

# Akciğer Kanseri ile Human Metapneumovirus İlişkisi

Ece Kaya<sup>1</sup>, Aysin Şakar Coşkun<sup>1</sup>, Sinem Akçalı<sup>2</sup>, Pınar Çelik<sup>1</sup>, Tamer Şanlıdağ<sup>2</sup>, Arzu Yorgancıoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

<sup>2</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

## ÖZET

### Akciğer Kanseri ile Human Metapneumovirus İlişkisi

Akciğer kanseri etiyolojisinde bazı virüslerin varlığı kanıtlanmıştır. Araştırmamızda, akciğer kanserli olguların bronş lavajı ve serum örneklerinde human metapneumovirus (hMPV) rastlanma sıklığının ve akciğer kanseri ile hMPV arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı. Çalışmaya, 70 akciğer kanseri olgusu ve 30 sağlıklı kontrol grubu alındı. Akciğer kanseri hastalarından alınan bronş lavajı örnekleri ile akciğer kanseri ve kontrol grubundan alınan serum örnekleri çalışılmak üzere -80°C'de saklandı. hMPV, PCR yöntemiyle araştırıldı. 70 akciğer kanseri olgusunun 65'i (%93) erkek, 5'i (%7) kadındı. Yaş ortalaması 61.44±9.65 (44-81 yaş) idi. Kontrol grubunun 10'u (%33) kadın, 20'si (%67) erkek, yaş ortalaması 51 (40-55 yaş) idi. Akciğer kanserli olguların 54'ü (%77) küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), 16'sı (%23) küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) tanısı aldı. KHAK'li 16 olgunun 9'u (%56) sınırlı hastalık, 7'si (%4) yaygın hastalık olarak değerlendirildi. KHDAK'li 54 olgunun 22'si (%41) skuamöz hücreli karsinom, 14'ü (%26) adenokarsinom, 2'si (%4) diğer grupta (1'i nöroendokrin tümör, 1'i büyük hücreli tümör). 16 olguda (%29) ayırılma yapılamadı. KHDAK'li olguların 2'si (%4) evre I, 1'i (%1) evre II, 2'si (%4) evre IIIA, 27'si (%50) evre IIIB, 16'sı (%30) evre IV'dü. Olguların 6'sında (%1) evreleme izlem dışı kaldıkları için yapılamadı. Akciğer kanserli olguların bronş lavajı ve serum örneklerinde ve kontrol grubunun serum örneklerinde PCR yöntemi ile hMPV varlığına rastlanmadı. Bu çalışmada ileri yaş, immün yetmezlik, sigara içimi nedeniyle virüs açısından riskli olarak düşünülen akciğer kanseri ile hMPV arasında belirgin bir ilişki bulunamamıştır. Ancak olgu sayısının azlığı, olguların asemptomatik olması ve yöntemle ilgili sorunlar sonuçları etkilemiş olabilir.

**Anahtar sözcükler:** akciğer kanseri, human metapneumovirus, PCR

Geliş tarihi: 13.10.2006

Kabul Tarihi: 23.01.2007

## ABSTRACT

### Lung Cancer and the Relationship Between Lung Cancer - Human Metapneumovirus

It is aimed to investigate the prevalence of human metapneumovirus (hMPV) in bronchial lavage and blood samples of patients with lung cancer and the relationship between hMPV and lung cancer. Seventy patients with lung cancer and 30 healthy controls were included in the study. Bronchial lavage from patients with lung cancer and blood samples from patients with lung cancer and healthy controls were investigated for presence of hMPV with PCR. The mean age of 65 (93%) male and 5 (7%) female cases was 61.44±9.65 (44-81) in lung cancer patients. In control group the mean age of 20 (67%) male and 10 (33%) female cases was 51 (40-55). There were 54 (77%) nonsmall cell lung carcinoma (NSCLC) and 16 (23%) small cell lung carcinoma (SCLC). Nine (54%) patients with SCLC were staged as limited disease. Diagnosis of patients with NSCLC were 22 (41%) squamous cell carcinoma, 14 (26%) adenocarcinoma, 2 (4%) others. In 16 (29%) patients, histological type of the cancer was not identified. The number of patients with NSCLC was 2 (4%) in stage I, 1 (1%) in stage II, 2 (4%) in stage IIIA, 27 (50%) in stage IIIB, and 16 (30%) in stage IV. hMPV was not found in bronchial lavage and blood samples in patients with lung cancer and blood samples in controls with PCR method. Although it is estimated that the study population is at risk for hMPV presence because of old age, immune deficiency and smoking, no relationship between hMPV and lung cancer was observed. This may be a result of the small number of study population, absence of symptoms or methodological problems.

