,5 µl
HSV-1,2 F	: 10 Mm'dan 1 µl
HSV-1,2 R	: 10 Mm'dan 1 µl
EBV F	: 10 Mm'dan 1 µl
EBV R	: 10 Mm'dan 1 µl
BSA	: 0,2 µl
DNA	: 2,5 µl
Toplam Hacim	: 25 µl

HSV-1, 2 ve EBV için multipleks PZR döngüleri

Başlangıç denatürasyonu	95 °C'de 5 dk	
Denatürasyon aşaması	94 °C'de 30 sn	
Primer bağlanması (annealing)	60 °C'de 60 sn	2 döngü
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Denatürasyon aşaması	94 °C'de 30 sn	
Primer bağlanması (annealing)	59 °C'de 60 sn	2 döngü
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	

Denatürasyon aşaması	94 °C'de 30 sn	
Primer bağlanması (annealing)	58 °C'de 60 sn	2 döngü
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Denatürasyon aşaması	94 °C'de 30 sn	
Primer bağlanması (annealing)	57 °C'de 60 sn	2 döngü
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Denatürasyon aşaması	94 °C'de 30 sn	
Primer bağlanması (annealing)	55 °C'de 60 sn	30 döngü
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Son uzama	72°C'de 10 dk	

5.3.2. VZV Varlığının Araştırılması

Örneklerde 161 bç VZV hedef gen bölgesinin varlığının saptanması amacıyla Tablo 5.1'de verilen primer dizileri kullanılarak literatürde tanımlandığı şekilde, minör modifikasyonlarla PZR ile hedef bölge amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (351). Literatürden farklı olarak, PZR içeriğine BSA eklenmiş ve PZR koşulları şu şekilde gerçekleştirilmiştir: Başlangıç denatürasyon süresi 15 dakika yerine 5 dakika olarak gerçekleştirilmiş, primer bağlanma aşamasında 70 °C'den 60 °C'ye bir derece düşürülerek 90 saniye sürelerle "touchdown" PZR yapılırken, çalışmamızda 60 °C'den 55 °C'ye bir derece düşülerek 60 saniye sürelerle "touchdown" PZR yapılmıştır. Literatürde 45 döngü ile PZR tamamlanırken; çalışmamızda 38 döngü yapılmıştır. PZR için hazırlanan karışımın içeriği ve PZR koşulları aşağıda verilmiştir:

VZV için PZR Karışımı

dH_2O	: 8,8 µl
Master Mix (Qiagen, Almanya)	: 12,5 µl
VZV F	: 10 Mm'dan 0,5 µl
VZV R	: 10 Mm'dan 0,5 µl
BSA	: 0,2 µl
DNA	: 2,5 µl
Toplam Hacim	: 25 µl

VZV için PZR döngüleri

Başlangıç denatürasyonu	95 °C'de 10 dk	
Denatürasyon aşaması	95 °C'de 30 sn	3 döngü
Primer bağlanması (annealing)	70 °C'de 30 sn	
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Denatürasyon aşaması	95 °C'de 30 sn	3 döngü
Primer bağlanması (annealing)	67 °C'de 30 sn	
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Denatürasyon aşaması	95 °C'de 30 sn	3 döngü
Primer bağlanması (annealing)	64 °C'de 30 sn	
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Denatürasyon aşaması	95 °C'de 30 sn	3 döngü
Primer bağlanması (annealing)	61 °C'de 30 sn	
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Denatürasyon aşaması	95 °C'de 30 sn	33 döngü
Primer bağlanması (annealing)	60 °C'de 30 sn	
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 60 sn	
Son uzama	72 °C'de 5 dk	

5.3.3. CMV, HHV-6 ve HHV-7 Varlığının Araştırılması

Örneklerde 131 bç CMV, 183 bç HHV-6 ve 347 bç HHV-7 hedef gen bölgelerinin varlığının saptanması amacıyla Tablo 5.1'de verilen primer dizileri kullanılarak literatürde tanımlandığı şekilde, minör modifikasyonlarla PZR ile hedef bölge amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (351). Literatürden farklı olarak, PZR içeriğine BSA eklenmiş ve PZR koşulları şu şekilde gerçekleştirilmiştir: Başlangıç denatürasyon süresi 15 dakika yerine 10 dakika olarak gerçekleştirilmiş, primer bağlanma aşamasında 70 °C'den 60 °C'ye bir derece düşürülerek 90 saniye sürelerle "touchdown" PZR yapılırken, çalışmamızda "touchdown" PZR yapılmadan 65 °C'de yapılmıştır; literatürde 45 döngü ile PZR tamamlanırken; çalışmamızda 35 döngü ile yapılmıştır. PZR için hazırlanan karışımın içeriği ve PZR koşulları aşağıda verilmiştir:

CMV, HHV-6 ve HHV-7 için multipleks PZR Karışımı

dH_2O	: 3,8 µl
Master Mix (Qiagen, Almanya)	: 12,5 µl
CMV F	: 10 Mm'dan 1 µl
CMV R	: 10 Mm'dan 1 µl
HHV-6 F	: 10 Mm'dan 1 µl
HHV-6 R	: 10 Mm'dan 1 µl
HHV-7 F	: 10 Mm'dan 1 µl
HHV-7 R	: 10 Mm'dan 1 µl
BSA	: 0,2 µl
DNA	: 2,5 µl
Toplam Hacim	: 25 µl

CMV, HHV-6 ve HHV-7 multipleks için PZR döngüleri

Başlangıç denatürasyonu	95 °C'de 10 dk	
Denatürasyon aşaması	95 °C'de 10 sn	35 döngü
Primer bağlanması (annealing)	65 °C'de 10 sn	
Uzama (ekstansiyon)	72 °C'de 10 sn	
Son uzama	72 °C'de 5 dk	

5.3.4. HHV-8 Varlığının Araştırılması

HHV-8 varlığı araştırılmasında ‘’nested’’ PZR yöntemi kullanılmış olup birinci PZR ile 233 bç’lik, ikinci PZR ile ilk amplifikasyon hedefinin içinde yer alan 211 bç’lik bölgenin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

Dış Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Örneklerde 233 bç HHV-8 hedef gen bölgesinin varlığının saptanması amacıyla Tablo 5.1’de verilen primer dizileri kullanılarak literatürde tanımlandığı şekilde minör modifikasyonla PZR ile hedef bölge amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (352). Literatürden farklı olarak, PZR içeriğine BSA eklenmiştir. PZR için hazırlanan karışımın içeriği ve PZR koşulları aşağıda verilmiştir:

HHV-8 için dış PZR Karışımı	
dH_2O	: 7,8 µl
Master Mix (Qiagen, Almanya)	: 12,5 µl
HHV-8 Dış F	: 10 Mm’dan 1 µl
HHV-8 Dış R	: 10 Mm’dan 1 µl
BSA	: 0,2 µl
DNA	: 2,5 µl
Toplam Hacim	: 25 µl

HHV-8 için dış PZR döngüleri		
Başlangıç denatürasyonu	94°C’de 1 dk	
Denatürasyon aşaması	94°C’de 1 dk	35 döngü
Primer bağlanması (annealing)	58°C’de 1 dk	
Uzama (ekstansiyon)	72°C’de 1 dk	
Son uzama	72°C’de 10 dk	

İç Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Örneklerde 211 bç HHV-8 hedef gen bölgesinin varlığının saptanması amacıyla Tablo 5.1'de verilen primer dizileri kullanılarak literatürde tanımlandığı şekilde minör modifikasyonla PZR ile hedef bölge amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (Machado ve ark. 2015). Literatürden farklı olarak, PZR içeriğine bovin serum albümin (BSA) eklenmiştir. PZR için hazırlanan karışımın içeriği ve PZR koşulları aşağıda verilmiştir:

HHV-8 için iç PZR Karışımı

dH_2O	: 6,8 µl
Birinci PZR reaksiyonu karışımı	: 1 µl
Master Mix (Qiagen, Almanya)	: 12,5 µl
HHV-8 İç F	: 10 Mm'dan 1 µl
HHV-8 İç R	: 10 Mm'dan 1 µl
BSA	: 0,2 µl
DNA	: 2,5 µl
Toplam Hacim	: 25 µl

HHV-8 için iç PZR döngüleri

Başlangıç denatürasyonu	94°C'de 1 dk	
Denatürasyon aşaması	94°C'de 1 dk	40 döngü
Primer bağlanması (annealing)	60°C'de 1 dk	
Uzama (ekstansiyon)	72°C'de 1 dk	
Son uzama	72°C'de 10 dk	

5.4. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesi

Elde edilen amplikonların analizi %1,5'lik agaroz jel elektroforezi ile gerçekleştirilmiştir. 100 ml 0,5X TBE (0,11 M Tris, 90 mM Borat, 2,5 mM EDTA, pH:8,3) içerisinde 1,5 gram (gr) moleküler grade agaroz (Prona Biomax, İspanya) mikrodalga fırında (Arçelik, Türkiye) kaynamadan berraklaşıncaya kadar eritilerek agaroz jel hazırlanmıştır. Agaroz jel oda sıcaklığında 40-45°C'ye kadar soğutulduktan sonra boyama için agarın içerisine RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (Intron Biotecnology, Kore) 20.000X stok solüsyonundan 5 µl ilave edilmiştir. Balon joje içerisindeki karışım çalkalandıktan sonra uygun tarakların konulduğu jel tabağına (Thermo, Almanya) aktarılmış ve eğimi su terazisi ile kontrol edilen tezgah bölümüne yerleştirilmiştir. Yaklaşık 30 dk beklenip agarozun donmasının ardından, agaroz jel tabağıyla birlikte elektroforez tankı (Thermo, Almanya) içerisine yerleştirilmiştir. Tank 0,5X TBE tampon çözeltisi ile jelin üstünü hafifçe geçecek şekilde doldurulup, jelde kuyucukları oluşturan tarak çıkartılmıştır. Temiz bir parafilm (Parafilm, Chicago, ABD) üzerinde 5 µl PZR ürünleri ve 2 µl yükleme solüsyonu (Fermentas, Litvanya) pipetaj ile karıştırılmış ve kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez güç kaynağında (Thermo, Almanya) 1,5 saat 100 V elektrik akımda uygulanan elektroforez işleminden sonra, 312 nm'de UV transillüminatör (Vilber-Lourmat TFX–20.M [ETX–20 M], Fransa) ile görüntülenmiştir. Amplifikasyon ürünlerinin büyüklüklerini değerlendirilmek için belirteç olarak Gene Ruler DNA Ladder, 50 bp (Thermo, Almanya) kullanılmıştır.

5.5. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar SPSS versiyon 22.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma için Ki-kare veya Fisher-exact testleri kullanılmıştır. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri

Hasta grubunda yer alan 300 hastanın 229'u (%76,3) erkek, 71'i (%23,6) kadın ve ortanca yaş ortalaması 64 iken kontrol grubundaki 200 olgunun 106'sı (%53) erkek, 94'ü (%47) kadın ve ve ortanca yaş 40 idi. Erkek cinsiyet ve ileri yaş, hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0,05$). Grupların demografik özellikleri ve BBK gelişimi açısından risk faktörlerinin karşılaştırılması tablo 6.1'de verilmiştir.

Baş ve boyun kanseri gelişimi açısından en sık risk faktörleri değerlendirildiğinde, hasta grubunda tek başına sigara kullanan 199 hasta, hem sigara hem alkol kullanan 52 hasta bulunurken; kontrol grubunda tek başına sigara kullanan 62, tek başına alkol kullanan sekiz, hem sigara hem alkol kullanan 27 kişi bulunduğu görüldü. Risk faktörlerinden tek başına sigara kullanımı hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunurken ($p<0,05$), tek başına alkol kullanımı ve risk faktörlerinin birlikteliği değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 6.1. Grupların demografik özellikleri ve BBK gelişimi açısından risk faktörlerinin karşılaştırılması

Değişken		**Kontrol grubu (n=200)**	**Hasta grubu (n=300)**	***p* değeri**
Cinsiyet	**Kadın, *n (%)***	106 (53)	71 (23,66)	**<0,05**
	Erkek, *n (%)*	94 (47)	229 (76,33)	
Ortanca yaş, *yıl (en düşük-en yüksek)*		40 (18-89)	64 (23-91)	**<0,05**
Sigara, *n (%)*		89 (44,50)	251 (83,66)	**<0,05**
Alkol, *n (%)*		35 (17,50)	52 (17,33)	0,97
Herpes virüs pozitifliği	**VZV, *n (%)***	1 (0,50)	0 (0)	0,40
	EBV, *n (%)*	3 (1,50)	1 (0,33)	0,30
	CMV, *n (%)*	5 (2,50)	0 (0)	**<0,05**
	HHV-6, *n (%)*	3 (1,50)	2 (0,66)	0,39
Sigara + Alkol		26 (13,00)	52 (17,33)	0,19
Sigara + Herpes virüs pozitifliği		3 (1,50)	3 (1,00)	0,68
Alkol + Herpes virüs pozitifliği		1 (0,50)	0 (0,00)	0,40
Sigara + Alkol + Herpes virüs pozitifliği		1 (0,50)	1 (0,33)	1,00

Klinik örneklerinde HHV pozitifliği tespit edilen hastaların özellikleri tablo 6.2'de verilmiştir.

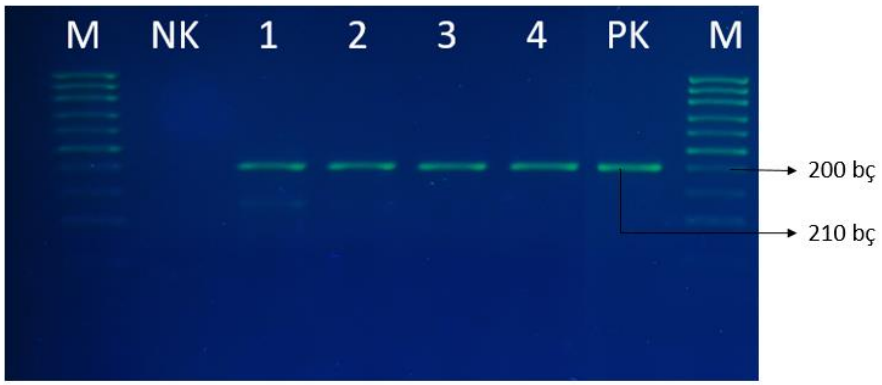
Tablo 6.2. Klinik örneklerinde HHV pozitifliği tespit edilen hastaların özellikleri

Hasta no	Cinsiyet	Yaş	Tanı	HHV pozitifliği	Diğer risk faktörleri	
					Sigara	Alkol
197	K	59	Kronik tonsillit	VZV	-	-
11	E	66	Dil skuamöz hücreli karsinom	EBV	+	-
150	K	65	Tonsiler lenfoid hiperplazisi	EBV	-	-
417	K	18	Tonsiler lenfoid hiperplazisi	EBV	-	-
421	E	18	Kronik tonsillit	EBV	-	-
2	E	66	Dilde benign skuamöz epitel lezyonu	CMV	+	-
6	K	59	Dilde fibröz hiperplazi	CMV	+	-
8	K	49	Bukkal mukoza fibroepitelyal polip	CMV	-	-
21	E	64	Dilde granülasyon dokusu	CMV	+	-
183	E	40	Kronik tonsillit	CMV	-	-
64	K	56	Ağız içi skuamöz epitelyal lezyon	HHV-6	+	+
111	K	27	Kronik tonsillit	HHV-6	-	-
132	K	56	Tonsilde polip	HHV-6	-	-
138	E	67	Dil skuamöz hücreli karsinom	HHV-6	+	-
184	K	30	Kronik tonsillit	HHV-6	-	+
231	E	73	Larenks skuamöz hücreli karsinom	HHV-6	+	-
237	E	58	Larenks skuamöz hücreli karsinom	HHV-6	+	+

6.2. PZR ile Örneklerde Herpes Virüs Varlığının İncelenmesi

6.2.1. HSV-1,2 ve EBV Varlığının Araştırılması

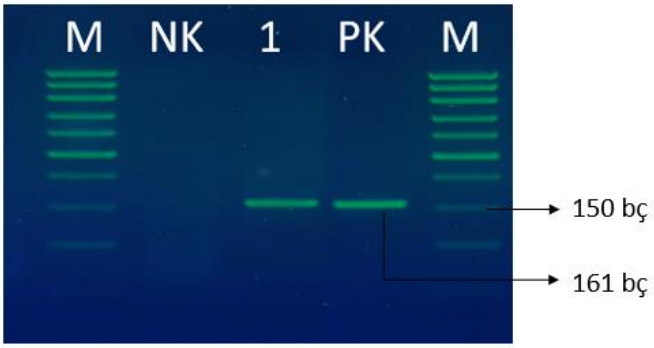
HSV-1,2 hiçbir örnekte saptanmamıştır. EBV, hasta grubundan bir örnekte (%0,3) ve kontrol grubundan üç örnekte (%1,5) tespit edilmiştir (Şekil 6.1).



