

# Juvenil laringeal papillomatoziste human papillomavirüs infeksiyonu

## İmmünohistokimyasal çalışma

Dr. Mehmet Ataman\* Dr. Arzu Sungur\*\* Dr. A. Murat Tuncer\*\*\*

### ÖZET

Son yıllarda juvenil laringeal papillomatozisin etyolojisi-nde Human papillomavirüsün önemli bir yeri olduğu üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmada klinik ve histopatolojik olarak papillom tanısı almış on juvenil laringeal lezyonda immünohistokimyasal yöntem kullanılarak human papillomavirüs varlığı araştırılmıştır. 10 juvenil laringeal papillomatozis olgusunun %40'ında immünohistokimyasal olarak pozitif boyanma saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Juvenil laringeal papillomatozis, Human papillomavirüs.

### GİRİŞ

Laringeal papillomlar öncelikle vokal kord ve epiglotta yerleşen ancak oral kavite, trakea ve akciğerleri de tababilen, yavaş gelişen noninvaziv tümörlerdir.<sup>1</sup> Histolojik olarak etyolojilerinde HPV varlığı saptanmış olan kutanöz ve genital papillomlar ile benzerlik gösterirler.<sup>2,3</sup> En sık görülen semptomlar ses kısıklığı, stridor ve ileri olgularda dispne ve akut solunum yolları obstrüksiyonudur.<sup>4</sup> Cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra multipl rekürrenslerin olması karakteristiktir. Bazı olgularda ayda bir cerrahi müdahale gerekirken bazı olgularda aylar hatta yıllarca remisyon sağlanabilir.<sup>5</sup>

Laringeal papillomaların etyolojisinde birden fazla HPV tipinin rol oynadığı düşünülmektedir. Papillomaların epitel yüzey hücrelerinde viral kapsid proteini gösterilmiş<sup>6,7,8</sup> ve papillom dokularında HPV DNA'sı<sup>2,9</sup> saptanmıştır. Yine son yıllarda kullanılmaya başlanan in situ hibridizasyon ve polimeraz zincir reaksiyonu ile juvenil laringeal papillomatozisin spesifik HPV tipleri ile birlikteliği gösterilmiştir.<sup>10</sup>

Bu çalışmada juvenil laringeal papillomatozisi olan 10 olguda viral antijen varlığı araştırılmıştır.

### SUMMARY

During the last decade it has been suggested that Human papillomavirus are involved in the pathogenesis of juvenile laryngeal papillomatosis. Ten juvenile laryngeal lesions classified clinically and histologically as papillomas were subjected to immunohistochemical evaluation in order to detect human papillomavirus (HPV) specific antigens. The immunohistochemical staining was positive in 40% of 10 juvenile laryngeal papillomatosis.

Key Words: Juvenile laryngeal papillomatosis, Human papillomavirus

### MATERYAL VE METOD

Çalışmaya, H.Ü. Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda klinik ve histopatolojik olarak laringeal papillom tanısı olmuş 10 hasta alındı. Hastaların yaşları 3 ile 6 arasında değişmekte olup ortalama yaş 4.3 olarak saptandı. Hastaların tümünden mikrocerrahi ile biopsi alındı ve hastalar 2 ila 14 ay süre ile izlendi.

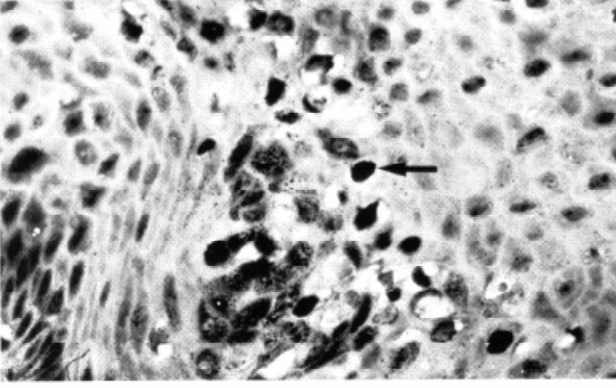
Biyopsi örneklerinin H+E kesitleri incelenerek tüm olgularda HPV'nin morfolojik bulgusu olan koilositik değişiklikler araştırıldı. Dokuda HPV varlığını araştırmak için immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Bu amaçla parafin bloklardan 6 mikronluk kesitler hazırlandı. Deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemlerinden sonra 10 dakika süre ile endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Tris-Buffered saline pH: 7.6 (TBS) ile yıkanan kesitler HPV kapsid antijenine karşı hazırlanmış poliklonal rabbit anti-bovine papillomavirus antikoruna (1/100) (DAKO) ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Tekrar TBS ile yıkanan kesitler anti-rabbit immünooglobülin (1/300) ile 30 dakika inkübe edildi. TBS ile yıkandıktan sonra streptavidin enzim bağlayıcı ile 30 dakika inkübe edildi. TBS ile yıkanan kesitler 3-3-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) ile boyandı ve çeşme suyunda yıkandı. 45 saniye hematoksilin ile boyandı. Alkolde dehidrate edildi, ksilolde şeffaflaştırıldı ve balsamla kapatıldı.