**Keywords:** lung cancer, human metapneumovirus, PCR

Received: 13.10.2006

Accepted: 23.01.2007

## GİRİŞ

Akciğer kanseri, günümüzde erkeklerde ve kadınlarda kanser mortalitesinin en sık nedenidir. Üzerinde en çok çalışılan ve suçlanan etken sigara içiciliğidir. Diğer olası etyolojik etkenler arasında, radyoaktif maddeler, asbest, arsenik, krom, nikel, vinil klorür, hardal gazı, hava kirliliği gibi çevresel ve mesleki etkenler, yaş, cinsiyet, ırk, geçirilmiş akciğer hastalıkları, genetik faktörler ve diyet sayılabilir [1].

*Yazışma Adresi:* Dr. Ece Kaya, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Manisa-Türkiye, Tel: +90 236 2328492, e-posta: ekaya70@hotmail.com

Akciğer kanseri etiyolojisinde virüslerle ilgili çalışmalar da sürmektedir. Human Papilloma Virus (HPV), Epstein Barr virus (EBV), Simian Virus 40 (SV-40) tümör geliştirme potansiyeli kanıtlanmış virüslerdendir. Genel özellikleri epiteliotropizm olan bu virüsler, tipe özgü olarak benign ya da malign proliferasyonlara neden olabilirler [2].

İlk kez 2001 yılında tanımlanan human metapneumovirus (hMPV), küçük çocuklarda, yaşlılarda ve immün yetmezlikli hastalarda solunum yolu hastalıklarıyla ilişkili olduğu bilinen yeni bir virüsdür [3]. Virüs, solunum yolu enfeksiyonlu kişilerden alınan solunum yolu örneklerinden

**Tablo I.** Kontrol grubu ve kanserli olgu grubunun yaş, cinsiyet ve sigara içme durumu

	Cinsiyet		Yaş ortalaması	Sigara içme durumu		
	Erkek n (%)	Kadın n (%)		İçiyor	İçmiyor	Bırakmış
Olgular (n=70)	65 (%93)	5 (%7)	61.44±9.65	50 (%72)	5 (%7)	15 (%21)
Kontrol grubu (n=30)	20 (%67)	10 (%33)	51	-	-	-

izole edilmiştir [4]. En az 50 yıldır toplum içinde olduğu sanılmaktadır [3, 5]. Elektron mikroskopi bulguları ve nükleik asit sırası ile *Metapneumovirus* genusu, *Pneumovirinae* subfamilyası, *Paramyxoviridae* familyasının bir üyesi olarak kabul edilmiştir [3, 4, 6-9].

Akciğer kanserli olgular çoğunlukla ileri yaşta, yoğun sigara içimi ve immün yetmezliği olan olgulardır ve tanı konduğu anda çoğunlukla ileri evdedir. Bu nedenle akciğer kanseri, hMPV açısından risk grubu olarak düşünülebilir.

Bu çalışmanın amacı, akciğer kanserinde, bronş lavajı ve serum örneklerinde hMPV görülme sıklığı ve hMPV ile akciğer kanseri arasında ilişki olup olmadığının araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 2005 ve Şubat 2006 tarihleri arasında akciğer kanseri tanısı alan 70 olgu çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak tarama testleri tamamlanmış (HBV, HCV, HIV, Sifiliz açısından) ve kan donörü olarak kabul edilmiş 30 sağlıklı kişi seçildi. Kan donörlerine rutin hemogram bakılarak lökositozu ve anemi olup olmadığı değerlendirildi, bakteriyel ve viral infeksiyon ekarte edildi. Olgulardan bilgilendirilmiş onam formu doldurulup izinleri alındıktan sonra, 5 cc periferik kan örneği alındı. Kan örnekleri 4000 devirde, 5 dakika santrifüje edildikten sonra çalışılmak üzere -80°C' de saklandı.