Şekil 6.1. EBV agaroz jel görüntüsü. M:Moleküler büyüklük belirteci (Gene Ruler DNA Ladder, 50-500 bp, Thermo, Germany), NK: Negatif kontrol, 1-4: Hasta izolatları, PK: Pozitif kontrol.

6.2.2. VZV Varlığının Araştırılması

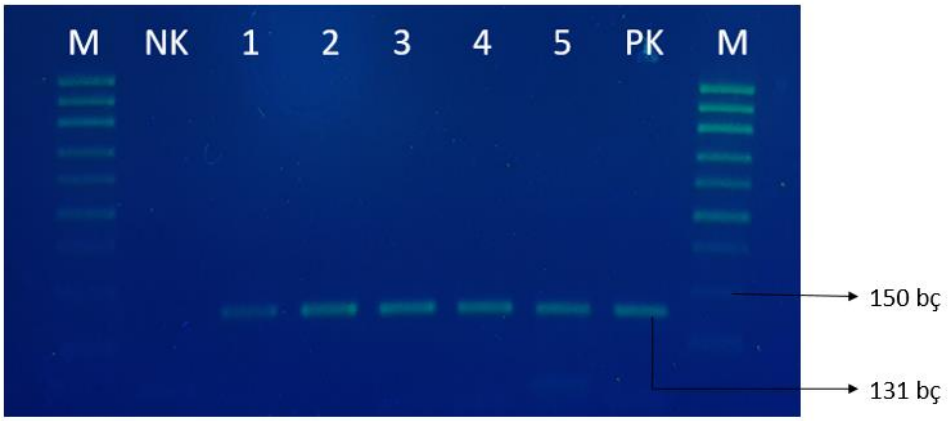
VZV, hasta grubunda hiçbir örnekte saptanmazken, kontrol grubunda bir örnekte (%0,5) saptanmıştır (Şekil 6.2).



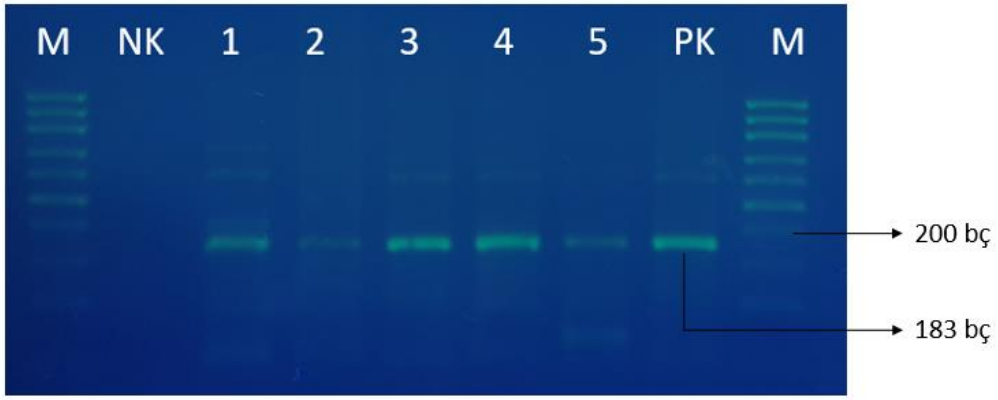
Şekil 6.2. VZV agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler büyüklük belirteci (Gene Ruler DNA Ladder, 50-500 bp, Thermo, Germany), NK: Negatif kontrol, 1: Hasta izolatı, PK: Pozitif kontrol.

6.2.3. CMV, HHV-6 ve HHV-7 Varlığının Araştırılması

CMV, hasta grubundan hiçbir örnekte tespit edilmezken, kontrol grubundan beş örnekte (%2,5) saptanmıştır. HHV-6 hasta grubundan iki örnekte (%0,6) ve kontrol grubundan üç örnekte (%1,5) tespit edilmiştir. HHV-7 hiçbir örnekte saptanmamıştır (Şekil 6.3 ve 6.4).



Şekil 6.3. CMV agaroz jel görüntüsü. M:Moleküler büyüklük belirteci (Gene Ruler DNA Ladder, 50-500 bp, Thermo, Germany), NK: Negatif kontrol, 1-5: Hasta izolatları, PK: Pozitif kontrol.



Şekil 6.4. HHV-6 agaroz jel görüntüsü. M:Moleküler büyüklük belirteci (Gene Ruler DNA Ladder, 50-500 bp, Thermo, Germany), NK: Negatif kontrol, 1-5: Hasta izolatları, PK: Pozitif kontrol.

6.2.4. HHV-8 Varlığının İncelenmesi

HHV-8 hiçbir örnekte saptanmamıştır.

7. TARTIŞMA

Herpesviridae ailesinin özellikle bazı üyelerinin (Epstein-Barr Virus [EBV] ve İnsan Herpes Virüsü-8 [HHV-8]) kanser gelişimine katkıda bulundukları çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (6-10, 326). Herpes Simplex Virus-1 ve -2 (HSV-1, HSV-2), Varicella Zoster Virus (VZV), Sitomegalovirüs (CMV) ve İnsan Herpes Virüsü-6 ve -7 [HHV- 6 ve 7] gibi diğer herpes virüslerin ise kanser patogenezindeki rolleri henüz yeteri kadar aydınlatılamamıştır (5, 7, 11-13).

HSV çeşitli malign tümörlerin gelişiminde rol oynayabilir (353, 354). Bazı çalışmalarda BBK ile ilişkilendirilmiştir (202-204). 1990-2009 arasında yapılan birçok araştırmanın analiz edildiği derlemede, oral kanseri olan hastaların HSV-1 ve HSV-2'ye karşı antikor seviyeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında, oral kanseri olan hastalarda anti-HSV-1 ve anti-HSV-2 antikor seviyeleri daha yüksek bulunmuş ve HSV-1,-2'in oral kanserlerde karsinogenez sürecine katkıda bulunmuş olabileceği öne sürülmüştür (355).

Yapılan bir başka serolojik çalışmada BBK ile izlenen hasta grubunda anti-HSV-1 immünglobulin M (IgM) pozitifliği kontrol grubuna göre daha sık görülmüştür (213). Ayrıca, HSV-1 benign ve malign tiroid tümörleri ile, HSV-2 papiller tiroid kanseri ve lenf nodu metastazlarının varlığı ile ilişkilendirilmiştir (197).

150 kişilik çalışma grubunun; oral SHK, pre-kanser ve kontrol grubu olmak üzere üçe ayrıldığı ve bu gruplarda anti-HSV-1 IgG antikor düzeyinin araştırıldığı çalışmada; anti-HSV-1 IgG antikor düzeyi oral SHK ve pre-kanser grubunda benzer bulunurken, kanser/prekanser grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek anti-HSV-1 IgG antikor düzeyi tespit edilmiştir. Anti-HSV-1 IgG düzeyi açısından oral SHK ve prekanser arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, kontrol grubu ile kanser/prekanser grubu arasında anti-HSV-1 IgG düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Ancak HSV-1'in oral SHK ve prekanser etiyolojisindeki rolünün belirlenmesi için daha geniş kapsamlı ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (356).

Oral kavite ve larenks kanseri olan hastalara ve kontrol grubuna ait doku örneklerinde HSV-1 ve HSV-2 varlığı PZR ile araştırıldığında; kanserli dokularda normal dokulara göre daha yüksek HSV-1 prevalansı saptanmıştır. Örneklerin hiçbirinde HSV-2 tespit edilmemiştir. HSV-1'in bu hasta grubu için karsinogenezde rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır (357).

Oral SHK, larenks SHK ve benign laringeal lezyonları olan hastalara ait parafine gömülmüş doku örnekleri kullanılarak PZR ile HSV-1/2 DNA varlığının araştırıldığı çalışmada; oral kavitede SHK tespit edilen hastaların %25'inde ve larenkste SHK olan hastaların %75'inde HSV-1/2 DNA varlığı saptanırken, kontrol grubundaki hiçbir hastada HSV-1/2 tespit edilmemiştir. Bu çalışma, kontrol grubu ile larenks SHK olan hastalar arasında HSV-1/2 açısından istatistiksel anlamlı fark ortaya çıkmakla beraber kesin bir nedensel ilişki kurulamasa da daha fazla çalışma için bir yol sunulmuştur (358).

HSV-1/2 enfekte ettiği hücreleri *in vitro* ortamda malign transformasyona sebep olabilmektedir (205). Ancak *in vitro* çalışmalardan elde edilen bulguların insanlarda BBK gelişimi için geçerli olup olmadığı netlik kazanmamıştır (206).

HSV 1/2 ile BBK arasında olası ilişkiye vurgu yapan çalışmaların yanı sıra bazı araştırmalarda BBK ile HSV arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (206, 359). Oral SHK hastaları ile yaş ve cinsiyet bakımından eşleştirilmiş sağlıklı kontroller; HSV-1 seropozitifliği açısından karşılaştırıldığında, oral SHK olan hastaların HSV-1 seropozitifliğinin sağlıklı kontrollere göre hafif yüksek olduğu bulunmuştur. Ancak bu yüksekliği büyük ölçüde sigara içen veya HPV enfeksiyonu olan hastaların oluşturduğu görülmüştür. Bundan dolayı HSV-1'in tek başına karsinogeneze katkısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (204).

Sağlıklı gönüllülerden alınan normal mukoza örneklerinin yanı sıra oral lökoplakisi olan veya oral SHK olan hastalardan elde edilen parafine gömülmüş doku örnekleri ''nested'' PZR ile HSV-1 varlığı açısından değerlendirildiğinde, normal oral mukoza örneklerinin %54'ünde, oral lökoplaki örneklerinin %36'sında ve oral SHK örneklerinin %52'sinde HSV-1 saptanmış, tespit edilen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (360).

Çalışmamızda incelenen hiçbir örnekte HSV-1/2 DNA'sına rastlanmamıştır. HSV-1 ve HSV-2'nin BBK gelişimine doğrudan katkılarına ve bu malignitelerin bilinen risk faktörlerini değiştiren kofaktörler olarak hareket edip etmediklerine ilişkin yeterli kanıtlar elde edilememiştir. HSV-1,2 ile BBK ilişkisi halen aydınlatılmaya muhtaçtır.

VZV, primer enfeksiyonundan sonra duysal gangliyonlarda ömür boyu latent kalır ve bağışıklık sisteminin baskılandığı durumlarda yeniden aktive olabilir (215, 216). Hem VZV'nin neden olduğu herpes zoster enfeksiyonu hem de malignitenin immünsupresyon ile ilişkili olduğu bilinmesine rağmen (221), herpes zoster ile ilerleyen dönemde konan kanser tanısı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir (13, 222-225, 361, 362). VZV'nin BBK üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar çok sınırlı olmakla beraber, virüsün BBK'nın etiyolojisinde onkojenik bir faktör olup olmadığı da henüz aydınlatılamamıştır (3).

1994'ten 2000'e kadar Belçika'da herpes zoster enfeksiyonu olan ve olmayan toplam 311.000 hastada yapılan bir çalışmada; yaş ve cinsiyete göre ayarlama yapıldıktan sonra herpes zoster enfeksiyonu olan 65 yaş üstü hastalarda, olmayanlara göre herpes zoster enfeksiyonu sonrası görülen akciğer, prostat, meme ve kolorektal kanserinde önemli bir artış olduğu bulunmuştur. Ancak bu çalışmada çıkan sonucu genel popülasyon yerine belirli bir gruba odaklanılmasının etkileyebileceği vurgulanmıştır (224).

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC), ABD'deki kişilerin yaklaşık %30'unun yaşamları boyunca herpes zoster yaşayacağını tahmin etmektedir (363). Muhtemelen VZV'ye özgü hücre aracılı bağışıklıktaki düşüşe bağlı olarak yaşla birlikte herpes zoster insidansı giderek artmaktadır (364-367). Ayrıca küresel olarak herpes zoster oranının arttığına dair kanıtlar olup (368), bunun altında yatan nedenler muhtemelen multifaktöriyeldir ve nüfusun yaşlanması, bağışıklığı baskılayan ilaçların artan kullanımı, varicella zoster virüsüne karşı yaygın çocukluk çağı aşılaması gibi pek çok faktörü içermektedir (369).

Yaptığımız çalışmada incelenen hasta grubundaki hiçbir hastada VZV DNA'sına rastlanmazken kontrol grubundaki kronik tonsillit tanılı bir hastada (%0,5) VZV DNA'sı tespit edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,40).

EBV, doğrudan karsinogenez ile ilişkili olduğu ortaya konulan ilk virüs olma özelliğine sahiptir (370, 371). Etiyolojik olarak çeşitli malignitelerle ilişkilendirilmiş (226, 227), birçok çalışma, BBK oluşumu ile EBV'nin varlığı arasında bir ilişki olduğunu ortaya konmuştur (3, 5, 6, 229, 255). EBV'nin etiyolojisinde yer aldığı kanıtlanmış BBK tipi nazofaringeal karsinomdur (11, 261, 372). Yine EBV varlığı ile kesin olarak ilişkilendirilen Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfoma'da da baş boyun bölgesine dahil orofaringeal bölge, tiroid bezi, tükürük bezi gibi pekçok bölge tutulabilmektedir (229). Hipofaringeal ve laringeal tümörlerin gelişimindeki rolü de çeşitli çalışmalarla ortaya konmaktadır (264-266). Bununla birlikte, çeşitli virüslerle (başlıca HPV ve EBV) ko-enfeksiyonun kanser gelişimi üzerinde etkisi olduğunu gösteren kanıtlar da vardır (229, 257, 373).

Bazı çalışmalarda EBV varlığı oral SHK ile ilişkilendirilirken (211, 374-376), bazı çalışmalarda EBV ve oral SHK arasında net bir ilişki bulunamamıştır (377, 378). Ağız boşluğunda çeşitli skuamöz hücreli proliferatif lezyonlarda EBV varlığını araştırmak için yapılan bir çalışmada, oral SHK'nın yaklaşık %60'ında EBV genomu bulunurken; papillomların hiçbirinde EBV genomu tespit edilmemiştir. EBV enfeksiyonunun oral skuamöz epitel üzerinde kanserojen etkiye sahip olabileceği veya alternatif olarak, virüsün sadece SHK, karsinoma in

situ ve lökoplaki epitel hücrelerinde var olabileceği sonucuna varılmıştır (379). Bir diğer çalışmada, farklı evrelerdeki oral SHK ve EBV-DNA pozitifliği arasında pozitif bir korelasyon bulunmuş ve ayrıca EBV DNA pozitifliğinin iyi diferansiye oral SHK'dan kötü diferansiye oral SHK'ya geçişte arttığı gösterilmiştir (380).

