



Prostat Doku Örneklerinde İnsan Papillomavirüs Enfeksiyonu ve IL-10 -1082 Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

The Investigation of Association Between IL-10 -1082 Polymorphism and Human Papillomavirus Infection in Prostatic Tissue Samples

Ebru ETEM¹, Yasemin BULUT², Nusret AKPOLAT³, Yasemin AŞKIN¹, Halit ELYAS¹, Fügen YARKIN⁴

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

¹ Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Firat, Elazığ, Turkey

² Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

² Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Firat, Elazığ, Turkey

³ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Turgut Özal Tıp Merkezi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

³ Department of Medical Pathology, Turgut Ozal Medical Center, Faculty of Medicine University of Inonu, Malatya, Turkey

⁴ Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

⁴ Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Cukurova, Adana, Turkey

ÖZET

Giriş: Prostat kanserinde, yapılan bazı çalışmalarda insan papillomavirüs (HPV) DNA varlığı rapor edilmiştir. İnterlökin (IL)-10 genindeki polimorfizmler, HPV enfeksiyonunun yanıtını etkileyebilir IL-10 üretim kapasitesi, IL-10 promotöründeki polimorfizmlere bağlı olarak değişmektedir. Çalışmada prostat kanserinin gelişiminde HPV enfeksiyonuyla IL-10 polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: DNA, 40 adenokarsinoma ve 68 benign prostat hiperplazi (BPH) tanısı konulan toplam 108 hastanın arşivlenmiş prostat dokusundan izole edildi. IL-10 -1082 tek nükleotid polimorfizmlerinin genotiplemesi, allel spesifik polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak yapıldı. HPV tespiti genel HPV primerleri kullanılarak yapıldı.

Bulgular: HPV DNA 68 BPH örneğinin 15'inde ve 40 prostat kanseri örneğinin 16'sında tespit edildi. IL-10 -1082 genotiplerinin dağılımı ki-kare testi kullanıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi. HPV DNA pozitifliği ve IL-10 -1082 genotipleri arasında ilişki bulunmadı.

Sonuç: Sonuçlarımız HPV DNA pozitiflerinin prostat kanserinin küçük bir kısmının etyolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak; prostat kanserinde genlerin ve bu patojenin rolüyle ilgili kesin deliller ortaya koymak için daha ileride yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: İnsan papillomavirüs, arşivlenmiş örnekler, prostat kanseri, benign prostatik hiperplazi, interlökin-10, polimorfizm

Geliş Tarihi: 12.01.2012 • **Kabul Ediliş Tarihi:** 05.06.2012 • **Yayınlanma Tarihi:** 03.07.2012

ABSTRACT

Introduction: Some studies of prostate cancer (PCa) have reported the presence of human papillomavirus (HPV) DNA. Polymorphisms in IL-10 gene can influence inflammation and immune response and may be related to the risk of prostate cancer. The capacity for IL-10 production varies according to the genetic composition of the IL-10 locus. We aimed to elucidate the relation between HPV infection and IL-10 polymorphism for the development of prostate cancer. We examined 108 formalin-fixed specimens for the existence of HPV DNA and IL-10 -1082 genotype distribution.

Materials and Methods: The DNA are extracted from archival prostate tissues of totally 108 patients, 40 of whom with adenocarcinoma and 68 with benign prostatic hyperplasia (BPH). Genotypes of IL-10 -1082 single nucleotide polymorphism (SNP) were performed using allele specific polymerase chain reaction (ARMS). HPV detection was performed by using conventional HPV primers.

Results: HPV DNA was detected in 15 of 68 BPH specimens (22%) and in 16 of 40 prostate PCa specimens (40%). Distribution of IL-10 -1082 genotype was not statistically different between PCa and BPH using chi-square ($p > 0.05$). There was not any association between HPV DNA positivity and IL-10 -1082 genotypes.

Conclusion: The results suggest that the HPV DNA positivity might be involved in the etiology of a minority of prostate cancers. As result, we consider that future investigations are needed to provide conclusive evidence on the role of this pathogen and genes in the prostate cancer.