Akciğer radyogramında kitle lezyonu olan, ardından çekilen toraks tomografisi ile kitle lezyonu doğrulanan ve akciğer kanseri ön tanısıyla ileri tetkik planlanan hastalara bronkoskopi işlemi uygulandı.

Bronkoskopi öncesi olgular işlem konusunda bilgilendirildi, onam formu dolduruldu. İşlem öncesi premedikasyon amacıyla atropin + midazolam kullanıldı. Lokal anestezi %2'lik lidokain solüsyonu ile sağlandı. Üst solunum yollarının anestezisi sağlandıktan sonra yatarak ve ağız yoluyla işlem yapıldı. Aspirasyon, biyopsi ve fırçalama yeri radyolojik lokalizasyon ve bronkoskopik bulgularla belirlendi. Bronkoskopi sırasında alınan bronş lavajı örneklerinden 5 cc ayrılarak çalışılmak üzere -80°C'de saklandı.

**Tablo II.** Akciğer kanseri olgularının histolojik tipleri

Tip	Olgu Sayısı (n=70)	Yüzde (%)
KHDAK	54	77
-adeno	14	26
-skuamöz	22	41
-diğer	2	4
-ayrılanamayan	16	29
KHAK	16	23

Hastalardan alınan serum ve bronş lavajı örnekleri ile kontrol grubundan alınan serum örnekleri hMPV açısından RT-PCR yöntemiyle araştırıldı.

Total Kan İzolasyonu: Total RNA 200 µl serum örneğinden RTP DNA/RNA Virüs Mini Kit (Invitec, Berlin, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda ekstrakte edildi. Örnekler çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı.

Primer Prop Dizaynı: hMPV saptamaya yönelik; "forward primer" 5'-CATATAAGCATGCTATATTA-AAAGAGTCTC-3',

"reverse primer" 5'-CCTATTTCTGCAGCATATTT-GTAATCAG-3',

prob 5'-FAM-TGYAATGATGAGGGTGTCACTG-CGGTTG-TAMRA-3' kullanıldı.

"Real-time" PCR: Çalışma ve kontrol grubuna ait izolasyon örneklerinde hMPV 7700 DNA "sequencer" [Perkin-Elmer (Applied Biosystems, Inc.)] kullanılarak florojenik RT-PCR yöntemiyle araştırıldı. Her reaksiyon örneği için total volüm 25 µl olacak şekilde (5 µl RNA, 500 nM "forward primer", 250 nM "reverse primer", 500 nM prob) hazırlandı. 42 °C'de 45 dakika revers transkripsiyon basamağından sonra, 95°C'de 30 saniye ve 60°C'de 1 dakika 50 siklus olacak şekilde amplifikasyon gerçekleştirildi.

Verilerimizin uygun olmaması nedeniyle istatistiksel karşılaştırma yapılmadı.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 70 akciğer kanserli olgunun 65'i (%93) erkek, 5'i (%7) kadın idi. Yaş ortalaması 61.44±9.65 (44-81 yaş) idi. Kontrol grubunu oluşturan 30 sağlıklı kan donörünün 10'u (%33) kadın, 20'si (%67) erkek ve yaş ortalaması 51 (40-55 yaş) idi. Akciğer kanserli olguların 50'si (%72) aktif içici, 15'i (%21) sigarayı bırakmış, 5'i (%7) hiç sigara kullanmamıştı. Ortalama sigara paket yılı 63.37± 0.81 (20-150 paket yılı) idi (Tablo I).

Akciğer kanserli 70 olgunun 54'ü (%77) KHDAK tanısı alırken, 16'sı (%23) KHAK tanısı aldı (Tablo II). KHDAK tanısı alan 54 olgunun 22'si (%41) skuamöz hücreli karsinom, 14'ü (%26) adenokarsinom, 2'si (%4)

**Tablo III.** Akciğer kanserli olguların evrelere göre sınıflandırılması

Evre	Olgu Sayısı (n=70)	Yüzde (%)
<b>KHDAK</b>		
Evre I	2	4
Evre II	1	1
Evre IIIA	2	4
Evre IIIB	27	50
Evre IV	16	30
Evrelenemeyen	6	11
<b>KHAK</b>		
Sınırlı	9	56
Yaygın	7	44

diğer gruptu (1 olgu nöroendokrin tümör, 1 olgu büyük hücreli tümör). 16 olguda (%29) ayrımlanma yapılamadı, KHDAK olarak kabul edildi.