PZR ile EBV-DNA varlığı değerlendirilen bazı çalışmalarda, oral malignitesi olan hastalarla sağlıklı kontroller arasında EBV DNA pozitifliği açısından bir fark bulunurken, bazı çalışmalarda beklenilenin aksine kontrollerde daha yüksek EBV DNA pozitifliği tespit edilmiştir (200, 212).

Çalışmamızda hasta grubundan bir kişide (dil SHK), kontrol grubundan ise üç kişide (lenfoid hiperplazisi, likenoid mukozit, kronik tonsillit) EBV DNA'sına rastlanmıştır. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,30). Farklı çalışmalardaki değişken EBV prevalansı, farklı örneklem teknikleri, farklı PZR yöntemleri, örneğin kalitesi (örn., taze, donmuş veya parafinize örnek), etnik köken ve coğrafi farklılıklar ile açıklanabilir (200, 212, 381). Örneğin, on üç vaka-kontrol çalışmasını değerlendiren bir meta-analiz çalışmasında taze/dondurulmuş dokularda, parafine gömülü dokulardan daha yüksek bir EBV pozitiflik oranı tespit edilmiştir. Farklı örnek saklama yöntemlerinin de sonuçların heterojenliğine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (9). Aynı şekilde daha önceki bir araştırmada, parafine gömülü dokular taze dokularla karşılaştırıldığında EBV-DNA'sının daha az oranda tespit edildiği bildirilmiştir (382). Çalışmamızda değerlendirilen tüm örneklerin parafinize dokuların arşiv materyalleri olması nedeniyle EBV pozitifliği beklenenden daha düşük bulunmuş olabilir. Taze doku örneklerinin çalışılması, BBK gelişiminde EBV'nin olası rolünün aydınlatılmasında daha değerli olabilir.

EBV ile SHK gelişimi arasındaki ilişki aynı ülkede farklı bölgelerde bile değişkenlik gösterebilmektedir. Japonya'da yapılan bir çalışmada, 1997 ile 1999 yılları arasında Okinawa'da bildirilen oral SHK olan 54 hasta, Japonya anakarasındaki Kitakyushu ve Kumamoto'dan sırasıyla 21 ve 20 hasta ile EBV-DNA varlığı açısından PZR kullanılarak karşılaştırılmıştır. Okinawa'daki 54 hastanın 39'unda; anakaradan değerlendirilen 42 hastanın 10'unda EBV-DNA tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Okinawa'da EBV enfeksiyonunun oral SHK'da sıklıkla gösterildiği ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna varılırken ($P<0.001$); anakara Japonya'da EBV ile oral SHK arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (376).

Yapılan başka bir çalışmada oral SHK, oral lökoplaki ve oral liken planus olan hastaların patolojik doku örnekleri ve yine bu hastalara ait sağlıklı görünümde olan mukozal doku örnekleri ile kontrol grubuna ait doku örnekleri eş zamanlı olarak incelendiğinde; oral SHK'da kontrol grubuna göre daha yüksek bir EBV-DNA pozitifliği bulunmasına rağmen, hastaların sağlıklı mukozalarında da EBV pozitifliğinin yüksekliği nedeniyle, EBV'nin oral SHK gelişimindeki rolünün şüpheli olduğu sonucuna varılmıştır (377).

Oral SHK'da EBV'nin etiyolojik rolüne ilişkin veriler tartışmalıdır. Genel olarak, düşük EBV prevalansı bulan çalışmalar, etiyolojik rolün olmadığı veya ihmal edilebilir bir rol oynadığı sonucuna varırken (375, 383, 384), nispeten yüksek bir EBV prevalansı bildiren çalışmalar sıklıkla etiyolojik bir rolü desteklemiştir (375, 379). Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında EBV'nin BBK gelişimindeki potansiyel rolünün belirlenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

CMV genel olarak onkojenik bir virüs olarak kabul edilmese de, CMV enfeksiyonu ile farklı maligniteler arasında bağlantı kurulmaktadır (274). CMV glioblastoma, nöroblastom, medulloblastom, kolon, meme, prostat, mukoepidermoid, rabdomyosarkom ve tükürük bezi tümörlerini içeren farklı kökenli kanser dokularında tespit edilmiştir (385-390). Bazı tümör dokularındaki CMV'nin varlığı ve bunun tümörün gelişimi ve ilerlemesindeki rolü çok sayıda makalede tartışılmıştır (263, 386). CMV, hücresel süreçleri etkileyen ve proliferasyonun artması, apoptozun inhibisyonu, hücresel göçün uyarılması, kemoterapiye direncin indüklenmesi ile sonuçlanan çeşitli proteinleri kodlamaktadır (391).

CMV gibi virüsler ve kanser hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçış gibi ortak amaçlara ulaşmada birbirlerine yardımcı oldukları düşünülmektedir (ortak amaç teorisi). IL-6 ve TNF-α ekspresyonunu indükleyerek tümör hücrelerinde immün tolerans oluşturup, onkojenik mikro-ortam oluşumuna katkıda bulunur (267, 392). CMV'nin kanserli dokularda bulunması, virüsün onkogenez olasılığını artırabileceği veya fırsatçı olarak kanser dokularını enfekte edebileceği şeklinde yorumlanmaktadır (393, 394).

CMV'nin birçok kanserin gelişiminde rol aldığının gösterilmesine rağmen BBK ile ilişkisi hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Dünyanın farklı ülkelerinde oral SHK lezyonlu hastalarda CMV'nin genel prevalansı %0 ila %91,5 arasında bildirilmiştir (5, 7, 394-396). Tükürük bezi tümörlerinde CMV antijeninin araştırıldığı bir çalışmada bu tümörlerin %70,6'sının CMV taşıdığı ve CMV'nin tükürük bezi tümörü gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği bulunmuştur (397).

Nazofaringeal karsinomlu 150 hasta örneğinin incelendiğinde bir diğer çalışmada, örneklerin %35,3'ünün CMV taşıdığı saptanmış ve CMV ile nazofaringeal karsinom arasındaki olası ilişkiye dikkat çekilmiştir (11).

Çalışmamızda da BBK tanısı olan 300 hastanın hiçbirinin doku örneğinde CMV-DNA tespit edilmezken, 200 kişilik kontrol grubunun beşinde (dilin benign skuamöz epitel lezyonu, dilin fibröz hiperplazisi, fibroepitelyal polip, ağız içi granülasyon dokusu, kronik tonsillit) CMV-DNA'sına rastlanmıştır. Gruplar arasında kontrol grubu lehine anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur (p=0,01).

Literatürde CMV'nin baş ve boyun bölgesinde oluşan benign lezyonların patogenezindeki rolüne ilişkin yeterli çalışma bulunamazken; gastrointestinal ve solunum sisteminde çeşitli bölgelerde polip oluşumu ile ilişkili olabileceğine dair yayınlara rastlanmıştır (398-400).

Herpes virüslerinin bir özelliği, farklı coğrafi bölgelerde farklı insidanslara sahip olabilmesidir. Bu nedenle, çeşitli genetik, çevresel veya viral faktörler bu bölgesel farklılığa neden olabilir (7, 401). Genel olarak, oral SHK'da CMV enfeksiyonu insidansının düşük olması, virüsün epitel hücrelerini enfekte edebileceği ancak muhtemelen doğrudan onkojenik rolü olmayacağı sonucunu ortaya koymaktadır (210). Laringeal SHK'da CMV varlığının araştırıldığı çalışmada örneklerin % 9'u CMV için pozitif olarak bulunmuş, CMV'nin karsinom gelişimindeki rolü istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (402). CMV enfeksiyonu ve kanser arasındaki olası ilişki yıllardır araştırılmaktadır; ancak günümüzde CMV'nin kanser patogenezindeki potansiyel rolü halen belirsizliğini korumaktadır (7, 263).

HHV-6 ve HHV-7, pediatrik lenfoma (315), akut lenfoblastik lösemi (316), bazal hücreli karsinom (317), glioma (299, 313) başta olmak üzere çeşitli çalışmalarda farklı maligniteler ile ilişkilendirilmişlerdir. HHV-6 ve HHV-7'nin, bu virüsler için bir rezervuar olan tükürük bezlerinde varlığını sürdürdüğü bilinse de (318-320) bunların BBK üzerinde bir etkileri olup olmadığı net olarak tespit edilememiştir. HHV-6 ve 7'nin tükürük bezlerinde bulunmaları dışında, tükürük bezi kanseri gelişiminde katkılarının olmadığı yönünde sonuç ortaya koyan çalışmalar olduğu gibi (12), HHV-6'nın oral SHK gelişimine etkisini ne destekleyebilen ne de dışlayabilen çalışmalar da bulunmaktadır (308).

Yapılan bir başka çalışmada, oral kavitenin hem neoplastik hem de malign olmayan lezyonlarında HHV-6'ya sık rastlanmıştır. HHV-6'nın oral mukozal dokulara etkisi henüz

belirlenmemiş olmakla birlikte, virüsün *in vitro* tümörijenik potansiyeli oral lezyonların etiyopatogenezinde bir rolü olabileceğini akla getirmektedir. Malign olmayan lezyonlarda HHV-6 DNA'sının sık saptanması, displastik dokuların virüse duyarlı olduğunu göstermektedir (307). Ayrıca HHV-6 DNA'sı tarafından tümör dışı insan epidermal keratinositlerinin neoplastik transformasyonu da gösterilmiştir (317).

Çalışmamızda HHV-6 DNA'sı, hasta grubunundan üç örnekte (dil skuamöz hücreli karsinom, larenks skuamöz hücreli karsinom, larenks skuamöz hücreli karsinom) ve kontrol grubunda dört örnekte (ağız içi skuamöz papillom, kronik tonsillit, tonsilde polip, kronik tonsillit) tespit edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,39). HHV-7 DNA'sı iki grupta da tespit edilmemiştir. Tüm bu yapılan çalışmalar ışığında HHV-6 ve HHV-7'nin çeşitli mekanizmalar aracılığıyla karsinom gelişimine katkıda bulunabilecekleri öngörülse de BBK'daki olası rollerinin araştırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır.

HHV-8, 1994 yılında tanımlanmıştır ve ikinci onkojenik insan herpes virüsü olma özelliğine sahiptir (321, 403). İlk olarak KS'da keşfedilen HHV-8, tüm insan malignitelerinin yaklaşık %1'i ile ilişkilidir (321, 323). HHV-8, B hücreli lenfoproliferatif bozukluklar ve HHV-8 ile ilişkili Hodgkin olmayan lenfomaya ilerleyebilen multisentrik Castleman hastalığı ve ayrıca primer efüzyon lenfoması dâhil olmak üzere birçok hastalıkla bağlantılıdır (322, 403, 404). Yapılan çok sayıda epidemiyolojik çalışma, bu virüs için enfeksiyon ve kanser arasındaki ilişkinin gücünü ve tutarlılığını ortaya koymuştur (348, 349).

HHV-8'in BBK gelişimindeki rolünün araştırıldığı çalışmada, HHV-8'in tükürük ile yayılması dışında BBK gelişimindeki potansiyel önemi henüz belirlenememiştir (350). Laringeal SHK'da HHV-8 DNA'sı varlığının araştırıldığı bir çalışmada, normal larenks örneklerinde pozitif sonuç bulunmazken, laringeal SHK örneklerinin %10,6'sında HHV-8 DNA varlığı bildirilmiş ve HHV-8'in laringeal karsinogenezde rolü olabileceği sonucuna varılmıştır (405). Başka bir çalışmada ise, hem hasta hem de sağlıklı insanlardan alınan örneklerde HHV-8 varlığı tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (406).

Çalışmamızda ne hasta ne de kontrol grubunda HHV-8 tespit edilmemiştir. Çalışmalar, HHV-8'in çeşitli mekanizmalar aracılığıyla karsinom gelişimine katkıda bulunabileceğini öngörse de BBK gelişimindeki olası rolünün ortaya konması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Hiçbir örnekte HSV-1, HSV-2, HHV-7 ve HHV-8 saptanmamıştır.
- VZV; hasta grubundan hiçbir örnekte saptanmazken, kontrol grubundan bir örnekte (%0,5) tespit edilmiştir (p=0,40).
- EBV; hasta grubundan bir örnekte (%0,3) ve kontrol grubundan üç örnekte (%1,5) tespit edilmiştir (p=0,30).
- CMV; hasta grubundan hiçbir örnekte tespit edilmezken, kontrol grubundan beş örnekte (%2,5) saptanmıştır (p=0,01).
- HHV-6; hasta grubundan üç örnekte (%0,9) ve kontrol grubundan iki örnekte (%1) tespit edilmiştir (p=0,39).
- Türk popülasyonunda herpes virüs seroprevelansının araştırıldığı mevcut çalışmalar incelendiğinde; ülkemizde bu oranın HSV-1 için %90, VZV için %93, EBV için %91-99, CMV için %96-99, HHV-6 için yaklaşık %80 oranlarında olduğu görülmüştür (52-54, 58, 59, 63, 64, 66-70). Bununla birlikte çalışılan doku örneklerinde viral genom tespit oranı seroprevelans oranları kadar yüksek bir değere ulaşamamıştır. Bu durum; hastaların özelliklerine, farklı örnek türlerine, örnek alınan bölgeye, farklı analiz yöntemlerine, örneğin kalitesine, enfeksiyonun evresine bağlı olabilir.
- Kullanılan örneğin saklama koşulları (örn., taze, donmuş, parafinize örnek), EBV dışında diğer HHV'lerin tespit sıklığını da olumsuz yönde etkilemiş olabilir.
- Kanser etyolojisinin multifaktöriyel olması göz önüne alındığında; herpes virüslerin tek başlarına kanser gelişimine katkılarının nispeten az olabileceği, bundan dolayı çalışmamızda araştırılmayan virüslerin varlığı ve diğer risk faktörleri ile beraber değerlendirilerek herpes virüslerin kanser gelişiminde olası kofaktör rollerinin ortaya konması yararlı olabilir.
- Herpes virüslerin ve henüz araştırılmamış virüslerin çalışmamızda kullanılan PZR yönteminden daha ileri araştırma imkanı sunan yeni nesil dizileme gibi yeni yöntemler kullanılarak tekrar değerlendirme yapılması faydalı olabilir.
- Aynı zamanda daha güvenilir veriler elde edebilmek için, çalışma gruplarının sayısının arttırılması ya da deneysel çalışmalar ile uzun vadeli prospektif incelemelerin yapılması bu konunun aydınlatılabilmesi konusunda yardımcı olacaktır.

Türk toplumunda herpes virüs seroprevelansı oldukça yüksek olmasına rağmen doku örneklerinde viral genom saptanmaması, toplumumuzda BB-SHK gelişiminde virüslerden ziyade diğer faktörlerin daha ön planda olduğunu düşündürmüştür. Ancak ülkemizde herpes virüslerin BBK'daki olası rollerinin ve karsinogenez mekanizmalarının araştırılması için daha fazla çalışmaya ve daha büyük örnekleme gerek vardır.