Key words: Human papillomavirus, prostatic cancer, benign prostatic hyperplasia, interleukin-10, polymorphism

Received: 12.01.2012 • **Accepted:** 05.06.2012 • **Published:** 03.07.2012

GİRİŞ

Prostat kanseri erkeklerde görülen en yaygın kanserlerden bir tanesidir. Ancak gelişiminde görev alan moleküler mekanizmalar hakkında çok az şey bilinmektedir^[1]. Prostat, seksüel davranışla beraberlik gösteren insan papillomavirüs (human papillomavirus; HPV) enfeksiyonlarının bir hedefi konumundadır. HPV servikal kanserlerin en büyük nedenidir^[2]. Belirli yüksek riskli HPV tiplerinin servikal karsinogeneizde rol oynadığı belirlenmiştir. Servikal kanserlerle prostat kanseri karşılaştırıldığında kansere neden olan faktörler ve klinik gidişat açısından bu iki kanser tipi bazı ortak özelliklere sahiptir^[3]. Birkaç çalışmada prostat kanseri ve benign prostat hiperplazileri (BPH)'nde HPV DNA varlığı gösterilmesine karşın diğer bazı çalışmalarda HPV varlığı gösterilmemiştir^[4,5]. Prostat kanseri ile HPV arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalarda HPV DNA pozitifliği açısından farklılıklar saptanmıştır. Bu farklı bulgular HPV DNA tespitinde kullanılan çeşitli yöntemlerin farklı duyarlılıklara sahip olması, prostatik örneklerdeki HPV'nin düşük kopya sayısı ve prostat tümörlerindeki histolojik ve genetik heterojeniteyle açıklanabilir. Sonuç olarak serolojik epidemiyoloji, prostat kanser prevalansı ve HPV-16 ya da HPV-18

antikor düzeyleri arasında bağlantı gösterememiştir^[3]. Bundan dolayı prostat karsinogeneizde HPV'nin muhtemel rolü hala açık değildir.

İnterlökin (IL)-10, T-helper tip 2 sitokin olup, IL-6 gibi proinflatuvar sitokinlerin üretimini ve hümmoral yanıtı baskılamakta ve enfeksiyon hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. IL-10 üretim düzeyleri, inflamatuvar ve hümmoral yanıt arasındaki dengeyi kontrol ederek immün düzenlemede kritiktir^[6,7]. IL-10 üretim kapasitesinin promotor bölge içindeki birkaç polimorfizme bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir^[8]. Promotor bölge içerisinde -1082, -819 ve -592 pozisyonlarındaki üç biallelik polimorfizm üç farklı haplotip meydana getirir. Bunlar, GCC, ACC ve ATA'dır^[9]. Literatürde IL-10 haplotipleri ve inflamatuvar hastalıklarının şiddeti arasında ilişki gösterilmesine rağmen prostat kanserinde HPV DNA pozitifliği ve IL-10 genotipleri arasında ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar bulunmamaktadır^[9,10]. IL-10 geninin promotor bölgesindeki heterojenite HPV enfeksiyonuna ilk yanıtın oluşmasında ve kalıcı HPV enfeksiyonunun gelişiminde bir rol oynayabilir.

Bu çalışmada, BPH ve prostat kanseri örneklerinde IL-10 -1082 A/G dağılımı ile HPV DNA pozitifliği arasındaki ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Hasta Popülasyonu

Prostat doku örnekleri 40 adenokarsinomali ve 68 BPH'li 108 hastadan toplandı. Örnekler 91 (%84.2) hastada transüretal rezeksiyon, 17 (%15.8) hastada radikal prostatektomi kullanılarak toplandı. Tüm doku örnekleri histolojik olarak incelendi. Kırk adenokarsinomali olgudan dokuzu skor 10 (%25), sekizi skor 9 (%20), dördü skor 8 (%10), yedisi skor 7 (%17.5), 11'i skor 6 (%27.5) ve biri skor 5 (%12.5) olarak tespit edildi. Hastaların tamamı Elazığ ili ve çevresinde yaşamaktaydı. Çalışma için Helsinki önerilerine göre yerel etik kuruldan onay alındı.