KHDAK tanısı alan olguların 2'si (%4) evre I, 1'i (%1) evre II, 2'si (%4) evre IIIA, 27'si (%50) evre IIIB, 16'sı (%30) evre IV olarak değerlendirildi. Olguların 6'sı (%11) tanı sonrası takiplerine gelmedikleri için evreleme yapılamadı. KHAK tanısı alan 16 olgunun 9'u (%56) sınırlı hastalık, 7'si (%44) yaygın hastalık olarak değerlendirildi (Tablo III).

Akciğer kanserli olgulardan alınan bronş lavajı ve serum, kontrol grubundan alınan serum örneklerinde PCR yöntemi ile hMPV araştırıldı. Hiç bir örnekte hMPV pozitifliği saptanmadı.

## TARTIŞMA

Akciğer kanseri yaygınlığı ve tedavisinin erken evreler dışında çok zor olması nedeniyle günümüzde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Etiyoloji ve patogenezinin yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, hala tam anlamıyla açıklanmış değildir [1]. Akciğer kanserinden sorumlu tutulan ajanlardan biri de solunum yolu enfeksiyon etkenleri olan virüslerdir.

hMPV'nin, diğer solunum virüsleri kadar yaygın olduğu, küçük çocuklarda, özellikle preterm infantlarda, yaşlılarda ve immün yetmezlikli hastalarda ciddi alt solunum yolu enfeksiyonlarına yol açabileceği gösterilmiştir [4, 9]. Bunun dışında virüs için risk faktörleri, konjenital kalp hastalığı, gastroözefagial reflü hastalığı ya da aspirasyon, multipl konjenital anomaliler olarak belirtilmiştir [10]. Genç erişkinlerde enfeksiyonun nedeninin çocuklarla yakın temas olduğu düşünülmektedir. Yaşlı olgularda enfeksiyon sıklıkla kronik kalp veya akciğer hastalığı olanlarda izlenmektedir. Sigara kullanımı veya kullanmış olmak, uzun süreli oral steroid alımı ve evde oksijen kullanımını da virüs

için risk oluşturan durumlardandır [11]. Aynı zamanda hMPV, hastane kökenli enfeksiyonlara da yol açabilir [12].

Çalışmamızda akciğer kanseri olguları hMPV açısından taranmıştır. Etiyolojisinde sigara içiminin en büyük etken olduğu akciğer kanserinde oluşan immün yetmezlik de düşünüldüğünde, akciğer kanserinde hMPV varlığı beklenebilir. Ayrıca yaş ortalamasının 60'lı yaşlar olduğu göz önüne alındığında, yaşlı popülasyonun virüs varlığı açısından risk oluşturması nedeniyle, yaşlı akciğer kanseri olgularında virüsün saptanması söz konusu olabilir. Bunun yanısıra akciğer kanseri olgularında sık hastane yatışları olmaktadır. hMPV'nin hastane kökenli enfeksiyonlara da neden olduğu bilinmektedir. Ancak akciğer kanserli hasta grubumuzda, örnekler ilk tanı konduğu dönemde alındığı için uzun süreli ve sık hastane yatışları olmadan çalışma gerçekleştirilmiştir.

Klinik bulguları asemptomatik enfeksiyondan komplike pnömoniye kadar değişebilir. Diğer semptomlar arasında, rinore, nazal konjesyon, konjonktivit, faringeal eritem, miyalji, ateş, öksürük, diyare, takipne, daha ciddi olgularda ise stridor, wheezing, bronşiolit, pnömoni, respiratuar distres, hipoksi, siyanoz, kusma, beslenme güçlüğü, ses kısıklığı ve solunum yetmezliği görülebilir [12-15]. Fizik muayenede, göğüste retraksiyonlar, ince krepatasyonlar, kaba raller, bazen ronküs duyulabilir [13].

Çalışmamızda taranan hem akciğer kanserli olgular, hem de kontrol grubu olarak alınan olgular semptomatik değildi. Çalışmamızın amacı, akciğer kanseri ile hMPV ilişkisini saptamak olduğu için, solunum yolu enfeksiyonu klinik bulguları olmayan olgular alınmıştır. Asemptomatik olgularda pozitif hMPV saptanmasının virüs-kanser ilişkisi açısından daha anlamlı olabileceği düşünüldü.