9. KAYNAKLAR

1. Chow LQ. Head and neck cancer. New England Journal of Medicine. 2020;382(1):60-72.
2. Johnson DE, Burtness B, Leemans CR, Lui VWY, Bauman JE, Grandis JR. Head and neck squamous cell carcinoma. Nature reviews Disease primers. 2020;6(1):1-22.
3. Wołącewicz M, Becht R, Grywalska E, Niedźwiedzka-Rystwej P. Herpesviruses in head and neck cancers. Viruses. 2020;12(2):172.
4. Stenson KM. Epidemiology and risk factors for head and neck cancer 2022 [Available from: https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-and-risk-factors-for-head-and-neck-cancer.
5. Polz-Gruszka D, Stec A, Dworzański J, Polz-Dacewicz M. EBV, HSV, CMV and HPV in laryngeal and oropharyngeal carcinoma in Polish patients. Anticancer research. 2015;35(3):1657-61.
6. Gondivkar SM, Parikh RV, Gadbail AR, Solanke V, Chole R, Mankar M, et al. Involvement of viral factors with head and neck cancers. Oral Oncology. 2012;48(3):195-9.
7. Naqvi SU, Khan S, Ahmed A, Lail A, Gul S, Ahmed S. Prevalence of EBV, CMV, and HPV in oral squamous cell carcinoma patients in the Pakistani population. Journal of Medical Virology. 2020;92(12):3880-3.
8. Pathmanathan R, Prasad U, Sadler R, Flynn K, Raab-Traub N. Clonal proliferations of cells infected with Epstein–Barr virus in preinvasive lesions related to nasopharyngeal carcinoma. New England Journal of Medicine. 1995;333(11):693-8.
9. She Y, Nong X, Zhang M, Wang M. Epstein-Barr virus infection and oral squamous cell carcinoma risk: A meta-analysis. PLoS One. 2017;12(10):e0186860.
10. Kim O, Kim S. A sensitive and specific detection of Human herpesvirus 8 by polymerase chain reaction and dot blot hybridization. Acta virologica. 2003;47(2):87-90.
11. Ahmed HG, Suliman RSA, Ashankyty IM, Albieh ZA, Warille AA. Role of human Cytomegalovirus in the etiology of nasopharyngeal carcinoma. Journal of Cancer Research and Therapeutics. 2018;14(3):583.
12. Shanehsazzadeh M, Sharifi-Rad J, Pourazar A, Behbahani M. Epidemiology of herpes human virus 6 and 7 infections in salivary gland neoplasms in Isfahan, Iran. Medical Archives. 2014;68(4):276.
13. Iglar K, Kopp A, Glazier RH. Herpes zoster as a marker of underlying malignancy. Open medicine. 2013;7(2):e68.
14. Kukhanova M, Korovina A, Kochetkov S. Human herpes simplex virus: life cycle and development of inhibitors. Biochemistry (Moscow). 2014;79(13):1635-52.
15. Schrag JD, Prasad BV, Rixon FJ, Chiu W. Three-dimensional structure of the HSV1 nucleocapsid. Cell. 1989;56(4):651-60.
16. Zarrouk K, Piret J, Boivin G. Herpesvirus DNA polymerases: Structures, functions and inhibitors. Virus research. 2017;234:177-92.
17. Roizman B. Herpesviridae. In: Fields B, Knipe D, Howley P, editors. Fields Virology. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 1996. p. 2221-96.
18. Davison A, Clements J. Herpesviruses: general properties In: Mahy B, Ter Maulen V, editors. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Washington: ASM Press; 2005. p. 488-505.
19. Domingues RB, Tsanaclis AMC, Pannuti CS, Mayo MS, Lakeman FD. Evaluation of the range of clinical presentations of herpes simplex encephalitis by using polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid samples. Clinical Infectious Diseases. 1997;25(1):86-91.
20. Rechenchoski DZ, Faccin-Galhardi LC, Linhares REC, Nozawa C. Herpesvirus: an underestimated virus. Folia microbiologica. 2017;62(2):151-6.

21. Cheshenko N, Herold BC. Glycoprotein B plays a predominant role in mediating herpes simplex virus type 2 attachment and is required for entry and cell-to-cell spread. Journal of general virology. 2002;83(9):2247-55.
22. Rajčáni J, Andrea V, Ingeborg R. Peculiarities of herpes simplex virus (HSV) transcription: an overview. Virus genes. 2004;28:293-310.
23. Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections. The lancet. 2001;357(9267):1513-8.
24. Roizman B. The structure and isomerization of herpes simplex virus genomes. Cell. 1979;16(3):481-94.
25. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology E-book: Elsevier Health Sciences; 2020.
26. Roizman B, Sears A. Herpes simplex viruses and their replication. In: Fields B, Knipe D, Howley P, editors. Fields' virology. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2001. p. 2399-459.
27. Cohen JI. Herpesvirus latency. The Journal of Clinical Investigation. 2020;130(7):3361-9.
28. Nikkels A, Delvenne P, Sadzot-Delvaux C, Debrus S, Piette J, Rentier B, et al. Distribution of varicella zoster virus and herpes simplex virus in disseminated fatal infections. Journal of clinical pathology. 1996;49(3):243-8.
29. Stevens JG, Cook ML. Latent herpes simplex virus in spinal ganglia of mice. Science. 1971;173(3999):843-5.
30. Mahalingam R, Kennedy PG, Gilden DH. The problems of latent varicella zoster virus in human ganglia: precise cell location and viral content. Journal of neurovirology. 1999;5(5):445-8.
31. Kleinschmidt-DeMasters B, Gilden DH. Varicella-Zoster virus infections of the nervous system: clinical and pathologic correlates. Archives of pathology & laboratory medicine. 2001;125(6):770-80.
32. Özbal Y. Varicella-Zoster Virusu. In: Ustaçelebi Ş, editor. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. p. 829-33.
33. Sinzger C, Grefte A, Plachter B, Gouw AS, The TH, Jahn G. Fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells and smooth muscle cells are major targets of human cytomegalovirus infection in lung and gastrointestinal tissues. Journal of General Virology. 1995;76(4):741-50.
34. De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. Clinical microbiology reviews. 2005;18(1):217-45.
35. Ablashi DV, Chatlynne LG, Whitman Jr JE, Cesarman E. Spectrum of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, or human herpesvirus 8, diseases. Clinical microbiology reviews. 2002;15(3):439-64.
36. Slots J. Herpesviruses in periodontal diseases. Periodontology 2000. 2005;38(1):33-62.
37. Wang X, Huong S-M, Chiu ML, Raab-Traub N, Huang E-S. Epidermal growth factor receptor is a cellular receptor for human cytomegalovirus. Nature. 2003;424(6947):456-61.
38. Krug LT, Pellett PE. Roseolovirus molecular biology: recent advances. Current opinion in virology. 2014;9:170-7.
39. Jacquet A, Haumont M, Chellun D, Massaer M, Tufaro F, Bollen A, et al. The varicella zoster virus glycoprotein B (gB) plays a role in virus binding to cell surface heparan sulfate proteoglycans. Virus research. 1998;53(2):197-207.
40. Shukla D, Spear PG. Herpesviruses and heparan sulfate: an intimate relationship in aid of viral entry. The Journal of clinical investigation. 2001;108(4):503-10.
41. Campbell DM, Rappocciolo G, Jenkins FJ, Rinaldo CR. Dendritic cells: key players in human herpesvirus 8 infection and pathogenesis. Frontiers in Microbiology. 2014;5:452.
42. Tortorella D, Gewurz BE, Furman MH, Schust DJ, Ploegh HL. Viral subversion of the immune system. Annual review of immunology. 2000;18(1):861-926.
43. Moss P, Khan N. CD8+ T-cell immunity to cytomegalovirus. Human immunology. 2004;65(5):456-64.

44. Boeckh M, Nichols WG. Immunosuppressive effects of beta-herpesviruses. Herpes: the journal of the IHMF. 2003;10(1):12-6.
45. Mogensen TH, Paludan SR. Molecular pathways in virus-induced cytokine production. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2001;65(1):131-50.
46. Michelson S. Human cytomegalovirus escape from immune detection. Intervirology. 1999;42(5-6):301-7.
47. Duran N. Genital herpes enfeksiyonları. Mikrobiyoloji Bülteni. 2003;37:205-13.
48. Looker KJ, Magaret AS, May MT, Turner KM, Vickerman P, Gottlieb SL, et al. Global and regional estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 1 infections in 2012. PloS one. 2015;10(10):e0140765.
49. Swedan SF, Darabseh A. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2 and correlates of infection in Jordan. International journal of STD & AIDS. 2022;33(3):304-10.
50. Malkin J, Morand P, Malvy D, Ly T, Chanzy B, De Labareyre C, et al. Seroprevalence of HSV-1 and HSV-2 infection in the general French population. Sexually transmitted infections. 2002;78(3):201-3.
51. Xu F, Sternberg M, Gottlieb S, Berman S, Markowitz L, Forhan S, et al. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years-United States, 2005-2008. Morbidity and Mortality Weekly Report. 2010;59(15):456-9.
52. Arseven G, Tuncel E, Tuncel S, Sönmez E, Gülen A. Distribution of HSV-1 and HSV-2 antibodies in pregnant women. Mikrobiyoloji Bulteni. 1992;26(4):359-66.
53. Dereli D, Ertem E, Tavmergen E, Serter D, Tavmergen E, Koçyiğit F, et al. Screening for herpes simplex virus in infertile women. Genitourinary Medicine. 1995;71(2):131.
54. Dolar N, Serdaroglu S, Yilmaz G, Ergin S. Seroprevalence of herpes simplex virus type 1 and type 2 in Turkey. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2006;20(10):1232-6.
55. Kelley PW, Petruccelli BP, Stehr-Green P, Erickson RL, Mason CJ. The susceptibility of young adult Americans to vaccine-preventable infections: a national serosurvey of US Army recruits. Jama. 1991;266(19):2724-9.
56. Johnson TH. Varicella and herpes zoster: a perspective and overview. Journal of Infectious Diseases. 1992;166(Supplement_1):S1-S6.
57. Seward JF, Zhang JX, Maupin TJ, Mascola L, Jumaan AO. Contagiousness of varicella in vaccinated cases: a household contact study. Jama. 2004;292(6):704-8.
58. Hekimoğlu C, Özbek Ö, Emek M, Oktem İ, Koroglu G, Sertel M, et al. Seroprevalence and social determinants of varicella in Turkey. Eastern Mediterranean Health Journal. 2018;24(3).
59. Kose S, Mandiracioglu A, Senger SS, Ulu Y, Cavdar G, Gol B, et al. Seroprevalence of varicella-zoster virus in the prevaccine era: A population-based study in Izmir, Turkey. Journal of infection and public health. 2013;6(2):115-9.
60. Özbal Y. Epstein-Barr Virus. Erciyes Med J. 2000;22(4):211-21.
61. Dowd JB, Palermo T, Brite J, McDade TW, Aiello A. Seroprevalence of Epstein-Barr virus infection in US children ages 6-19, 2003-2010. PloS one. 2013;8(5):e64921.
62. Levine H, Balicer RD, Rozhavski V, Halperin T, Shreberk M, Davidovitch N, et al. Seroepidemiology of Epstein− Barr virus and cytomegalovirus among Israeli male young adults. Annals of epidemiology. 2012;22(11):783-8.
63. Ozkan A, Kilic SS, Kalkan A, Ozden M, Demirdag K, Ozdarendeli A. Seropositivity of Epstein-Barr virus in Eastern Anatolian Region of Turkey. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology. 2003;21(1):49.
64. Fidan I YS, Imir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virus antikorlarının araştırılması. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 2005;19(4):453-6.
65. Hodinka RL. Human Cytomegaloviruse. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. Manual of Clinacal Microbiology Washington: American Society for Microbiology Press; 2007. p. 1549-63.

66. Sahiner F, Cekmez F, Cetinkaya M, Kaya G, Kalayci T, Gunes O, et al. Congenital cytomegalovirus infections and glycoprotein B genotypes in live-born infants: a prevalence study in Turkey. Infectious Diseases. 2015;47(7):465-71.
67. Satılmış A, Güra A, Ongun H, Mendilcioğlu İ, Çolak D, Oygür N. CMV seroconversion in pregnants and the incidence of congenital CMV infection. Turk J Pediatr. 2007;49(1):30-6.
68. Aynioglu A, Aynioglu O, Altunok ES. Seroprevalence of Toxoplasma gondii, rubella and Cytomegalovirus among pregnant females in north-western Turkey. Acta Clinica Belgica. 2015;70(5):321-4.
69. Sert Y, Ozgu-Erdinc AS, Saygan S, Engin Ustun Y. Antenatal cytomegalovirus infection screening results of 32,188 patients in a tertiary referral center: a retrospective cohort study. Fetal and pediatric pathology. 2019;38(2):112-20.
70. Zeytinoğlu A, Terek D, Arslan A, Erensoy S, Bozdemir T, Yalaz M, et al. Investigation of congenital CMV infection with the presence of CMV DNA in saliva samples of new born babies. Mikrobiyoloji Bulteni. 2019;53(1):53-60.
71. Okuno T, Takahashi K, Balachandra K, Shiraki K, Yamanishi K, Takahashi M, et al. Seroepidemiology of human herpesvirus 6 infection in normal children and adults. Journal of clinical microbiology. 1989;27(4):651-3.
72. Malonga GA, Jary A, Leducq V, Moudiongui Mboungou Malanda D, Boumba ALM, Chicaud E, et al. Seroprevalence and molecular diversity of Human Herpesvirus 8 among people living with HIV in Brazzaville, Congo. Scientific reports. 2021;11(1):1-9.
73. KORAY M. Herpes Virüsn İnfeksiyonlarının Klinik, Laboratuar Teşhisi ve Tedavisi. Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry. 2012;38(1-2):1-8.
74. Huber MA. Herpes simplex type-1 virus infection. Quintessence international. 2003;34(6).
75. Laskaris G. Pocket atlas of oral diseases: Thieme; 2006.
76. Kocabaş C. Herpetic Whitlow; A Rare Form of Herpes Virus Infection: Case Report. Journal of Child. 2011;11(3):126-9.
77. Feder HM, Long SS. Herpetic whitlow: epidemiology, clinical characteristics, diagnosis, and treatment. American Journal of Diseases of Children. 1983;137(9):861-3.
78. D S. Herpes Simpleks Virusu İnfeksiyonları. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editors. İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri; 1996. p. 737-49.
79. Langenberg AG, Corey L, Ashley RL, Leong WP, Straus SE. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. New England Journal of Medicine. 1999;341(19):1432-8.
80. Çolak D, Mutlu D. Herpesvirüsler. In: Abacıoğlu H, Badur S, Ustaçelebi Ş, editors. Moleküler, Klinik ve Tanısal Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitapevi; 2004. p. 113-24.
81. Kimberlin DW, Lin C-Y, Jacobs RF, Powell DA, Frenkel LM, Gruber WC, et al. Natural history of neonatal herpes simplex virus infections in the acyclovir era. Pediatrics. 2001;108(2):223-9.
82. Logan SA, MacMahon E. Viral meningitis. Bmj. 2008;336(7634):36-40.
83. Tyler KL. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's. HERPES-CAMBRIDGE-. 2004;11:57A-64A.
84. Esmann J. The many challenges of facial herpes simplex virus infection. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;47(suppl_1):17-27.
85. Opstelten W, Neven AK, Eekhof J. Treatment and prevention of herpes labialis. Can Fam Physician. 2008;54(12):1683-7.
86. Heininger U, Seward JF. Varicella. The Lancet. 2006;368(9544):1365-76.
87. STRAUS SE, OSTROVE JM, INCHAUSPÉ G, FELSER JM, FREIFELD A, CROEN KD, et al. Varicella-zoster virus infections: biology, natural history, treatment, and prevention. Annals of internal medicine. 1988;108(2):221-37.
88. Arvin AM. Varicella-zoster virus: molecular virology and virus–host interactions. Current opinion in microbiology. 2001;4(4):442-9.