Epitelin yüzeyel tabakasındaki hücrelerde kahverengi

\* KBB uzmanı, Ankara

\*\* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

\*\*\* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı



**Resim 1:** Anti HPV antikoruna ile nükleer boyanma. (İmmünope-  
roksidaz x 700)

intranükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi.

### SONUÇLAR

Juvenil laringeal papillomatozis tanısı alan 10 olgunun 6'sında HPV enfeksiyonunun önemli morfolojik kriteri olan koilositotik değişiklikler saptandı. Bu morfolojik bulgular sitoplazmik vakuolizasyon, perinükleer halo, çift nükleus, nükleer pleomorfizm ve hiperkromazidir.

Yapılan immünohistokimyasal çalışmada 10 olgunun 4'ünde HPV varlığı saptandı. Bu dört olgunun tümü koilositotik değişiklikler içeren olgulardır. Pozitif intranükleer boyama özellikle yüzeysel tabakalardaki hücrelerde izlendi (Resim 1).

### TARTIŞMA

Çocuklarda görülen larinks papillomatozisi ilk kez 1871 yılında Morel MacKenzie tarafından tanımlanmıştır.

En sık görülen semptomlar ses kısıklığı ve üst solunum yolu obstrüksiyonuna bağlı olanlardır. Papillomların çoğunluğu vokal kordlar üzerinde başladığından ses değişikliği çok erken başlar. Bu nedenle başvuru nedeni genellikle ağlama sesinde değişiklik veya ses kısıklığıdır. Öte yandan akut solunum yolu obstrüksiyonu çok ender-

dir. Ama papilloma büyüdükçe birçok çocukta havayolu giderek daralır ve sonunda giderek artan bir inspiratuar stridor başlar.

Tanı her zaman mikrolaringoskopi ile papillomatöz kitlenin karakteristik yapısının görülmesi ve alınan biopsinin histopatolojik incelemesi ile konur. Bu inceleme ile diğer tanı olasılıkları olan laringomalazi, vokal kord nodülleri ve laringeal stenoz ekarte edilmiş olur.

Papillomların genellikle çapları 0.7 cm den küçüktür ve histopatolojik olarak non-keratinize çok katlı yassı epitel örtülü, damardan çok zengin bir bağ dokusu çekirdeğinin dallanması biçiminde izlenir. Epitel hiperplastik olmakla birlikte nükleer pleomorfizm göstermez. Koilositotik değişikliklerin laringeal papillomların histolojik tanısında önemli bir bulgu olduğu artık anlaşılmıştır.<sup>11</sup>

Juvenil laringeal papillomların etyolojisinde viral etkenlerle ilgili kuramlar olmasına karşın bu konu henüz kesinleşmemiştir. Ullman<sup>12</sup> bir çocuğun lakinksinden aldığı papillom materyalini hem hastanın koluna hem de bir köpeğin vajinasına inoküle etmiştir. 3 ay sonra tüm bu bölgelerde yoğun papilloma gelişimi izlenmiştir. Dedo ve Jackler<sup>13</sup> juvenil laringeal papillomaların %50'sinin papovavirüs partikülleri içerdiğini bildirmişlerdir. Braun ve arkadaşlar<sup>6</sup> ise inceledikleri 15 olgunun 7'sinde antijenin varlığını saptamışlardır. Literatürde viral partiküllerin varlığını gösteren ve gösteremeyen başka çalışmalar da yayınlanmıştır.<sup>14,15</sup>