Yapılan çeşitli çalışmalarda hMPV araştırılan örnekler; bronkoalveoler lavaj (BAL), nazofarengeal ve nazal sürüntü, nazofarengeal ve nazal yıkama, nazofarengeal ve trakeal aspirasyon örnekleri, boğaz sürüntüsü, balgam ve kandır [12,14,16,17]. Yaptığımız çalışmada akciğer kanserli olguların ve sağlıklı kontrol grubunun serum örnekleri alınmıştır. Akciğer kanserli olgulara tanı için uygulanan bronkoskopi işlemi sırasında bronş lavaj örnekleri de alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubuna bronkoskopi işlemi uygulaması etik olmadığı için sadece serum örneklerinden çalışılmıştır. Yapılan diğer çalışmaların çoğunda hMPV araştırılması nazal sürüntü örneklerinde yapılmıştır. Ancak çalışmamızda akciğer kanseri ile ilişkisi değerlendirildiği için öncelikle bronş lavaj örnekleri tercih edilmiştir.

hMPV izolasyonu ve doku kültürlerinin zor olması, tanı için başka yöntem arayışlarını doğurmuştur. Ek olarak, hızlı antijen saptama testleri kolay ulaşılabilir bir yöntem değildir [18]. Bu nedenlerle tanıda kullanılan en etkin yöntemlerden biri PCR ile virüs RNA'sının saptanmasıdır.

RT-PCR, hMPV ile ilgili hastalıkları ve epidemiyolojisini aydınlatmak için duyarlı bir testtir [16].

Yaptığımız çalışmada, akciğer kanserli olgulardan bronkoskopik inceleme sonucu elde edilen bronş lavajı örnekleri ve serumlarından, sağlıklı kontrol grubundan alınan serum örneklerinden hMPV RNA araştırılmak üzere RT-PCR yöntemi ile çalışılmıştır.

Bununla birlikte tanıda moleküler yöntemlerin kullanıldığı araştırmalarda, kullanılan örneklerden ve yöntemden kaynaklanabilen hatalı negatif sonuçlara da rastlanabilmektedir. Seçilen örnek tipi, alınış zamanı, transfer ve çalışılacağı kadar geçen süre içindeki saklanma koşulları, hazırlık aşamasında uygulanan işlemler PCR yönteminin duyarlılığını önemli oranlarda etkilemektedir. Tam kan veya hemolizli kanlarda bulunan "heme", amplifikasyonda kullanılan enzimler üzerine inhibe edici etki yaparak hatalı negatif sonuç alınmasına yol açabilmektedir. Çalışmamızda örneklerimizle ilgili olabilecek tek sorun bazı örneklerimizin hemolizli olması olabilir.

Yöntemle ilgili sorunlar arasında ilk akla gelmesi gereken hedef molekülün izolasyonu ve saflaştırılmasından kaynaklanan sorunlardır. Amplifikasyon yöntemlerinin en kritik aşaması, hücreyi parçalayarak sitoplazması içinde bulunan hedef nükleik asitleri serbest hale getirmek ve saflaştırmaktır. Bu amaçla oldukça farklı yöntem ve kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bazı ekstraksiyon kitlerinin hemolizli örneklerde inhibitörleri uzaklaştırmada yeterli olmadığı saptanmıştır [19]. Bu bağlamda, tekrarı mümkün olmadığı için çalışmada kullanmak zorunda kaldığımız hemolizli örneklerde bununla ilgili bir problem yaşanmış olabilir.

Kullanılan yöntemle ilgili olabilecek bir diğer sorun amplifikasyon aşamasından kaynaklanan sorunlardır. Burada amplifikasyon ürünü yok ya da çok az olabilir. Bu duruma neden olabilecek muhtemel hata kaynakları arasında hedef molekülün yapısı bozulmuş veya konsantrasyonunun çok düşük olması, primer baz dizilimlerinin hatalı ya da konsantrasyonlarının çok düşük olması, reaksiyon tüpünde inhibitörlerin (DNAz, RNAz, proteaz, eldiven pudrası gibi) bulunması, "thermal cycler" koşullarının optimal olmaması sayılabilir. Ancak bizim çalışmamızda alınan negatif sonuçların nedeninin bunlardan biri olabileceğini düşünmemekteyiz. Çünkü yaptığımız tüm testlerde internal ve eksternal pozitif kontroller kullanılmış ve bunların çalıştığı görülmüştür [20].