89. Kanra G, Kara A. Varisella zoster virüs enfeksiyonları. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2002;45(3):260-74.
90. HENKE CE, KURLAND LT, ELVEBACK LR. Infectious mononucleosis in Rochester, Minnesota, 1950 through 1969. American journal of epidemiology. 1973;98(6):483-90.
91. Straus SE, Cohen JI, Tosato G, Meier J. Epstein-Barr virus infections: biology, pathogenesis, and management. Annals of internal medicine. 1993;118(1):45-58.
92. Oshima M, Azuma H, Okuno A. High prevalence of Epstein–Barr virus type A strain with the 30 bp deletion of the latent membrane protein-1 gene in a Japanese population. Pediatrics international. 1999;41(5):490-5.
93. Sixbey J, Chesney PJ, Shirley P, Buntin D, Resnick L. Detection of a second widespread strain of Epstein-Barr virus. The Lancet. 1989;334(8666):761-5.
94. Young LS, Murray PG. Epstein–Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. Oncogene. 2003;22(33):5108-21.
95. Niedobitek G, AGATHANGGELOU A, HERBST H, WHITEHEAD L, WRIGHT DH, YOUNG LS. Epstein–Barr virus (EBV) infection in infectious mononucleosis: virus latency, replication and phenotype of EBV-infected cells. The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland. 1997;182(2):151-9.
96. Boppana SB, Pass RF, Britt WJ, Stagno S, Alford CA. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. The Pediatric infectious disease journal. 1992;11(2):93-9.
97. Sia IG, Patel R. New strategies for prevention and therapy of cytomegalovirus infection and disease in solid-organ transplant recipients. Clinical microbiology reviews. 2000;13(1):83-121.
98. Prösch S, Schielke E, Reip A, Meisel H, Volk H-D, Einhäupl KM, et al. Human cytomegalovirus (HCMV) encephalitis in an immunocompetent young person and diagnostic reliability of HCMV DNA PCR using cerebrospinal fluid of nonimmunosuppressed patients. Journal of clinical microbiology. 1998;36(12):3636-40.
99. Öz S, Altındiş M. Varicella Zoster Virüsü, Sitomegalovirüs, Epstein-Barr Virüs. In: Altındiş M, editor. Temel, Klinik ve Tanısal Tıbbi Viroloji. Ankara: Ankara Nobel Tıp Yayınevi; 2012. p. 95-112.
100. Ward K, Andrews N, Verity C, Miller E, Ross E. Human herpesviruses-6 and-7 each cause significant neurological morbidity in Britain and Ireland. Archives of disease in childhood. 2005;90(6):619-23.
101. Zerr DM, Meier AS, Selke SS, Frenkel LM, Huang M-L, Wald A, et al. A population-based study of primary human herpesvirus 6 infection. New England Journal of Medicine. 2005;352(8):768-76.
102. Chan P, Ng H, Cheng A. Detection of human herpesviruses 6 and 7 genomic sequences in brain tumours. Journal of clinical pathology. 1999;52(8):620-3.
103. Mock DJ, Powers JM, Goodman AD, Blumenthal SR, Ergin N, Baker JV, et al. Association of human herpesvirus 6 with the demyelinative lesions of progressive multifocal leukoencephalopathy. J Neurovirol. 1999;5(4):363-73.
104. Snydman DR, Emery VC. Human herpesviruses 6 and 7 in solid organ transplant recipients. Clinical infectious diseases. 2001;32(9):1357-60.
105. Singh N, Carrigan DR. Human herpesvirus-6 in transplantation: an emerging pathogen. Annals of internal medicine. 1996;124(12):1065-71.
106. Razzaque A. Oncogenic potential of human herpesvirus-6 DNA. Oncogene. 1990;5(9):1365-70.
107. Torigoe S, Kumamoto T, Koide W, Taya K, Yamanishi K. Clinical manifestations associated with human herpesvirus 7 infection. Archives of disease in childhood. 1995;72(6):518-9.

108. Geraminejad P, Memar O, Aronson I, Rady PL, Hengge U, Tyring SK. Kaposi's sarcoma and other manifestations of human herpesvirus 8. Journal of the American Academy of Dermatology. 2002;47(5):641-55.
109. Nagore E, Ledesma E, Collado C, Oliver V, Perez-Perez A, Aliaga A. Detection of Epstein–Barr virus and human herpesvirus 7 and 8 genomes in primary cutaneous T-and B-cell lymphomas. British Journal of Dermatology. 2000;143(2):320-3.
110. Trento E, Castilletti C, Ferraro C, La Parola IL, Mussi A, Muscardin L, et al. Human herpesvirus 8 infection in patients with cutaneous lymphoproliferative diseases. Archives of dermatology. 2005;141(10):1235-42.
111. Kreuter A, Bischoff S, Skrygan M, Wieland U, Brockmeyer NH, Stücker M, et al. High association of human herpesvirus 8 in large-plaque parapsoriasis and mycosis fungoides. Archives of dermatology. 2008;144(8):1011-6.
112. Grayson W, Pantanowitz L. Histological variants of cutaneous Kaposi sarcoma. Diagnostic pathology. 2008;3(1):1-11.
113. Weiss SW, Goldblum JR, Folpe AL. Enzinger and Weiss's soft tissue tumors: Elsevier Health Sciences; 2007.
114. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. Journal of internal medicine. 2001;249(S741):61-74.
115. Raghu H, Sharma-Walia N, Veettil MV, Sadagopan S, Chandran B. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus utilizes an actin polymerization-dependent macropinocytic pathway to enter human dermal microvascular endothelial and human umbilical vein endothelial cells. Journal of virology. 2009;83(10):4895-911.
116. Radu O, Pantanowitz L. Kaposi sarcoma. Archives of pathology & laboratory medicine. 2013;137(2):289-94.
117. Curtiss P, Strazzulla LC, Friedman-Kien AE. An update on Kaposi's sarcoma: epidemiology, pathogenesis and treatment. Dermatology and therapy. 2016;6(4):465-70.
118. Régulier EG, Reiss K, Khalili K, Amini S, RAPPAPORT J, ZAGURY J-F, et al. T-cell and neuronal apoptosis in HIV infection: implications for therapeutic intervention. International reviews of immunology. 2004;23(1-2):25-59.
119. Buchschacher GL. Introduction to retroviruses and retroviral vectors. Somatic cell and molecular genetics. 2001;26(1):1-11.
120. Aboulafia DM. Kaposi's sarcoma. Clinics in dermatology. 2001;19(3):269-83.
121. Cesarman E. Gammaherpesviruses and lymphoproliferative disorders. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. 2014;9:349-72.
122. Stürzl M, Zietz C, Monini P, Ensoli B. Human herpesvirus-8 and Kaposi's sarcoma: relationship with the multistep concept of tumorigenesis. 2001.
123. Luan SL, Boulanger E, Ye H, Chanudet E, Johnson N, Hamoudi RA, et al. Primary effusion lymphoma: genomic profiling revealed amplification of SELPLG and CORO1C encoding for proteins important for cell migration. The Journal of pathology. 2010;222(2):166-79.
124. Singh A, Preiksaitis J, Romanowski B. The laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. 2005;16(2):92-8.
125. LeGoff J, Péré H, Bélec L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. Virology journal. 2014;11(1):1-17.
126. Roizman B. Herpes simplex viruses and their replication. Virology. 1996:2231-95.
127. McCarter YS, Robinson A. Comparison of MRC-5 and primary rabbit kidney cells for the detection of herpes simplex virus. Archives of pathology & laboratory medicine. 1997;121(2):122.
128. Whitley R. Varicella-Zoster Virus. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of İnfectious Diseases. Livingstone: Elsevier; 2005. p. 1780-6.

129. Çolak D, Mutlu D. Herpes Grubu Viruslar. In: Us A, Ergünay K, editors. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2012. p. 525-8.
130. Arvin AM. Varicella-Zoster Virus. Clinical Microbiology Reviews. 1996;9(3):361-81.
131. Stöckl E, Aberle S. Varicella-Zoster Virus. In: Versalovic J, editor. Manual of Clinical Microbiology. 1: American Society for Microbiology Press; 2011. p. 1545-57.
132. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, douglas, and bennett's principles and practice of infectious diseases E-book: Elsevier Health Sciences; 2019.
133. Fidan I, Yüksel S, İmir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virus antikorlarının araştırılması. J Infect. 2005;19:453-6.
134. Fidan I, Yüksel S, İmir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virus antikorlarının araştırılması. J Infect. 2005;19:453-6.
135. De Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: problems and solutions. World journal of virology. 2012;1(1):31.
136. Sener AG, Afsar I, Pinar E. Evaluation of Epstein–Barr virus antibodies, anti-VCA avidity by immunofluorescence and immunoblot assays for assessment of Epstein–Barr virus immunologic state. Journal of virological methods. 2009;159(2):300-2.
137. Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. Journal of clinical microbiology. 2004;42(8):3381-7.
138. Kimura H, Ito Y, Suzuki R, Nishiyama Y. Measuring Epstein–Barr virus (EBV) load: the significance and application for each EBV-associated disease. Reviews in medical virology. 2008;18(5):305-19.
139. Jahan M. Laboratory diagnosis of CMV infection: a review. Bangladesh Journal of Medical Microbiology. 2010;4(2):39-44.
140. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S, Çolak D, Mutlu D. Herpesviruslar. In: Çolak D, Mutlu D, editors. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Ankara: Ankara Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004. p. 113-44.
141. Gerna G, Revello M, Percivalle E, Zavattoni M, Parea M, Battaglia M. Quantification of human cytomegalovirus viremia by using monoclonal antibodies to different viral proteins. Journal of Clinical Microbiology. 1990;28(12):2681-8.
142. A Ross S, Novak Z, Pati S, B Boppana S. Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders). 2011;11(5):466-74.
143. Wu G-D, Shintaku P, Chien K, Geller SA. A comparison of routine light microscopy, immunohistochemistry, and in situ hybridization for the detection of cytomegalovirus in gastrointestinal biopsies. American Journal of Gastroenterology (Springer Nature). 1989;84(12).
144. Greijer AE, van de Crommert JM, Stevens SJ, Middeldorp JM. Molecular fine-specificity analysis of antibody responses to human cytomegalovirus and design of novel synthetic-peptide-based serodiagnostic assays. Journal of clinical microbiology. 1999;37(1):179-88.
145. Landini M, Mach M. Searching for antibodies specific for human cytomegalovirus: is it diagnostically useful? When and how. Scandinavian journal of infectious diseases Supplementum. 1995;99:18-23.
146. Torii Y, Yoshida S, Yanase Y, Mitsui T, Horiba K, Okumura T, et al. Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection. BMC pregnancy and childbirth. 2019;19(1):1-7.
147. Arnold H. Betaherpesvirüses: cytomegalovirus, human herpesvirüses 6 and 7. In: Topley W, Wilson GS, Collier LH, Mahy BWJ, Meulen VT, editors. Topley Wilson's Microbiology & Microbial Infections. London, New York: ASM Press; 2005. p. 520-7.
148. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. Science. 1986;234(4776):596-601.

149. French C, Menegazzi P, Nicholson L, Macaulay H, DiLuca D, Gompels U. Novel, nonconsensus cellular splicing regulates expression of a gene encoding a chemokine-like protein that shows high variation and is specific for human herpesvirus 6. Virology. 1999;262(1):139-51.
150. Ward K. The natural history and laboratory diagnosis of human herpesviruses-6 and-7 infections in the immunocompetent. Journal of Clinical Virology. 2005;32(3):183-93.
151. Blumberg BM, Mock DJ, Powers JM, Ito M, Assouline JG, Baker JV, et al. The HHV6 paradox: ubiquitous commensal or insidious pathogen? A two-step in situ PCR approach. Journal of clinical virology. 2000;16(3):159-78.
152. Opsahl ML, Kennedy PG. Early and late HHV-6 gene transcripts in multiple sclerosis lesions and normal appearing white matter. Brain. 2005;128(3):516-27.
153. Henke-Gendo C, Viejo-Borbolla A, Schulz F. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (Human Herpesvirus 8). In: Zuckerman A, Banatvala J, Schoub B, Griffiths P, Mortimer P, editors. Principles and practice of clinical virology. Oxford: John Wiley & Sons; 2009. p. 245-70.
154. Erlich HA, Gelfand D, Sninsky JJ. Recent advances in the polymerase chain reaction. Science. 1991;252(5013):1643-51.
155. Karataş M. Moleküler biyoloji: Nobel Akademik Yayıncılık; 2012.
156. Son E, Panwar A, Mosher CH, Lydiatt D. Cancers of the major salivary gland. Journal of Oncology Practice. 2018;14(2):99-108.
157. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2018;68(6):394-424.
158. Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. International journal of cancer. 2013;132(5):1133-45.
159. Gandini S, Botteri E, Iodice S, Boniol M, Lowenfels AB, Maisonneuve P, et al. Tobacco smoking and cancer: a meta-analysis. International journal of cancer. 2008;122(1):155-64.
160. Hashibe M, Boffetta P, Zaridze D, Shangina O, Szeszenia-Dabrowska N, Mates D, et al. Evidence for an important role of alcohol-and aldehyde-metabolizing genes in cancers of the upper aerodigestive tract. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 2006;15(4):696-703.
161. Hashibe M, Brennan P, Benhamou S, Castellsague X, Chen C, Curado MP, et al. Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. Journal of the National Cancer Institute. 2007;99(10):777-89.
162. Boffetta P, Hecht S, Gray N, Gupta P, Straif K. Smokeless tobacco and cancer. The lancet oncology. 2008;9(7):667-75.
163. Mariano LC, Warnakulasuriya S, Straif K, Monteiro L. Secondhand smoke exposure and oral cancer risk: a systematic review and meta-analysis. Tobacco Control. 2022;31(5):597-607.
164. Koh H, Kannler C, Geller A. Cancer prevention: preventing tobacco-related cancers. Cancer: principles and practice of oncology, 6th ed Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins. 2001:549-60.
165. Tavani A, Negri E, Franceschi S, Barbone F, La Vecchia C. Attributable risk for laryngeal cancer in northern Italy. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. 1994;3(2):121-5.
166. Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. Virus research. 2002;89(2):213-28.
167. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine. 2012;30:F55-F70.