Genotipleme

Dokular formalinle fikse edilip parafine gömülmüştü. Parafin bloklardan sonraki analizler için üç parça $5 \pm 10 \mu\text{m}$ 'lik kalınlıkta kesitler alındı. Bir kesit hematoxilen-eozin ile boyanıp histopatolojik olarak değerlendirildi. Parafine gömülü tümör örneklerinden genomik DNA proteinaz K sindirimi, takiben fenol-kloroform ekstraksiyonu ve etanol ile çöktürme işlemleriyle elde edildi. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) için izole edilen DNA'nın kalitesinin belirlenmesi amacıyla beta-globulin geninin 268 bp uzunluğundaki bir parçası spesifik primerler kullanılarak çoğaltıldı^[11]. HPV tespiti ve IL-10 -1082 gen polimorfizminin genotiplenmesinde kullanılan primer dizileri Tablo 1'de verilmiştir. IL-10 -1082 tek nükleotid polimorfizminin (single nucleotide polymorphism; SNP) tespiti için allel spesifik PCR yöntemi kullanıldı^[6]. Isı profili; 95°C'de 30 saniyelik denatürasyon, 54°C'de

30 saniyelik bağlanma, 72°C'de 30 saniye uzama olacak şekilde 30 siklusa ayarlandı. PCR ürünleri, etidiyum bromid varlığında %2'lik agaroz jelde tespit edildi. DNA bantları ultraviyole ışık altında görüntülendi.

DNA örneklerinde HPV dizilerinin tespiti Khaled ve arkadaşlarının yöntemine göre analiz edildi^[12]. PCR için reaksiyon şartları; 94°C'de beş dakika ön denatürasyon, 94°C'de bir dakikalık denatürasyon, 54°C'de iki dakikalık bağlanma ve 72°C'de iki dakika uzama aşamalarını içerecek şekilde 39 siklusa gerçekleştirildi. Son döngüdeki uzama basamağı 10 dakika yapıldı. Amplikonlar ultraviyole ışık altında büyüklüklerine göre tanımlandı.

İstatistiksel Analizler

Veriler, %95 güven aralığında anlamlı olarak kabul edildi. Genotip ve HPV pozitiflik oranlarının gruplar arasında karşılaştırılması için ki-kare ve Fisher-exact testleri kullanıldı. HPV pozitifliği ve IL-10 genotipleri arasındaki ilişkinin tespiti için Pearson korelasyon ve Spearman Rho testleri yapıldı. p değerinin 0.05'ten küçük olması anlamlı olarak değerlendirildi. Tüm istatistiksel testlerin uygulanmasında SPSS 12.0 versiyonu kullanıldı (SPSS, Chicago IL, USA).

BULGULAR

Prostat doku örneklerinin tümü beta-globin için pozitif olarak bulundu ve PCR yöntemi kullanılarak HPV DNA araştırıldı. İlaveten IL-10 -1082 polimorfizminin allelik frekansları benign ve malign tümörlü hastalarda başarılı bir şekilde tespit edildi. Her iki gruptaki allel frekanslarının Hardy-Weinberg eşitliğine uyumlu olduğu bulundu. Prostat kanseri ve BPH doku örneklerinde IL-10 -1082 genotip dağılımları ki-kare testiyle karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

Yüz sekiz örneğin 31 (%28.7)'inde HPV DNA pozitif bulundu. Altmış sekiz BPH örneğinin 15 (%22)'inde ve 40 prostat kanseri örneğinin 16 (%40)'sında HPV DNA bulundu (Tablo 2). BPH ve prostat kanseri örnekleri HPV DNA pozitifliği açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p = 0.047$). HPV DNA pozitifliği ve IL-10 -1082 genotipleri tüm prostat doku örneklerinde değerlendirildiğinde herhangi bir ilişki saptanmadı ($p > 0.05$). Benzer şekilde HPV DNA pozitifliği ve IL-10 -1082 genotipleri arasında ilişki olup olmadığı prostat kansere-

Tablo 1. IL-10 -1082 polimorfizminin genotiplenmesi ve HPV DNA tespitinde kullanılan primer dizileri ve ürün büyüklükleri

	Primer dizisi	Ürün büyüklüğü
HPV	MY09: 5'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3' MY11: 5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'	450 bp
IL-10	5'-TGTAAGCTTCTGTGGCTGGA-3' 5'-CTACTAAGGCTTCTTTGGGAG-3' 5'-ACTACTAAGGCTTCTTTGGGAA-3	159 bp
HPV: İnsan papillomavirüs, IL-10: İnterlökin-10.		