False ve ark tarafından yapılan bir çalışmada erişkinlerde kan ve nazofarengeal sürüntü örneklerinde hMPV varlığı araştırılmış ve asemptomatiklerde % 4.1 pozitiflik saptamışlardır. Ancak bu çalışma üst üste iki kış sezonunda yapılmış ve asemptomatik yaşlılarda pozitiflik oranı % 1.4-1.5 oranında bulunmuştur [11]. Çalışmamızda, akci-

ğer kanserli olgu grubunda ve sağlıklı kontrol grubunda hMPV virüsü saptanamadı. Çalışma grubununa alınan akciğer kanserli olgularda ve kontrol grubunda üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu bulguları yoktu. Bu durum hMPV saptanamamasına getirilebilecek bir açıklama olabilir. Ayrıca çalışmamızda mevsimsel bir dönem seçilmemiştir. Diğer çalışmalar hemen daima virüs enfeksiyonlarının pik yaptığı kış aylarında yapılmıştır. Bu da pozitif olgu bulamamamızın bir nedeni olarak düşünülebilir. Yöntem açısından değerlendirdiğimizde PCR'in hMPV tanısında duyarlı bir yöntem olduğu net olarak vurgulanmış ve yapılan birçok çalışmada bu yöntem seçilmiştir [16,18,21]. Bu açıdan PCR yöntemiyle yaptığımız tarama çalışması uygun bir seçim olarak değerlendirilebilir.

BALB/c farelerinde yapılan bir hayvan deneyinde, genomik hMPV RNA PCR ile akciğerlerde saptanmış, kan, dalak, böbrek, kalp, trakea ve beyin dokusunda gösterilememiştir. Akciğerin histopatolojik incelemelerinde interstisyumdaki yaygın mononükleer hücre infiltrasyonunun 2. günde başladığı, 4. gün pik yaptığı ve hava yolu epitel hasarı ve remodelingi ile ilişkili olarak 14. gün azaldığı gösterilmiştir. hMPV enfeksiyonunun ardından, hava yollarındaki hücresel döküntüler ve hava yolu epiteline komşu miyofibroblastlarda yoğunluk artışı, Clara hücresi sekretuar protein boyanma paterninde değişim ile karakterize hava yolu epitel hasarı ve remodeling gözlenmiştir. T hücreleri ve NK hücrelerinin erken ve geç hMPV replikasyonunu sınırlayan bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür [22]. BALB/c farelerinde yapılan başka bir çalışmada, viral replikasyonla uyumlu olarak 4 gün sonra hava yollarında artmış meta-kolin hiperreaktivitesi saptanmıştır. Bronkoalveolar lavajda interlökin-4 ve interferon-gamma bulunurken, kanda hMPV-spesifik antikorlar IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>2a</sub> bulunmuştur [23]. Bu çalışma hMPV'nin viral replikasyonunun kısa süreli, apikal yüzeye polarize ve öncelikle silialı solunum epitel hücrelerinde meydana geldiğini gösterir ve bir solunum yolu patojeni olduğunu açıklar [24].

hMPV enfeksiyonu sırasında hücre hasarı ve remodeling olduğunu gösteren bu iki çalışma, kanser-virüs ilişkisini araştırmada yol gösterici olmuştur. Enfeksiyona bağlı hücre hasarı, hücrenin tamir mekanizmaları ve apoptozis üzerinden kansere zemin hazırlayabilir.

PCR ile akciğerin skuamöz hücreli akciğer karsinomalarında HPV saptamak amacıyla 1998'de yapılan bir çalışmada, HPV tip 6, 11, 16, 18, 31 ve 33 incelenmiştir. HPV'nin skuamöz epitelyal hücrelerin malign transformasyonunda etiyolojik bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [25,26].