168. Johnson NW. Oral cancer: detection of patients and lesions at risk: Cambridge University Press; 1991.
169. Nagao Y, Sata M, Tanikawa K, Itoh K, Kameyama T. High prevalence of hepatitis C virus antibody and RNA in patients with oral cancer. Journal of oral pathology & medicine. 1995;24(8):354-60.
170. Porter S, Lodi G, Chandler K, Kumar N. Development of squamous cell carcinoma in hepatitis C virus-associated lichen planus. Oral Oncology. 1997;33(1):58-9.
171. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. Journal of clinical oncology. 2011;29(32):4294.
172. Adelstein DJ, Ridge JA, Gillison ML, Chaturvedi AK, D'Souza G, Gravitt PE, et al. Head and neck squamous cell cancer and the human papillomavirus: summary of a National Cancer Institute State of the Science Meeting, November 9–10, 2008, Washington, DC. Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck. 2009;31(11):1393-422.
173. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16–positive and human papillomavirus type 16–negative head and neck cancers. Journal of the National Cancer Institute. 2008;100(6):407-20.
174. Hamilton-Dutoit SJ, Therkildsen MH, Nielsen NH, Jensen H, Hansen JH, Pallesen G. Undifferentiated carcinoma of the salivary gland in Greenlandic Eskimos: demonstration of Epstein-Barr virus DNA by in situ nucleic acid hybridization. Human pathology. 1991;22(8):811-5.
175. Chan J, Yip T, Tsang W, Poon Y, Wong C, Ma V. Specific association of Epstein-Barr virus with lymphoepithelial carcinoma among tumors and tumorlike lesions of the salivary gland. Archives of pathology & laboratory medicine. 1994;118(10):994-7.
176. Barton RT, Hogetveit AC. Nickel-related cancers of the respiratory tract. Cancer. 1980;45(12):3061-4.
177. Riechelmann H. Occupational exposure and cancer of the oral cavity and pharynx. Laryngo-rhino-otologie. 2002;81(8):573-9.
178. Vukovic V, Stojanovic J, Vecchioni A, Pastorino R, Boccia S. Systematic review and Meta-analysis of SNPs from genome-wide association studies of head and neck Cancer. Otolaryngology–Head and Neck Surgery. 2018;159(4):615-24.
179. Lacko M, Braakhuis BJ, Sturgis EM, Boedeker CC, Suárez C, Rinaldo A, et al. Genetic susceptibility to head and neck squamous cell carcinoma. International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics. 2014;89(1):38-48.
180. Yu MC YJ. Nasopharyngeal Cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni Jr JF, editors. Cancer epidemiology and prevention: Oxford University Press; 2006. p. 620-6.
181. Luce D, Leclerc A, Bégin D, Demers PA, Gérin M, Orlowski E, et al. Sinonasal cancer and occupational exposures: a pooled analysis of 12 case–control studies. Cancer causes & control. 2002;13(2):147-57.
182. Rafferty M, Fenton J, Jones A. The history, aetiology and epidemiology of laryngeal carcinoma. Clinical Otolaryngology & Allied Sciences. 2001;26(6):442-6.
183. Muscat JE, Wynder EL. Tobacco, alcohol, asbestos, and occupational risk factors for laryngeal cancer. Cancer. 1992;69(9):2244-51.
184. Boffetta P, Richiardi L, Berrino F, Estéve J, Pisani P, Crosignani P, et al. Occupation and larynx and hypopharynx cancer: an international case–control study in France, Italy, Spain, and Switzerland. Cancer Causes & Control. 2003;14(3):203-12.
185. Bosetti C, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Levi F, Dal Maso L, et al. Food groups and laryngeal cancer risk: A case-control study from Italy and Switzerland. International journal of cancer. 2002;100(3):355-60.
186. Winn DM, Ziegler RG, Pickle LW, Gridley G, Blot WJ, Hoover RN. Diet in the etiology of oral and pharyngeal cancer among women from the southern United States. Cancer research. 1984;44(3):1216-22.

187. Boeing H, Dietrich T, Hoffmann K, Pischon T, Ferrari P, Lahmann PH, et al. Intake of fruits and vegetables and risk of cancer of the upper aero-digestive tract: the prospective EPIC-study. Cancer causes & control. 2006;17(7):957-69.
188. Freedman ND, Park Y, Subar AF, Hollenbeck AR, Leitzmann MF, Schatzkin A, et al. Fruit and vegetable intake and head and neck cancer risk in a large United States prospective cohort study. International journal of cancer. 2008;122(10):2330-6.
189. Ron E. Ionizing radiation and cancer risk: evidence from epidemiology. Radiation research. 1998;150(5s):S30-S41.
190. Preston-Martin S, Thomas DC, White SC, Cohen D. Prior exposure to medical and dental x-rays related to tumors of the parotid gland1. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 1988;80(12):943-9.
191. Horn-Ross PL, Ljung B-M, Morrow M. Environmental factors and the risk of salivary gland cancer. Epidemiology. 1997:414-9.
192. Kawakita D, Oze I, Iwasaki S, Matsuda T, Matsuo K, Ito H. Trends in the incidence of head and neck cancer by subsite between 1993 and 2015 in Japan. Cancer medicine. 2022;11(6):1553-60.
193. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. CA Cancer J Clin. 2021;71(1):7-33.
194. TC.SağlıkBakanlığıHalkSağlığıGenelMüdürlüğü. [Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2017.pdf.
195. Organization WH. Global Health Observatory [Available from: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nmsc=0&include_nmsc_other=1.
196. Alibek K, Baiken Y, Kakpenova A, Mussabekova A, Zhussupbekova S, Akan M, et al. Implication of human herpesviruses in oncogenesis through immune evasion and supression. Infectious agents and cancer. 2014;9(1):1-8.
197. Jensen K, Patel A, Larin A, Hoperia V, Saji M, Bauer A, et al. Human herpes simplex viruses in benign and malignant thyroid tumours. The Journal of pathology. 2010;221(2):193-200.
198. Thomas F, Elguero E, Brodeur J, Le Goff J, Missé D. Herpes simplex virus type 2 and cancer: a medical geography approach. Infection, Genetics and Evolution. 2011;11(6):1239-42.
199. Haverkos H, Rohrer M, Pickworth W. The cause of invasive cervical cancer could be multifactorial. Biomedicine & pharmacotherapy. 2000;54(1):54-9.
200. Jalouli J, Ibrahim SO, Sapkota D, Jalouli MM, Vasstrand EN, Hirsch JM, et al. Presence of human papilloma virus, herpes simplex virus and Epstein–Barr virus DNA in oral biopsies from Sudanese patients with regard to toombak use. Journal of oral pathology & medicine. 2010;39(8):599-604.
201. Sloan DD, Jerome KR. Herpes simplex virus remodels T-cell receptor signaling, resulting in p38-dependent selective synthesis of interleukin-10. Journal of virology. 2007;81(22):12504-14.
202. Ahmed S, Jafarey N. Association of herpes simplex virus type-I and human papilloma virus with carcinoma of the oral cavity and oropharynx. Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer. 1995;14(3-4):193-6.
203. Schildt E, Eriksson M, Hardell L, Magnuson A. Oral infections and dental factors in relation to oral cancer: a Swedish case-control study. European journal of cancer prevention. 1998:201-6.

204. Starr JR, Daling JR, Fitzgibbons ED, Madeleine MM, Ashley R, Galloway DA, et al. Serologic evidence of herpes simplex virus 1 infection and oropharyngeal cancer risk. Cancer research. 2001;61(23):8459-64.
205. Larsson PA, Edström S, Westin T, Nordkvist A, Hirsch J, Vahlne A. Reactivity against herpes simplex virus in patients with head and neck cancer. International journal of cancer. 1991;49(1):14-8.
206. Parker TM, Smith EM, Ritchie JM, Haugen TH, Vonka V, Turek LP, et al. Head and neck cancer associated with herpes simplex virus 1 and 2 and other risk factors. Oral oncology. 2006;42(3):288-96.
207. Stich J, Li K, Chun Y-S, Weiss R, Park N-H. Effect of smokeless tobacco on the replication of herpes simplex virus in vitro and on production of viral lesions in hamster cheek pouch. Archives of Oral Biology. 1987;32(4):291-6.
208. Hirsch JM, Johansson SL, Vahlne A. Effect of snuff and herpes simplex virus-1 on rat oral mucosa: possible associations with the development of squamous cell carcinoma. Journal of Oral Pathology & Medicine. 1984;13(1):52-62.
209. Larsson PA, Johansson SL, Vahine A, Hirsch JM. Snuff tumorigenesis: effects of long-term snuff administration after initiation with 4-nitroquinoline-N-oxide and herpes simplex virus type 1. Journal of Oral Pathology & Medicine. 1989;18(4):187-92.
210. Yang Y-Y, Koh L-W, Tsai J-H, Tsai C-H, Wong EF-C, Lin S-J, et al. Involvement of viral and chemical factors with oral cancer in Taiwan. Japanese journal of clinical oncology. 2004;34(4):176-83.
211. Al Moustafa A-E, Chen D, Ghabreau L, Akil N. Association between human papillomavirus and Epstein-Barr virus infections in human oral carcinogenesis. Medical hypotheses. 2009;73(2):184-6.
212. Jalouli J, Ibrahim SO, Mehrotra R, Jalouli MM, Sapkota D, Larsson P-A, et al. Prevalence of viral (HPV, EBV, HSV) infections in oral submucous fibrosis and oral cancer from India. Acta oto-laryngologica. 2010;130(11):1306-11.
213. Shillitoe EJ, Greenspan D, Greenspan JS, Silverman Jr S. Five-year survival of patients with oral cancer and its association with antibody to herpes simplex virus. Cancer. 1986;58(10):2256-9.
214. Fey SJ, Larsen PM. DNA viruses and human cancer. Cancer letters. 1988;41(1):1-19.
215. Arvin A. Aging, immunity, and the varicella–zoster virus. New England Journal of Medicine. 2005;352(22):2266-7.
216. Lagos D, Boshoff C. Immunobiology and host response to KSHV infection. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, et al., editors. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Cambridge: Cambridge University Press

2007.
217. Arvin AM, Sharp M, Moir M, Kinchington PR, Sadeghi-Zadeh M, Ruyechan WT, et al. Memory cytotoxic T cell responses to viral tegument and regulatory proteins encoded by open reading frames 4, 10, 29, and 62 of varicella-zoster virus. Viral immunology. 2002;15(3):507-16.
218. Hood C, Cunningham AL, Slobedman B, Arvin AM, Sommer MH, Kinchington PR, et al. Varicella-zoster virus ORF63 inhibits apoptosis of primary human neurons. Journal of virology. 2006;80(2):1025-31.
219. Ambagala AP, Cohen JI. Varicella-Zoster virus IE63, a major viral latency protein, is required to inhibit the alpha interferon-induced antiviral response. Journal of virology. 2007;81(15):7844-51.
220. Gilden D, Nagel MA, Cohrs RJ. Persistence of varicella zoster virus DNA in saliva after herpes zoster. Journal of Infectious Diseases. 2012;205(7):1178-.

221. Smith JB, Fenske NA. Herpes zoster and internal malignancy. Southern medical journal. 1995;88(11):1089-92.
222. Anderson LA, Landgren O, Engels EA. Common community acquired infections and subsequent risk of chronic lymphocytic leukaemia. British journal of haematology. 2009;147(4):444-9.
223. Doody MM, Linet MS, Glass AG, Friedman GD, Pottern LM, Boice JD, et al. Leukemia, lymphoma, and multiple myeloma following selected medical conditions. Cancer Causes & Control. 1992;3(5):449-56.
224. Buntinx F, Wachana R, Bartholomeeusen S, Sweldens K, Geys H. Is herpes zoster a marker for occult or subsequent malignancy? British Journal of General Practice. 2005;55(511):102-7.
225. Wang Y-P, Liu C-J, Hu Y-W, Chen T-J, Lin Y-T, Fung C-P. Risk of cancer among patients with herpes zoster infection: a population-based study. Cmaj. 2012;184(15):E804-E9.
226. Evans AS. The spectrum of infections with Epstein-Barr virus: a hypothesis. The Journal of Infectious Diseases. 1971;124(3):330-7.
227. Williams H, Crawford DH. Epstein-Barr virus: the impact of scientific advances on clinical practice. Blood. 2006;107(3):862-9.
228. Borza CM, Hutt-Fletcher LM. Alternate replication in B cells and epithelial cells switches tropism of Epstein–Barr virus. Nature medicine. 2002;8(6):594-9.
229. Prabhu SR, Wilson DF. Evidence of Epstein-Barr virus association with head and neck cancers: a review. J Can Dent Assoc. 2016;82(g2):1488-2159.
230. Hutt-Fletcher LM. Epstein-Barr virus entry. Journal of virology. 2007;81(15):7825-32.
231. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. The Lancet. 1964;283(7335):702-3.
232. Kutok J, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus–associated diseases. Annu Rev Pathol Mech Dis. 2006;1:375-404.
233. Wang D, Liebowitz D, Kieff E. An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells. Cell. 1985;43(3):831-40.
234. Lucas KG, Salzman D, Garcia A, Sun Q. Adoptive immunotherapy with allogeneic Epstein–Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T-lymphocytes for recurrent, EBV-positive Hodgkin disease. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. 2004;100(9):1892-901.
235. Jarrett R, Krajewski A, Angus B, Freeland J, Taylor P, Taylor G, et al. The Scotland and Newcastle epidemiological study of Hodgkin's disease: impact of histopathological review and EBV status on incidence estimates. Journal of clinical pathology. 2003;56(11):811-6.
236. Mosialos G, Birkenbacht M, Yalamanchill R, Van Arsdale T, Ware C, Kleff E. The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. Cell. 1995;80(3):389-99.
237. Miller WE, Cheshire JL, Baldwin AS, Raab-Traub N. The NPC derived C15 LMP1 protein confers enhanced activation of NF-κB and induction of the EGFR in epithelial cells. Oncogene. 1998;16(14):1869-77.
238. Eliopoulos AG, Young LS. Activation of the cJun N-terminal kinase (JNK) pathway by the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 (LMP1). Oncogene. 1998;16(13):1731-42.
239. Eliopoulos AG, Gallagher NJ, Blake SM, Dawson CW, Young LS. Activation of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway by Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 coregulates interleukin-6 and interleukin-8 production. Journal of Biological Chemistry. 1999;274(23):16085-96.
240. Zhang L, Pagano JS. Interferon regulatory factor 7 is induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1. Journal of virology. 2000;74(3):1061-8.

241. Caldwell RG, Wilson JB, Anderson SJ, Longnecker R. Epstein-Barr virus LMP2A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. Immunity. 1998;9(3):405-11.
242. Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. Annu Rev Pathol. 2006;1:375-404.
243. Saha A, Robertson ES. Mechanisms of B-cell oncogenesis induced by Epstein-Barr virus. Journal of Virology. 2019;93(13):e00238-19.
244. Herling M, Rassidakis GZ, Medeiros LJ, Vassilakopoulos TP, Kliche K-O, Nadali G, et al. Expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's lymphoma: associations with presenting features, serum interleukin 10 levels, and clinical outcome. Clinical cancer research. 2003;9(6):2114-20.
245. Levine PH, Ablashi DV, Berard CW, Carbone PP, Waggoner DE, Malan L. Elevated antibody titers to Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease. Cancer. 1971;27(2):416-21.
246. Young LS, Rickinson AB. Epstein–Barr virus: 40 years on. Nature Reviews Cancer. 2004;4(10):757-68.
247. Heslop HE. Biology and treatment of Epstein-Barr virus–associated non-Hodgkin lymphomas. ASH Education Program Book. 2005;2005(1):260-6.
248. Boulter A, Johnson N, Birnbaum W, Teo C. Epstein-Barr virus (EBV) associated lesions of the head and neck. Oral diseases. 1996;2(2):117-24.
249. Niedobitek G, Meru N, Delecluse HJ. Epstein-Barr virus infection and human malignancies. International journal of experimental pathology. 2001;82(3):149-70.
250. Baumforth K, Young L, Flavell K, Constandinou C, Murray P. The Epstein-Barr virus and its association with human cancers. Molecular pathology. 1999;52(6):307.
251. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. International journal of cancer. 2006;118(12):3030-44.
252. Bae J-M, Kim EH. Epstein-Barr virus and gastric cancer risk: a meta-analysis with meta-regression of case-control studies. Journal of Preventive Medicine and Public Health. 2016;49(2):97.
253. Chong JM, Sakuma K, Sudo M, Ushiku T, Uozaki H, Shibahara J, et al. Global and non-random CpG-island methylation in gastric carcinoma associated with Epstein-Barr virus. Cancer science. 2003;94(1):76-80.
254. Chang M-S, Uozaki H, Chong J-M, Ushiku T, Sakuma K, Ishikawa S, et al. CpG island methylation status in gastric carcinoma with and without infection of Epstein-Barr virus. Clinical Cancer Research. 2006;12(10):2995-3002.
255. Maeda E, Akahane M, Kiryu S, Kato N, Yoshikawa T, Hayashi N, et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-related diseases: a pictorial review. Japanese journal of radiology. 2009;27(1):4-19.
256. Prabhu SR, Wilson DF. EVIDENCE OF EPSTEIN-BARR VIRUS ASSOCIATION WITH HEAD AND NECK CANCERS: A REVIEW. J Can Dent Assoc. 2016;82:g2.
257. Polz-Gruszka D, Stec A, Dworzański J, Polz-Dacewicz M. EBV, HSV, CMV and HPV in laryngeal and oropharyngeal carcinoma in Polish patients. Anticancer Res. 2015;35(3):1657-61.
258. Prabhu SR, Wilson DF. Human papillomavirus and oral disease - emerging evidence: a review. Aust Dent J. 2013;58(1):2-10; quiz 125.
259. Shannon-Lowe C, Rickinson A. The Global Landscape of EBV-Associated Tumors. Front Oncol. 2019;9:713.
260. Pathmanathan R, Prasad U, Sadler R, Flynn K, Raab-Traub N. Clonal proliferations of cells infected with Epstein-Barr virus in preinvasive lesions related to nasopharyngeal carcinoma. N Engl J Med. 1995;333(11):693-8.
261. Kwong J, Lo K-W, To K-F, Teo PM, Johnson PJ, Huang DP. Promoter hypermethylation of multiple genes in nasopharyngeal carcinoma. Clinical Cancer Research. 2002;8(1):131-7.