İmmünohistokimyasal ve daha sofistike moleküler teknikler HPV'nün juvenil laringeal papillomalardaki varlığını ortaya koymuştur.<sup>11</sup> Bu bulgular, HPV ile laringeal, lingual, özefageal karsinomalar ve diğer oral kavite neoplazmları arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik yoğun araştırmaları başlatmıştır.<sup>16</sup>

Bizim çalışmamız juvenil laringeal papillomatozisi olan Türk çocuklarının %40'ında HPV enfeksiyonunun varlığını göstermekte ve bir kez daha, farklı çevresel etkenlere karşın HPV enfeksiyonunun evrensel bir bulgu olduğunu ortaya koymaktadır.

### KAYNAKLAR

- 1 Steinberg, B.M., Topp, W.c., Schneider, P.S., Abramson, A.L. Laryngeal papillomavirus infection during clinical remission. *New England Journal of Medicine*, 1983; 308, 1261-1264.
- 2 Mounts, P., Shaw, K.V., Kashima, H. Viral etiology of juvenile-onset and adult-onset squamous papilloma of the larynx. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982; 79, 5425-5429.
- 3 Quick, C.A., Watta, S.L., Krzyzek, R.A. Relationship between condylomata and laryngeal papillomata: Clinical and molecular virological evidence. *Annals of Otolaryngology* (1980) 89, 467-471.
- 4 Irwin, B.C., Hendrickse, W.A., Pincott, J.R., Bailey, C.M., Evans, J.N.G. Juvenile laryngeal papillomatosis. *The Journal of Laryngology and Otolaryngology*, 1986; 100, 435-445.
- 5 Robbins, K.T., Woodson, G.E. Current concepts in management of laryngeal papillomatosis. *Otolaryngology*, 1984; 190, 765-769.
- 6 Braun, L., Kashima, H., Eggleston, J., Shah, K. Demonstration of papillomavirus antigen in paraffin sections of laryngeal papillomas. *Laryngoscope*, 1982; 92, 640-643.
- 7 Costa, J., Howley, P.W., Bowlhig, M.C., Howard, R., Bauer, W.C. Presence of human papilloma viral antigens in juvenile multiple laryngeal papilloma. *Am J Clin Pathol*. 1981; 75, 194-197.
- 8 Lack, E.E., Genes, A.A., Smith, H.P., Heady, G.B., Pass, G., Father, G.B., Immunoperoxidase localization of human

- papillomavirus in laryngeal papillomas. *Intervirology*, 1980; 14, 148-154.
- 9 Gissmann, L., Ideal, V., Schultz-Coulon, H.P., Haven, H. Molecular cloning and characterization of human papilloma virus derived from a laryngeal papilloma. *J. Virol.* 1982; 44, 393-400.
  - 10 Kiyabu, M.T., Shibata, D., Arnheim, N., Martin, J., Fitzgibbons, P. detection of human papillomavirus in formalin-fixed, invasive squamous carcinomas using the polymerase chain reaction. *The American Journal of Surgical Pathology*, 1989; 13, 221-224.
  - 11 Madinier, I., Monteil, R.a. Human papilloma viruses in oral epithelia lesions. Comparative study between histopathology and immunohistochemistry in routine diagnosis. *J. Biol. Buccale*, 1987; 15, 105-110.
  - 12 Ullman, E.E., On the etiology of the laryngeal papilloma. *Acta Otolaryngologica* 1923; 5, 317-325.
  - 13 Dedo, H.H., Jackler, R.K. (1982) Laryngeal papilloma: Results of treatment with CO2 laser and podophyllum. *Annals of Otolaryngology and Laryngology* 91, 425-430.
  - 14 Lundquist, P.G., Fridhol, L., Wersall, J. Ultrastructural features of human juvenile laryngeal papillomatosis. *Acta otolaryngologica* 1975; 80, 137,149.
  - 15 Bergstrom, L.V. Laryngeal papillomatosis: Recurrence after 33 year remission. *Laryngoscope*, 1982; 92, 1160-1163.
  - 16 Chaput, M., Ninane, J., Gosseye, S., Moulin, D., Hamoir, M., Claus, D., Francis, C., Richard, F., Vermeylen, C., Cornu, G. Juvenile laryngeal papillomatosis and epidermoid carcinoma. *The Journal of Pediatrics* 1989; 114, 269-272.