Tablo 2. IL-10 -1082 genotiplerinin prostat kanseri ve BPH örneklerindeki dağılımları ve her bir IL-10 -1082 genotipindeki HPV DNA pozitiflik oranları

IL-10 -1082 genotipleri	PK	BPH	HPV pozitifliği
GG (n= 27)	9	18	5
GA (n= 39)	16	23	10
AA (n= 42)	15	27	16
Toplam (n= 108)	40	68	31

GG ve GA genotipleri, GG ve AA genotipleri, GA ve AA genotipleri HPV pozitifliği açısından karşılaştırıldığında genotiplerdeki HPV pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [p (GG ve GA)= 0.4; p (GG ve AA)= 0.08, p (GA ve AA)= 0.2]. PK: Prostat kanseri, BPH: Benign prostat hiperplazi, HPV: İnsan papillomavirüs.

ri ve BPH örneklerinde ayrı ayrı değerlendirildiğinde de herhangi bir ilişki tespit edilmedi ($p > 0.05$). Tablo 2'de prostat kanseri ve BPH'de HPV DNA pozitiflik oranları ve IL-10 -1082 genotip dağılımları gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Çalışmamızda HPV çalışmalarıyla paralel olarak prostat kanserli 40 hastadan ve BPH'li 68 hastadan allel spesifik PCR ile IL-10 -1082 A/G polimorfizmi analiz edildi. Mevcut çalışma parafine gömülü prostat dokularında IL-10 genindeki -1082 A/G polimorfizm genotipleri ve HPV DNA pozitifliği arasındaki ilişkilerin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmanın en önemli bulgusu prostat kanseri ve BPH grupları arasında HPV DNA pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmasıdır.

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, çeşitli viral enfeksiyonlar ve IL-10 genotipleri arasında ilişki olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda özellikle IL-10 geninin düşük üretim düzeyi ile beraberlik gösteren haplotiplerle enfeksiyonun şiddeti arasında bazı ilişkilerin olduğu tespit edilmiştir. Örneğin; IL-10 geninin polimorfizmi bazı yaygın herpes virüslere dirençle ilişkilidir. İlaveyen aynı gen, reaktivasyon sürecinde enfeksiyon şiddetini düzenlemede görev alır. Pozisyon -1082'deki A allelini taşıyan şiddetli Epstein-Barr virüs (EBV) enfeksiyonlu hastaların sayısının kontrol popülasyonuna kıyaslandığında arttığı belirlenmiştir^[13]. Diğer bir çalışmada ATA haplotip taşıyıcılarının herpes zosterli (dormant varisella zoster virüs; VZV) hastalarda artmış olduğu gözlenmiştir^[14]. ATA haplotipinin

IL-10'un düşük ürün oranıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı proinflatuvar sitokinlerin artan düzeylerinin VZV'nin reaktivasyonu ve EBV enfeksiyonunun şiddetinden sorumlu olması olasıdır. Fernandes ve arkadaşları HPV negatif ve HPV pozitif servikal lezyonlarda sitokin gen polimorfizmleri açısından önemli bir farklılık olmadığını saptamışlardır^[15]. Biz de çalışmamızda benzer şekilde prostat doku örneklerinde HPV DNA pozitifliği ile IL-10 genotipleri arasında ilişki olmadığını tespit ettik.

Bu çalışmada tespit edilen HPV DNA pozitiflik oranı, prostat kanseri ve BPH dokuları için daha önceden rapor edilmiş olan %0-61 oranının içerisinde yer almaktadır (Tablo 3)^[4,16-23]. Son zamanlarda prostat doku örneklerinde yapılan çalışmaların bazılarında HPV DNA tespit edilirken bazılarında tespit edilmemiştir^[24]. Daha önceki analizlerde de ortaya konan bu farklı verilerin nedenleri Cuzick ve Strickler tarafından tartışılmıştır. Prostat doku örnekleri HPV pozitifliğinin farklı frekansları için muhtemel açıklamalar popülasyonel, coğrafik, çevresel, gene-