262. Cancer IAfRo. Evaluation of carcinogenic risks to humans. Silica, some silicates, coal dust, and para-aramid fibrils. 1997;68.
263. Alibek K, Kakpenova A, Baiken Y. Role of infectious agents in the carcinogenesis of brain and head and neck cancers. Infectious agents and cancer. 2013;8(1):1-9.
264. Shinokuma A, Hirakawa N, Tamiya S, Oda Y, Komiyama S, Tsuneyoshi M. Evaluation of Epstein-Barr virus infection in sinonasal small round cell tumors. Journal of cancer research and clinical oncology. 2000;126(1):12-8.
265. Sousa H, Pinto-Correia AL, Medeiros R, Dinis-Ribeiro M. Epstein-Barr virus is associated with gastric carcinoma: the question is what is the significance? World journal of gastroenterology: WJG. 2008;14(27):4347.
266. Guidry JT, Birdwell CE, Scott RS. Epstein–Barr virus in the pathogenesis of oral cancers. Oral diseases. 2018;24(4):497-508.
267. Dziurzynski K, Chang SM, Heimberger AB, Kalejta RF, McGregor Dallas SR, Smit M, et al. Consensus on the role of human cytomegalovirus in glioblastoma. Neuro-oncology. 2012;14(3):246-55.
268. Cinatl J, Scholz M, Kotchetkov R, Vogel J-U, Doerr HW. Molecular mechanisms of the modulatory effects of HCMV infection in tumor cell biology. Trends in molecular medicine. 2004;10(1):19-23.
269. Sinclair J. Human cytomegalovirus: Latency and reactivation in the myeloid lineage. Journal of clinical virology. 2008;41(3):180-5.
270. Söderberg-Nauclér C. HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer. Journal of clinical virology. 2008;41(3):218-23.
271. Gredmark-Russ S, Söderberg-Nauclér C. Dendritic cell biology in human cytomegalovirus infection and the clinical consequences for host immunity and pathology. Virulence. 2012;3(7):621-34.
272. McSharry BP, Avdic S, Slobedman B. Human cytomegalovirus encoded homologs of cytokines, chemokines and their receptors: roles in immunomodulation. Viruses. 2012;4(11):2448-70.
273. Geder L, Lausch R, O'Neill F, Rapp F. Oncogenic transformation of human embryo lung cells by human cytomegalovirus. Science. 1976;192(4244):1134-7.
274. Michaelis M, Doerr HW, Cinatl Jr J. The story of human cytomegalovirus and cancer: increasing evidence and open questions. Neoplasia. 2009;11(1):1-9.
275. Cinatl Jr J, Vogel J-U, Kotchetkov R, Wilhelm Doerr H. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression. FEMS microbiology reviews. 2004;28(1):59-77.
276. Boldogh I, Huang E-S, Rady P, Arany I, Tyring S, Albrecht T. Alteration in the coding potential and expression of H-ras in human cytomegalovirus-transformed cells. Intervirology. 1994;37(6):321-9.
277. Shen Y, Zhu H, Shenk T. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins are mutagenic and mediate “hit-and-run” oncogenic transformation in cooperation with the adenovirus E1A proteins. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1997;94(7):3341-5.
278. Doniger J, Muralidhar S, Rosenthal LJ. Human cytomegalovirus and human herpesvirus 6 genes that transform and transactivate. Clinical microbiology reviews. 1999;12(3):367-82.
279. Mitchell DA, Xie W, Schmittling R, Learn C, Friedman A, McLendon RE, et al. Sensitive detection of human cytomegalovirus in tumors and peripheral blood of patients diagnosed with glioblastoma. Neuro-oncology. 2008;10(1):10-8.
280. Harkins L, Volk AL, Samanta M, Mikolaenko I, Britt WJ, Bland KI, et al. Specific localisation of human cytomegalovirus nucleic acids and proteins in human colorectal cancer. The Lancet. 2002;360(9345):1557-63.
281. Cobbs CS, Harkins L, Samanta M, Gillespie GY, Bharara S, King PH, et al. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. Cancer research. 2002;62(12):3347-50.

282. Samanta M, Harkins L, Klemm K, Britt WJ, Cobbs CS. High prevalence of human cytomegalovirus in prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. The Journal of urology. 2003;170(3):998-1002.
283. Prins RM, Cloughesy TF, Liau LM. Cytomegalovirus immunity after vaccination with autologous glioblastoma lysate. New England Journal of Medicine. 2008;359(5):539-41.
284. Scheurer ME, Bondy ML, Aldape KD, Albrecht T, El-Zein R. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas. Acta neuropathologica. 2008;116(1):79-86.
285. Dockrell D. Human herpesvirus 6: molecular biology and clinical features. Journal of medical microbiology. 2003;52(1):5-18.
286. Miyake F, Yoshikawa T, Sun H, Kakimi A, Ohashi M, Akimoto S, et al. Latent infection of human herpesvirus 7 in CD4+ T lymphocytes. Journal of medical virology. 2006;78(1):112-6.
287. Reynaud JM, Horvat B. Animal models for human herpesvirus 6 infection. Frontiers in microbiology. 2013;4:174.
288. Zou P, Isegawa Y, Nakano K, Haque M, Horiguchi Y, Yamanishi K. Human herpesvirus 6 open reading frame U83 encodes a functional chemokine. Journal of Virology. 1999;73(7):5926-33.
289. Santoro F, Kennedy PE, Locatelli G, Malnati MS, Berger EA, Lusso P. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6. Cell. 1999;99(7):817-27.
290. Smith A, Santoro F, Di Lullo G, Dagna L, Verani A, Lusso P. Selective suppression of IL-12 production by human herpesvirus 6. Blood. 2003;102(8):2877-84.
291. Kakimoto M, Hasegawa A, Fujita S, Yasukawa M. Phenotypic and functional alterations of dendritic cells induced by human herpesvirus 6 infection. Journal of virology. 2002;76(20):10338-45.
292. Arena A, Liberto M, Iannello D, Capozza A, Foca A. Altered cytokine production after human herpes virus type 6 infection. The new microbiologica. 1999;22(4):293-300.
293. Ojima T, Abe K, Ohyashiki JH, Shirakata M, Yamamoto K. IL-2-regulated persistent human herpesvirus-6B infection facilitates growth of adult T cell leukemia cells. Journal of medical and dental sciences. 2005;52(2):135-41.
294. Krueger G, Wassermann K, De Clerck L, Stevens W, Bourgeois N, Ablashi D, et al. Latent herpesvirus-6 in salivary and bronchial glands. The Lancet. 1990;336(8725):1255-6.
295. Kennedy R, Celis E. T helper lymphocytes rescue CTL from activation-induced cell death. The Journal of immunology. 2006;177(5):2862-72.
296. Eliassen E, Lum E, Pritchett J, Ongradi J, Krueger G, Crawford J. Human Herpesvirus 6 and malignancy: a review. Front Oncol. 2018; 8: 512. 2018.
297. Li L, Gu B, Zhou F, Chi J, Wang F, Liu G, et al. Human herpesvirus 6A infects human embryonic fibroblasts and induces G2/M arrest and cell death. Journal of medical virology. 2012;84(4):657-63.
298. Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF, Agut H, Caserta MT, Descamps V, et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers. Reviews in medical virology. 2012;22(3):144-55.
299. Amirian ES, Scheurer ME. Chromosomally-integrated human herpesvirus 6 in familial glioma etiology. Medical Hypotheses. 2012;79(2):193-6.
300. Arbuckle JH, Medveczky MM, Luka J, Hadley SH, Luegmayr A, Ablashi D, et al. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010;107(12):5563-8.
301. Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, et al. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. Clinical Infectious Diseases. 2014;59(4):545-8.

302. Huang Y, Hidalgo-Bravo A, Zhang E, Cotton VE, Mendez-Bermudez A, Wig G, et al. Human telomeres that carry an integrated copy of human herpesvirus 6 are often short and unstable, facilitating release of the viral genome from the chromosome. Nucleic acids research. 2014;42(1):315-27.
303. Yamaguchi H, Calado RT, Ly H, Kajigaya S, Baerlocher GM, Chanock SJ, et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. New England Journal of Medicine. 2005;352(14):1413-24.
304. Politikos I, McMasters M, Bryke C, Avigan D, Boussiotis VA. Possible reactivation of chromosomally integrated human herpesvirus 6 after treatment with histone deacetylase inhibitor. Blood Advances. 2018;2(12):1367.
305. Bonnafous P, Marlet J, Bouvet D, Salamé E, Tellier AC, Guyetant S, et al. Fatal outcome after reactivation of inherited chromosomally integrated HHV-6A (iciHHV-6A) transmitted through liver transplantation. Am J Transplant. 2018;18(6):1548-51.
306. Flamand L, Lautenschlager I, Krueger G, Ablashi DV. Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B and HHV-7: Diagnosis and Clinical Management: Elsevier; 2014.
307. Yadav M, Arivananthan M, Chandrashekran A, Tan BS, Hashim BY. Human herpesvirus-6 (HHV-6) DNA and virus-encoded antigen in oral lesions. Journal of oral pathology & medicine. 1997;26(9):393-401.
308. Saravani S, Miri-Moghaddam E, Sanadgol N, Kadeh H, Nazeri MR. Human herpesvirus-6 and Epstein–Barr virus infections at different histopathological grades of oral squamous cell carcinomas. International journal of preventive medicine. 2014;5(10):1231.
309. Dewhurst S, Skrincosky D, van Loon N. Human herpesvirus 6. Expert reviews in molecular medicine. 1997;1(1):1-17.
310. Kempf W, Adams V, Mirandola P, Menotti L, Di Luca D, Wey N, et al. Persistence of human herpesvirus 7 in normal tissues detected by expression of a structural antigen. Journal of Infectious Diseases. 1998;178(3):841-5.
311. Mirandola P, Secchiero P, Pierpaoli S, Visani G, Zamai L, Vitale M, et al. Infection of CD34+ hematopoietic progenitor cells by human herpesvirus 7 (HHV-7). Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2000;96(1):126-31.
312. Secchiero P, Bertolaso L, Casareto L, Gibellini D, Vitale M, Bemis K, et al. Human herpesvirus 7 infection induces profound cell cycle perturbations coupled to disregulation of cdc2 and cyclin B and polyploidization of CD4+ T cells. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 1998;92(5):1685-96.
313. Chi J, Gu B, Zhang C, Peng G, Zhou F, Chen Y, et al. Human herpesvirus 6 latent infection in patients with glioma. The Journal of infectious diseases. 2012;206(9):1394-8.
314. Reynaud JM, Horvat B. Human herpesvirus 6 and neuroinflammation. International Scholarly Research Notices. 2013;2013.
315. Loutfy SA, Fawzy M, El-Wakil M, Moneer MM. Presence of human herpes virus 6 (HHV6) in pediatric lymphomas: impact on clinical course and association with cytomegalovirus infection. Virology journal. 2010;7(1):1-9.
316. Seror E, Coquerel B, Gautheret-Dejean A, Ballerini P, Landman-Parker J, Leverger G, et al. Quantitation of Human herpes virus 6 genome in children with acute lymphoblastic leukemia. Journal of medical virology. 2008;80(4):689-93.
317. Leite JL, Stolf HO, Reis NÁ, Ward LS. Human herpesvirus type 6 and type 1 infection increases susceptibility to nonmelanoma skin tumors. Cancer letters. 2005;224(2):213-9.
318. Fox JD, Briggs M, Ward P, Tedder R. Human herpesvirus 6 in salivary glands. The Lancet. 1990;336(8715):590-3.
319. Cone R, Huang M, Ashley R, Corey L. Human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals. Journal of Clinical Microbiology. 1993;31(5):1262-7.
320. Harnett G, Farr T, Pietroboni G, Bucens M. Frequent shedding of human herpesvirus 6 in saliva. Journal of medical virology. 1990;30(2):128-30.

321. Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-sssociated kaposi's sarcoma. Science. 1994;266(5192):1865-9.
322. Cesarman E, Chang Y, Moore PS, Said JW, Knowles DM. Kaposi's sarcoma–associated herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-related body-cavity–based lymphomas. New England Journal of Medicine. 1995;332(18):1186-91.
323. McHugh D, Caduff N, Barros MHM, Rämer PC, Raykova A, Murer A, et al. Persistent KSHV infection increases EBV-associated tumor formation in vivo via enhanced EBV lytic gene expression. Cell host & microbe. 2017;22(1):61-73. e7.
324. Chabay P, Lens D, Hassan R, Rodríguez Pinilla SM, Valvert Gamboa F, Rivera I, et al. Lymphotropic viruses EBV, KSHV and HTLV in Latin America: Epidemiology and associated malignancies. A literature-based study by the RIAL-CYTED. Cancers. 2020;12(8):2166.
325. Münz C. The role of dendritic cells in immune control and vaccination against γ-herpesviruses. Viruses. 2019;11(12):1125.
326. Ramírez-Amador V, Anaya-Saavedra G, Martínez-Mata G. Kaposi's sarcoma of the head and neck: a review. Oral oncology. 2010;46(3):135-45.
327. Hahn AS, Kaufmann JK, Wies E, Naschberger E, Panteleev-Ivlev J, Schmidt K, et al. The ephrin receptor tyrosine kinase A2 is a cellular receptor for Kaposi's sarcoma–associated herpesvirus. Nature medicine. 2012;18(6):961-6.
328. Sakurada S, Katano H, Sata T, Ohkuni H, Watanabe T, Mori S. Effective human herpesvirus 8 infection of human umbilical vein endothelial cells by cell-mediated transmission. Journal of Virology. 2001;75(16):7717-22.
329. Lee H-R, Brulois K, Wong L, Jung JU. Modulation of immune system by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: lessons from viral evasion strategies. Frontiers in microbiology. 2012;3:44.
330. Rezaee SR, Cunningham C, Davison AJ, Blackbourn DJ. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus immune modulation: an overview. Journal of General Virology. 2006;87(7):1781-804.
331. Dupuy S, Lambert M, Zucman D, Choukem S-P, Tognarelli S, Pages C, et al. Human Herpesvirus 8 (HHV8) sequentially shapes the NK cell repertoire during the course of asymptomatic infection and Kaposi sarcoma. PLoS pathogens. 2012;8(1):e1002486.
332. Cirone M, Lucania G, Bergamo P, Trivedi P, Frati L, Faggioni A. Human herpesvirus 8 (HHV-8) inhibits monocyte differentiation into dendritic cells and impairs their immunostimulatory activity. Immunology letters. 2007;113(1):40-6.
333. Aresté C, Blackbourn DJ. Modulation of the immune system by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. Trends in microbiology. 2009;17(3):119-29.
334. Wang M, Gu B, Chen X, Wang Y, Li P, Wang K. The function and therapeutic potential of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs in cancer. Molecular Therapy-Nucleic Acids. 2019;17:657-68.
335. Pagano JS, Blaser M, Buendia M-A, Damania B, Khalili K, Raab-Traub N, et al., editors. Infectious agents and cancer: criteria for a causal relation. Seminars in cancer biology; 2004: Elsevier.
336. Aoki Y, Jaffe ES, Chang Y, Jones K, Teruya-Feldstein J, Moore PS, et al. Angiogenesis and Hematopoiesis Induced by Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus-Encoded Interleukin-6: Presented in part at the 40th Annual American Society of Hematology Meeting, December 7, 1998 (Miami Beach, FL). Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 1999;93(12):4034-43.
337. Mark L, Lee WH, Spiller OB, Proctor D, Blackbourn DJ, Villoutreix BO, et al. The Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus complement control protein mimics human molecular mechanisms for inhibition of the complement system. Journal of Biological Chemistry. 2004;279(43):45093-101.