Skuamöz-kolumnar bileşkeler farenks ve larenks mukozasında solunum epitel ve stratifiye skuamöz epitel arasında bulunmaktadır. Bu bileşkeler bronşiolerde de bulunur

ve HPV'nin yayılmasında önemli bir rol oynar. HPV Tip 16 ve 18, KHAK olan 9 olgunun 9'unda, skuamöz hücreli KHDAK'li 16 olgunun 9'unda, adenokarsinomlu 12 olgunun 5'inde bulunmuştur. Başka bir çalışmada, skuamöz hücreli KHDAK'li hastanın % 11'inde, adenokarsinomlu hastaların % 25'inde, nöroendokrin tümörlerin % 28'inde, KHAK'lerin % 16'sında HPV 6, 11, 16, 18 saptanmıştır [27].

Prostat, kolon, meme ve akciğer kanserlerinin benign ve malign karsinomlarında EBV saptanmıştır. Bu organların preneoplastik ve hiperplastik epitelyal proliferasyonlarında EBV gösterilmiştir. Akciğer karsinomlu hastaların % 7.4'ünde EBV bulunduğu, akciğer karsinomlarının bütün major tipleri arasında pozitif olgular bildirilmiştir. Tüm bu bulgular eşliğinde EBV'nin akciğer karsinogenezinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [28]. Başka bir çalışmada 80 pulmoner adenokarsinom ve 50 mezotelyomalı olgu araştırılmış, ancak EBV'nin mezotelyoma ya da pulmoner adenokarsinom gelişiminde etiyolojik rolü adına bir bulgu saptanamamıştır [29].

Kanser virüs ilişkisi araştırılan bir başka virüs de SV-40 virüsüdür. SV-40 genomunun mezotelyomada bulunduğu gösterilmiştir [30].

Akciğer kanserlerinin viral etyolojisinde virüsün asil onkojenik bir faktör olarak kabul edilebileceği (genital sistemdeki HPV gibi) ya da mezotelyomadaki gibi önemli bir kofaktör olabileceği (asbestozis ve SV-40) düşünülmektedir. Akciğer karsinomasındaki viral enfeksiyon insidansı, EBV ile enfekte nadir olgular ve HPV ile ilişkili birkaç olgu ile sınırlıdır [30]. Akciğer kanseri ve virüs ilişkisini araştırmak üzere yapılan çalışmamızda KHAK ve KHDAK tanımlarını içeren 70 olgunun bronkoskopi ile elde edilen bronş lavaj örnekleri ve serum örnekleri çalışılmıştır.

30 sağlıklı kontrol grubunun serum örneğinde ve akciğer kanserli olguların serum ve bronş lavajı örneklerinde PCR yöntemi ile hMPV çalışılmıştır. Ancak akciğer kanserli olgularda hMPV saptanamamıştır.

Sonuç olarak, yaşlılık, sigara kullanımı, eşlik eden hastalık gibi risk faktörlerine çoğunlukla sahip olan akciğer kanserli olgu grubunda hMPV rastlanma sıklığı ve normal populasyonla karşılaştırarak hMPV ile akciğer kanseri arasındaki olası ilişkinin araştırıldığı bu çalışmada, akciğer kanserli olguların serum ve bronş lavajı örneklerinde hMPV'ye rastlanmamıştır. Olgu sayısının az olması, kontrol grubu serum örneklerinde de hMPV saptanamaması akciğer kanseri ile hMPV arasında herhangi bir ilişki olmadığını düşündürmektedir. Ancak bu konuda kesin bir yargıya, daha büyük olgu gruplarında yapılacak kontrollü çalışmalar ile ulaşılabilir.