Tablo 3. Prostatik dokularda HPV DNA frekansının literatür özeti

Yazar (kaynak no)	HPV	PK n (%)	BPH n (%)
McNicol et al. (16)	HPV-16	34/56 (%61)	14/27 (%52)
Moyret-Lalle et al. (4)	HPV-16	9/16 (%53)	7/22 (%32)
Wideroff et al. (17)	HPV	7/56 (%12.5)	4/42 (%15.2)
Leiros et al. (18)	HPV	%41.5	%0
Carozzi et al. (19)	HPV	%65.3	%48
Suzuki et al. (20)	HPV	8/51 (%16)	-
Silvestre et al. (21)	HPV	2/65 (%3)	-
Effert et al. (22)	HPV	0	-
Gazzaz et al. (23)	HPV-16 ve -18	0/56 (%0)	-
Chen et al. (3)	HPV	7/51 (%14)	3/11 (%27)
Bizim çalışmamız	HPV	16/40 (%40)	15/68 (%22)

HPV: İnsan papillomavirüs, PK: Prostat kanseri, BPH: Benign prostat hiperplazi, -: Değerlendirme yapılmamış.

tik heterojenite ve metodolojik problemler olabilir^[5,25]. HPV DNA'sı üretral ve anal dokularda tespit edildiğinden farklılıkların örnek alma prosedürleri boyunca HPV kontaminasyonundan kaynaklanabileceği de düşünülmektedir^[8,16]. Bu kontaminasyondan dolayı bazı yazarlar doku kaynağı olarak radikal prostatektomiye ya da neoplastik örneklerde mikrodiseksiyonu önermektedirler. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz prostat kanseri örneklerinin sadece bir kısmında radikal prostatektomi kullanılmıştır. Bu açıdan sonuçlarımızın diğer bazı çalışmalardan farklılıklar göstermesinin sebeplerinden biri de örneklerin bir kısmında üretral veya anal dokulardan HPV kontaminasyonlarının varlığı olabilir.

Prostatik lezyonlarda HPV enfeksiyonunun etyolojik rolü tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda HPV enfeksiyonunun prostatik neoplazide bir etyolojik role sahip olduğu ileri sürülürken, bazı raporlarda HPV'nin bu dokularda bulunma oranı çok düşük olduğu için HPV'nin prostatik kanser riskini artırmadığı ve HPV'nin prostat karsinogeninde nedensel bir role sahip olmadığı öne sürülmüştür^[6,17,19,21]. BPH'de HPV'nin etyolojik rolü BPH dokularında HPV DNA'nın düşük tespit oranlarından dolayı sorgulanabilir^[20]. Chen ve arkadaşları, prostatik hastalık ve HPV DNA varlığı veya daha önceden geçirilmiş HPV enfeksiyonu arasında bir ilişki gösterememişlerdir. Prostatik dokuda HPV DNA bulgusunun genellikle aktif enfeksiyonu göstermeyeceğini ya da prostatik hastalığın HPV'den kaynaklanmayabileceğini belirtmişlerdir. Bundan dolayı prostatik hastalıklı bireylerin geçici enfeksiyona sahip olabileceğini ifade etmişlerdir^[3]. Çalışmamızda analiz edilen örneklerde prostat kanseri (%40) ve BPH (%22) arasında HPV pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık bulunmuştur. HPV DNA'nın varlığı, HPV pozitifliğiyle prostat kanserlerinin en azından bir kısmının ilişkili olduğu varsayımını desteklemektedir. HPV ile enfekte bireylerde virüs genellikle temizlenmektedir. Ancak virüs özellikle devam eden enfeksiyona yol açarsa prostat kanserine neden olabilir. HPV DNA'nın varlığı hastaların en azından bir kısmında HPV'nin prostatı daha önceden infekte ettiğinin bir göstergesi olabilir.

Bozuk sitokin üretimi HPV'nin patolojik sürecine katkı sağlamaktadır^[7]. Monositler IL-10'un ana kaynağıdır ve IL-10 tarafından aktive edilen hücre sel immünite HPV-barındıran hücrelerin eliminasyonunda kritik roller oynamaktadır^[7,24,26]. IL-10 promotöründeki genetik heterojenite sitokin üretiminde değişikliğe neden olabilir^[8].