338. Cai Q, Verma SC, Lu J, Robertson ES. Molecular biology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus and related oncogenesis. Advances in virus research. 2010;78:87-142.
339. Ballestas ME, Chatis PA, Kaye KM. Efficient persistence of extrachromosomal KSHV DNA mediated by latency-associated nuclear antigen. Science. 1999;284(5414):641-4.
340. Fujimuro M, Wu FY, Aprhys C, Kajumbula H, Young DB, Hayward GS, et al. A novel viral mechanism for dysregulation of β-catenin in Kaposi's sarcoma–associated herpesvirus latency. Nature medicine. 2003;9(3):300-6.
341. Kamiyango W, Villiera J, Silverstein A, Peckham-Gregory E, Campbell LR, El-Mallawany NK. Navigating the heterogeneous landscape of pediatric Kaposi sarcoma. Cancer and Metastasis Reviews. 2019;38(4):749-58.
342. Nador RG, Cesarman E, Chadburn A, Dawson DB, Ansari MQ, Sald J, et al. Primary effusion lymphoma: a distinct clinicopathologic entity associated with the Kaposi's sarcoma-associated herpes virus. 1996.
343. Suda T, Katano H, Delsol G, Kakiuchi C, Nakamura T, Shiota M, et al. HHV-8 infection status of AIDS-unrelated and AIDS-associated multicentric Castleman's disease. Pathology international. 2001;51(9):671-9.
344. Katano H. Pathological features of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection. Human herpesviruses. 2018:357-76.
345. Oksenhendler E, Boulanger E, Galicier L, Du M-Q, Dupin N, Diss TC, et al. High incidence of Kaposi sarcoma–associated herpesvirus–related non-Hodgkin lymphoma in patients with HIV infection and multicentric Castleman disease. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2002;99(7):2331-6.
346. Du M-Q, Diss TC, Liu H, Ye H, Hamoudi RA, Cabeçadas J, et al. KSHV-and EBV-associated germinotropic lymphoproliferative disorder. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2002;100(9):3415-8.
347. Gonzalez-Farre B, Martinez D, Lopez-Guerra M, Xipell M, Monclus E, Rovira J, et al. HHV8-related lymphoid proliferations: a broad spectrum of lesions from reactive lymphoid hyperplasia to overt lymphoma. Modern Pathology. 2017;30(5):745-60.
348. Moore PS, Chang Y. Kaposi's sarcoma (KS), KS-associated herpesvirus, and the criteria for causality in the age of molecular biology. American journal of epidemiology. 1998;147(3):217-21.
349. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer C, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. Journal of clinical pathology. 2002;55(4):244-65.
350. Vieira J, Huang M-L, Koelle DM, Corey L. Transmissible Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in saliva of men with a history of Kaposi's sarcoma. Journal of virology. 1997;71(9):7083-7.
351. Matsushima Y, Shimizu T, Doi I, Mizukoshi F, Nagasawa K, Ryo A, et al. A method for detecting rash and fever illness-associated viruses using multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. Microbiology and immunology. 2017;61(8):337-44.
352. Machado PRL, Farias KJS, Pereira MGM, Freitas PPdSd, Fonseca BALd. Human herpesvirus 8 (HHV-8) detected by nested polymerase chain reaction (PCR) in HIV patients with or without Kaposi's sarcoma. An analytic cross-sectional study. Sao Paulo Medical Journal. 2015;134:187-92.
353. Shillitoe E, Silverman Jr S. Oral cancer and herpes simplex virus—a review. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology. 1979;48(3):216-24.
354. Eglin R, Scully C, Lehner T, Ward-Booth P, McGregor I. Detection of RNA complementary to herpes simplex virus in human oral squamous cell carcinoma. The Lancet. 1983;322(8353):766-8.
355. Meurman JH. Infectious and dietary risk factors of oral cancer. Oral oncology. 2010;46(6):411-3.

356. Jain M. Assesment of correlation of herpes simplex virus-1 with oral cancer and precancer-a comparative study. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. 2016;10(8):ZC14.
357. Dayyani F, Tavakolian S, Goudarzi H, Biucki FY, Faghihloo E. Prevalence of HSV, Varicella-Zoster, CMV, EBV and HPV in the oral cavity and the larynx carcinoma in Iran. Future Virology. 2021;16(2):141-51.
358. Pou AM, Vrabec JT, Jordan J, Wilson D, Wang S, Payne D. Prevalence of herpes simplex virus in malignant laryngeal lesions. The Laryngoscope. 2000;110(2):194-.
359. Dabouian A, Tabibzadeh A, Salimi-Jeda A, Torkashvand S, Panahi M, Tameshkel FS, et al. The Molecular Epidemiology of Herpes Simplex Virus Type 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2) in Head and Neck Cancer (HNC). International Journal of Cancer Management. 2020;13(7).
360. Jalouli M-M, Jalouli J, Hasséus B, Öhman J, Hirsch J-M, Sand L. Nested PCR for detection of HSV-1 in oral mucosa. Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal. 2015;20(6):e664.
361. Ragozzino MW, Melton III LJ, Kurland LT, Chu CP, Perry HO. Risk of cancer after herpes zoster: a population-based study. New England Journal of Medicine. 1982;307(7):393-7.
362. Fueyo MA, Lookingbill DP. Herpes zoster and occult malignancy. Journal of the American Academy of Dermatology. 1984;11(3):480-2.
363. Harpaz R, Ortega-Sanchez IR, Seward JF. Prevention of herpes zoster: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Morbidity and Mortality Weekly Report: Recommendations and Reports. 2008;57(5):1-30.
364. Schmader K. Herpes zoster in older adults. Clinical infectious diseases. 2001:1481-6.
365. Weinberg A, Lazar AA, Zerbe GO, Hayward AR, Chan IS, Vessey R, et al. Influence of age and nature of primary infection on varicella-zoster virus—specific cell-mediated immune responses. The Journal of infectious diseases. 2010;201(7):1024-30.
366. Kawai K, Gebremeskel B, Acosta C. Systematic review of incidence and complications of herpes zoster: towards a global perspective. BMJ Open 2014; 4: e004833.
367. Burke BL, Steele RW, Beard OW, Wood JS, Cain TD, Marmer DJ. Immune responses to varicella-zoster in the aged. Archives of Internal Medicine. 1982;142(2):291-3.
368. Patel MS, Gebremariam A, Davis MM. Herpes zoster–related hospitalizations and expenditures before and after introduction of the Varicella Vaccine in the United States. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2008;29(12):1157-63.
369. Wehrhahn M, Dwyer D. Herpes zoster: epidemiology, clinical features, treatment and prevention. Australian Prescriber. 2012;35(5).
370. Thompson MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer. Clinical cancer research. 2004;10(3):803-21.
371. Javier RT, Butel JS. The history of tumor virology. Cancer research. 2008;68(19):7693-706.
372. Shannon-Lowe C, Rickinson A. The global landscape of EBV-associated tumors. Frontiers in oncology. 2019:713.
373. Prabhu S, Wilson D. Human papillomavirus and oral disease–emerging evidence: a review. Australian dental journal. 2013;58(1):2-10.
374. Sand LP, Jalouli J, Larsson P-A, Hirsch J-M. Prevalence of Epstein-Barr virus in oral squamous cell carcinoma, oral lichen planus, and normal oral mucosa. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 2002;93(5):586-92.
375. Cruz I, Van den Brule A, Steenbergen R, Snijders P, Meijer C, Walboomers J, et al. Prevalence of Epstein—Barr virus in oral squamous cell carcinomas, premalignant lesions and normal mucosa—a study using the polymerase chain reaction. Oral oncology. 1997;33(3):182-8.
376. Higa M, Kinjo T, Kamiyama K, Iwamasa T, Hamada T, Iyama K. Epstein-Barr virus (EBV) subtype in EBV related oral squamous cell carcinoma in Okinawa, a subtropical island

in southern Japan, compared with Kitakyushu and Kumamoto in mainland Japan. Journal of clinical pathology. 2002;55(6):414-23.
377. Kis A, Fehér E, Gáll T, Tar I, Boda R, Tóth ED, et al. Epstein–Barr virus prevalence in oral squamous cell cancer and in potentially malignant oral disorders in an eastern Hungarian population. European journal of oral sciences. 2009;117(5):536-40.
378. Mao EJ, Smith CJ. Detection of Epstein-Barr virus (EBV) DNA by the polymerase chain reaction (PCR) in oral smears from healthy individuals and patients with squamous cell carcinoma. Journal of oral pathology & medicine. 1993;22(1):12-7.
379. Horiuchi K, Mishima K, Ichijima K, Sugimura M, Ishida T, Kirita T. Epstein-Barr virus in the proliferative diseases of squamous epithelium in the oral cavity. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 1995;79(1):57-63.
380. González-Moles M, Gutiérrez J, Ruiz I, Fernández JA, Rodriguez M, Aneiros J. Epstein-Barr virus and oral squamous cell carcinoma in patients without HIV infection: viral detection by polymerase chain reaction. Microbios. 1998;96(383):23-31.
381. Jalouli J, Jalouli MM, Sapkota D, Ibrahim SO, Larsson P-A, Sand L. Human papilloma virus, herpes simplex virus and epstein barr virus in oral squamous cell carcinoma from eight different countries. Anticancer research. 2012;32(2):571-80.
382. Deacon E, Matthews J, Potts A, Hamburger J, Bevan I, Young L. Detection of Epstein–Barr virus antigens and DNA in major and minor salivary glands using immunocytochemistry and polymerase chain reaction: possible relationship with Sjogren's syndrome. The Journal of Pathology. 1991;163(4):351-60.
383. Atula S, Auvinen E, Grenman R, Syrjänen S. Human papillomavirus and Epstein-Barr virus in epithelial carcinomas of the head and neck region. Anticancer research. 1997;17(6D):4427-33.
384. Kobayashi I, Shima K, Saito I, Kiyoshima T, Matsuo K, Ozeki S, et al. Prevalence of Epstein–Barr virus in oral squamous cell carcinoma. The Journal of pathology. 1999;189(1):34-9.
385. Soroceanu L, Cobbs CS. Is HCMV a tumor promoter? Virus research. 2011;157(2):193-203.
386. Melnick M, Sedghizadeh PP, Allen CM, Jaskoll T. Human cytomegalovirus and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: cell-specific localization of active viral and oncogenic signaling proteins is confirmatory of a causal relationship. Experimental and molecular pathology. 2012;92(1):118-25.
387. Baryawno N, Rahbar A, Wolmer-Solberg N, Taher C, Odeberg J, Darabi A, et al. Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target. The Journal of clinical investigation. 2011;121(10):4043-55.
388. Price RL, Bingmer K, Harkins L, Iwenofu OH, Kwon C-H, Cook C, et al. Cytomegalovirus Infection Leads to Pleomorphic Rhabdomyosarcomas in Trp53+/− MiceA Role of Cytomegalovirus in Rhabdomyosarcoma. Cancer research. 2012;72(22):5669-74.
389. Taher C, de Boniface J, Mohammad A-A, Religa P, Hartman J, Yaiw K-C, et al. High prevalence of human cytomegalovirus proteins and nucleic acids in primary breast cancer and metastatic sentinel lymph nodes. PloS one. 2013;8(2):e56795.
390. Wolmer-Solberg N, Baryawno N, Rahbar A, Fuchs D, Odeberg J, Taher C, et al. Frequent detection of human cytomegalovirus in neuroblastoma: a novel therapeutic target? International journal of cancer. 2013;133(10):2351-61.
391. Johnsen JI, Baryawno N, Söderberg-Nauclér C. Is human cytomegalovirus a target in cancer therapy? Oncotarget. 2011;2(12):1329.
392. Lepiller Q, Khan KA, Di Martino V, Herbein G. Cytomegalovirus and tumors: two players for one goal-immune escape. The open virology journal. 2011;5:60.
393. Yang Y-Y, Koh L-W, Tsai J-H, Tsai C-H, Wong E, Lin S-J, et al. Correlation of viral factors with cervical cancer in Taiwan. Journal of microbiology, immunology, and infection= Wei mian yu gan ran za zhi. 2004;37(5):282-7.

394. Delavarian Z, Pakfetrat A, Falaki F, Pazouki M, Pazouki N. The role of viruses in oral squamous cell carcinoma in young patients in Khorasan (Northeast of Iran). J Appl Sci. 2010;10(11):981-5.
395. Wei H, Xiaoming S. Primary study on human papillomavirus type 16 and human cytomegalovirus infections in oral squamous cell carcinoma. J Compr Stomatol. 1996;2(001):001.
396. Saravani S, Kadeh H, Miri-Moghaddam E, Zekri A, Sanadgol N, Gholami A. Human cytomegalovirus in oral squamous cell carcinoma in southeast of Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2015;8(8).
397. Radunovic M, Tomanovic N, Novakovic I, Boricic I, Milenkovic S, Dimitrijevic M, et al. Cytomegalovirus induces Interleukin-6 mediated inflammatory response in salivary gland cancer. J BUON. 2016;21(6):1530-6.
398. Agaimy A, Mudter J, Märkl B, Chetty R. Cytomegalovirus infection presenting as isolated inflammatory polyps of the gastrointestinal tract. Pathology. 2011;43(5):440-6.
399. Park KW, Kim MY, Kim HJ, Kim HK, Suk KT, Chong Y, et al. A case of cytomegalovirus gastritis characterized by polypoid lesions. The Korean Journal of Medicine. 2009;77(5):1115-8.
400. Naber JM, Palmer SM, Howell DN. Cytomegalovirus infection presenting as bronchial polyps in lung transplant recipients. The Journal of heart and lung transplantation. 2005;24(12):2109-13.
401. de França TRT, de Albuquerque Tavares Carvalho A, Gomes VB, Gueiros LA, Porter SR, Leao JC. Salivary shedding of Epstein–Barr virus and cytomegalovirus in people infected or not by human immunodeficiency virus 1. Clinical oral investigations. 2012;16(2):659-64.
402. Schindele A, Holm A, Nylander K, Allard A, Olofsson K. Mapping human papillomavirus, Epstein–Barr virus, cytomegalovirus, adenovirus, and p16 in laryngeal cancer. Discover Oncology. 2022;13(1):1-11.
403. Soulier J, Grollet L, Oksenhendler E, Cacoub P, Cazals-Hatem D, Babinet P, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castleman's disease [see comments]. 1995.
404. Dupin N, Diss TL, Kellam P, Tulliez M, Du M-Q, Sicard D, et al. HHV-8 is associated with a plasmablastic variant of Castleman disease that is linked to HHV-8–positive plasmablastic lymphoma. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2000;95(4):1406-12.
405. Güvenç MG, Midilli K, Özdoğan A, İnci E, Tahamiler R, Enver Ö, et al. Detection of HHV-8 and HPV in laryngeal carcinoma. Auris Nasus Larynx. 2008;35(3):357-62.
406. Roshan NM, Jafarian A, Ayatollahi H, Ghazvini K, Tabatabaee SA. Correlation of laryngeal squamous cell carcinoma and infections with either HHV-8 or HPV-16/18. Pathology-Research and Practice. 2014;210(4):205-9.