## KAYNAKLAR

1. Zafer E. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tümör dokusu örneklerinde polimeraz zincir tepkimesi (PCR) ve restriksiyon parça uzunluk polimorfizm analizleri ile insan papillomavirüslerinin tanımlanması ve tiplendirilmesi [Tez]. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2000. 38 s.
2. Akkoçlu A, Öztürk C. Akciğer kanseri multidisipliner yaklaşım. Bilimsel Tıp Yayınevi, 1999.
3. Van Den Hoogen BG, De Jong JC, Groen J et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001; 7: 719-24.
4. Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M et al. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infants in Italy. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2987-91.
5. Mahalingam S, Schwarze J, Zaid A et al. Perspective on the host response to human metapneumovirus infection: what can we learn from respiratory syncytial virus infections? *Microbes Infect* 2006; 8: 285-93.
6. Pelletier G, Dery P, Abed Y, Boivin G. Respiratory tract reinfections by the new human metapneumovirus in an immunocompromised child. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 976-8.
7. Domachowske JB. Human metapneumovirus: a newly described respiratory pathogen of humans. *Clinical Microbiology Newsletter* 2003; 25: 17-20.
8. Ludewick HP, Abed Y, Van Niekerk N et al. Human metapneumovirus genetic variability, South Africa. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1074-8.
9. Boivin G, Abed Y, Pelletier G et al. Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J Infect Dis* 2002; 186: 1330-4.
10. Robinson JL, Lee BE, Bastien N, Li Y. Seasonality and clinical features of human metapneumovirus infection in children in Northern Alberta. *J Med Virol* 2005; 76: 98-105.
11. Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, Walsh EE. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis* 2003; 187: 785-90.
12. Esper F, Boucher D, Weibel C et al. Human metapneumovirus infection in the United States: clinical manifestations associated with a newly emerging respiratory infection in children. *Pediatrics* 2003; 111: 1407-10.
13. Samransamruajkit R, Thanasugarn W, Prapphal N et al. Human metapneumovirus in infants and young children in Thailand with lower respiratory tract infections; molecular characteristics and clinical presentations. *J Infect* 2006; 52: 254-63.
14. Van Den Hoogen BG, Van Doornum GJ, Fockens JC et al. Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. *J Infect Dis* 2003; 188: 1571-7.
15. Lazar I, Weibel C, Dziura J et al. Human metapneumovirus and severity of respiratory syncytial virus disease. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:1318-20.
16. Kuypers J, Wright N, Corey L, Morrow R. Detection and quantification of human metapneumovirus in pediatric specimens by real-time RT-PCR. *J Clin Virol* 2005; 33: 299-305.
17. Takao S, Shimozone H, Kashiwa H et al. Clinical study of pediatric cases of acute respiratory diseases associated with human metapneumovirus in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2003; 56: 127-9.
18. Boivin G, De Serres G, Cote S et al. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 634-40.

19. Klein A, Barsuk R, Dagan S et al. Comparison of methods for extraction of nucleic acid from hemolytic kan for PCR amplification of hepatitis B virus DNA sequences. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1897-9.
20. R Durmaz. Nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinde sorunlar ve standardizasyon. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2000; 34: 157-63.
21. Falsey AR, Criddle MC, Walsh EE. Detection of respiratory syncytial virus and human metapneumovirus by reverse transcription polymerase chain reaction in adults with and without respiratory illness. *J Clin Virol* 2006; 35: 46-50.
22. Alvarez R, Harrord KS, Shieh WJ et al. Human metapneumovirus persist in BALB/c mice despite the presence of neutralizing antibodies. *J Virol* 2004; 78: 14003-11
23. Darniot M, Petrella T, Aho S et al. Immune response and alteration of pulmonary function after primary human metapneumovirus (hMPV) infection of BALB/c mice. *Vaccine* 2005; 23: 4473-80.
24. Kuiken T, Van Den Hoogen BG, Van Ridel DA et al. Experimental human metapneumovirus infection of cynomolgus macaques (*macaca fascicularis*) results in virus replication in ciliated epithelial cells and pneumocytes with associated lesions throughout the respiratory tract. *Am J Pathol* 2004; 164: 1893-900.
25. Niyaz H, Zhao C, Li Y. Detection and significance of HPV16, 18 infection, p53 overexpression and telomerase activity in patients with lung cancer. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2000; 23: 679-82.
26. Bohlmeier T, Le TN, Shrover AL et al. Detection of human papillomavirus in squamous cell carcinomas of the lung by polymerase chain reaction. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 18: 265-9.
27. Grinstein S, Preciado MV, Gattuso P et al. Demonstration of Epstein-Barr virus in carcinomas of various sites. *Cancer Res* 2002; 62: 4876-8.
28. Chen YC, Chen JH, Richard K et al. Lung adenocarcinoma and human papillomavirus infection. *Cancer* 2004; 101: 1428-36.
29. Conway EJ, Hudnall SD, Lazarides A et al. Absence of evidence for an etiologic role for Epstein-Barr virus in neoplasms of the lung and pleura. *Mod Pathol* 1996; 9: 491-5.
30. Brouchet L, Valmary S, Dahan M et al. Detection of onkogenic virus genomes and gene products in lung carcinoma. *Br J Cancer* 2005; 92: 743-6.