Xu ve arkadaşları, IL-10'un farklı üretimine neden olan IL-10 -1082 polimorfizminin prostat kanseri için risk faktörü olduğunu bulmuşlardır ve genin etkisini damarlanmada görev alarak yaptığını ileri sürmüşlerdir^[27]. McCarron ve arkadaşları, IL-10 AA genotipinin prostat kanserli hastalarda sağlıklı gruplara oranla arttığını rapor etmişlerdir^[28]. Fakat Michaud ve arkadaşları, IL-10 -1082 genotipi ve prostat kanseri riski arasında bir ilişki bulamamışlardır^[29]. Bu çalışmada prostat kanseri riski ve majör IL-10 haplotipleri arasında bir ilişki gözlemlenmedi. Prostat kanseri ve BPH grupları ki-kare testiyle ($p > 0.05$) analiz edildiğinde IL-10 -1082 için genotip frekanslarının oranları arasında anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir. Çalışmamızla diğer çalışmalar arasındaki farklılıkların en önemli nedenlerinden birinin polimorfizmlerin özellikle popülasyonlar arasında değişkenlik göstermesi olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; bu çalışmada HPV DNA pozitifliği açısından prostat kanseri ve BPH örnekleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. HPV DNA pozitifliğinin insanda prostat kanseri gelişiminde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Ancak bu çalışmanın bazı kısıtlayıcı özellikleri vardır. Çalışılan hasta sayısı azdır. HPV tiplmesi yapılmamıştır ve polimorfizm analizleri sadece parafin gömülü dokudan yapılmıştır. Bu konunun aydınlatılması için daha fazla epidemiyolojik ve moleküler biyoloji araştırmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ruijter E, van de Kaa C, Miller G, Ruiter D, Debruyne F, Schalken J. Molecular genetics and epidemiology of prostate carcinoma. *Endocr Rev* 1999; 20: 22-45.
2. Key T. Risk factors for prostate cancer. *Cancer Surv* 1995; 23: 63-77.
3. Chen AC, Waterboer T, Keleher A, Morrison B, Jindal S, McMillan D, Nicol D, Gardiner RA, McMillan NA, Antonsson A. Human Papillomavirus in benign prostatic hyperplasia and prostatic adenocarcinoma patients. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 613-7.
4. Moyret-Lalle C, Marçais C, Jacquemier J, Moles JP, Daver A, Soret JY, Jeanteur P, Ozturk M, Theillet C. Ras, p53 and HPV status in benign and malignant prostate tumors. *Int J Cancer* 1995; 64: 124-9.
5. Strickler HD, Burk R, Shah K, Viscidi R, Jackson A, Pizarro G, Bertoni F, Schiller JT, Manns A, Metcalf R, Qu W, Goedert JJ. A multifaceted study of human papillomavirus and prostate carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1118-25.

6. Opdal SH, Opstad A, Vege A, Rognum TO. IL-10 gene polymorphisms are associated with infectious cause of sudden infant death. *Hum Immunol* 2003; 64: 1183-9.
7. Farzaneh F, Roberts S, Mandal D, Ollier B, Winters U, Kitchener HC, Brabin L. The IL-10 -1082G polymorphism is associated with clearance of HPV infection. *BJOK* 2006; 13: 961-4.
8. Eskdale J, Gallagher G, Verweij CL, Keijsers V, Westendorp RG, Huizinga TW. Interleukin 10 secretion in relation to human IL-10 locus haplotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9465-70.
9. Roh JW, Kim MH, Seo SS, Kim SH, Kim JW, Park NH, Song YS, Park SY, Kang SB, Lee HP. Interleukin-10 promoter polymorphisms and cervical cancer risk in Korean women. *Cancer Lett* 2002; 184: 57-63.
10. Stanczuk GA, Sibanda EN, Perrey C, Chirara M, Pravica V, Hutchinson IV, Tswana SA. Cancer of the uterine cervix may be significantly associated with a gene polymorphism coding for increased IL-10 production. *Int J Cancer* 2001; 94: 792-4.
11. Shimizu H, Burns JC. Extraction of nucleic acids: sample preparation from paraffin-embedded tissues. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ (ed). *PCR Strategies*. 1st ed. London: Academic Press, 1995: 32-8.
12. Khaled HM, Bahnassi AA, Zekri AR, Kassem HA, Mokhtar N. Correlation between p53 mutations and HPV in bilharzial bladder cancer. *Urol Oncol* 2003; 21: 334-41.
13. Helminen M, Lahdenpohja N, Hurme M. Polymorphism of the interleukin-10 gene is associated with susceptibility to Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 1999; 180: 496-9.
14. Haanpa M, Nurmikko T, Hurme M. Polymorphism of the IL-10 gene is associated with susceptibility to Herpes zoster. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 112-4.
15. Fernandes AP, Gonçalves MA, Simões RT. A pilot case-control association study of cytokine polymorphisms in Brazilian women presenting with HPV-related cervical lesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 140: 241-4.
16. McNicol PJ, Dodd JD. High prevalence of human papillomavirus in prostate tissue. *J Urol* 1991; 145: 850-3.
17. Wideroff L, Schottenfold D, Carey TE, Beals T, Fu G, Sakr W, Sarkar F, Schork A, Grossman HB, Shaw MW. Human papillomavirus DNA in malignant and hyperplastic prostate tissue of black and white males. *Prostate* 1996; 28: 117-23.
18. Leiros G, Galliano SR, Sember ME, Kahn T, Schwarz E, Eiguchi K. Detection of human papillomavirus DNA and p53 codon 72 polymorphism in prostate carcinomas of patients from Argentina. *Bmc Urology* 2005; 24: 1-7.
19. Carozzi F, Lombardi FC, Zendron P, Confortini M, Sani C, Bisanzzi S, Pontenani G, Ciatto S. Association of human papillomavirus with prostate cancer: analysis of a consecutive series of prostate biopsies. *Int J Biol Markers* 2004; 19: 257-61.
20. Suzuki S, Komiya A, Aida S, Ito H, Yatani R, Shimazaki J. Detection of papillomavirus DNA and p53 gene mutation in human prostatic cancer. *Prostate* 1996; 28: 318-24.
21. Silvestre RV, Leal MF, Demachki S, Nahum MC, Bernardes JG, Rabenhorst SH, Smith Mde A, de Mello WA, Guimarães AC, Burbano RR. Low frequency of human papillomavirus detection in prostate tissue from individuals from Northern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009; 104: 665-7.
22. Effert PJ, Frye RA, Neubauer A, Liu ET, Walther PJ. Human papillomavirus types 16 and 18 are not involved in human prostate carcinogenesis: analysis of archival human prostate cancer specimens by differential polymerase chain reaction. *J Urol* 1992; 147: 192-6.
23. Gazzaz FS, Mosli HA. Lack of detection of human papillomavirus infection by hybridization test in prostatic biopsies. *Saudi Med J* 2009; 30: 633-7.
24. Munger K, Scheffner M, Huibregtse JM, Howley PM. Interactions of HPV E6 and E7 oncoproteins with tumour suppressor gene products. *Cancer Surv* 1992; 12: 197-217.
25. Cuzick J. Human papillomavirus infection of the prostate. *Cancer Surv* 1995; 23: 91-5.
26. Mosmann TR. Properties and functions of interleukin-10. *Adv Immunol* 1994; 56: 1-26.
27. Xu J, Lowey J, Wiklund F, Sun J, Lindmark F, Hsu FC, Dimitrov L, Chang B, Turner AR, Liu W, Adami HO, Suh E, Moore JH, Zheng L, Isaacs W, Trent JM, Grönberg H. The interaction of four genes in the inflammation pathway significantly predicts prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2563-8.
28. McCarron SL, Edwards S, Evans PR, Gibbs R, Dearnaley DP, Dowe A, Southgate C. Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 3369-72.
29. Michaud DS, Daugherty SE, Berndt SI, Platz EA, Yeager M, Crawford ED, Hsing A, Huang WY, Hayes RB. Genetic polymorphisms of interleukin-1B (IL-1B), IL-6, IL-8, and IL-10 and risk of prostate cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 4525-30.

Yazışma Adresi /Address for Correspondence

Yrd. Doç. Dr. Ebru ETEM

Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ-Türkiye

E-posta: ebruetem@gmail.com