

# ÇEŞİTLİ GASTROİNTESTİNAL KARSİNOM ÖRNEKLERİNDE İNSAN PAPİLLOMAVİRUS DNA VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI\*

## INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNA IN VARIOUS GASTROINTESTINAL CARCINOMA SAMPLES

Deniz EROL<sup>1</sup>, Yasemin BULUT<sup>2</sup>, Hüseyin YÜCE<sup>1</sup>, İbrahim Hanifi ÖZERCAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.  
(denizerol@gmail.com)

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

<sup>3</sup> Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

### ÖZET

Günümüzde servikal kanserlerdeki rolü iyi tanımlanmış olan insan papillomavirusları (HPV), diğer tip kanser dokularında da genellikle tespit edilebilmektedir. Son yıllarda kolorektal kanser dokularında HPV DNA'sının gösterilmesi, HPV enfeksiyonunun gastrointestinal kanser gelişimiyle de ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Bu çalışmada, çeşitli gastrointestinal sistem karsinomu olan hastaların tümör dokuları ile tümöre komşu normal dokularında HPV-DNA varlığının araştırılması ve pozitif örneklerdeki HPV tiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 38 mide, 42 kolon, 20 rektum, 4 özofagus ve 2 ince bağırsak kanseri olan toplam 106 (59 erkek, 47 kadın; yaş aralığı: 25-80 yıl, yaş ortalaması 57.03 ± 1.29 yıl) hasta dahil edilmiştir. Hastalara ait parafine gömülü tümör ve tümöre komşu normal dokulardan DNA izolasyonu yapılmış ve ekstraksiyonun başarısı beta-globin primerlerinin kullanıldığı PCR ile kontrol edilmiştir. Buna göre tümör dokularının 100 tanesinden ve normal komşu dokuların tümünden (n= 106) DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilebilmiştir. HPV-DNA varlığı GP5/GP6 genel primerleri ile konsensus PCR yöntemiyle araştırılmış, pozitiflik saptanan örnekler tiplendirme için HPV tip 11, 16, 18 ve 33'e özgül primerler kullanılarak PCR uygulanmıştır. Çalışmamızda, tümör doku örneklerinin %41 (41/100)'ünde ve tümöre komşu normal dokuların %31 (33/106)'ünde HPV-DNA varlığı tespit edilmiştir. Tümör ve komşu normal dokular arasında HPV-DNA pozitifliği açısından istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir (p> 0.05). Mide örneklerinin %44.7 (17/38)'si, kolon örneklerinin %35.1 (13/37)'i, rektum örneklerinin %47.3 (9/19)'ü, özofagus örneklerinin %25 (1/4)'i ve ince bağırsak örneklerinin %50 (1/2)'si HPV-DNA pozitif olarak bulunmuştur. HPV-DNA pozitif 41 tümör dokusu örneğinin 16'sı (8 örnek tip 16, 3 örnek tip 18, 5 örnek tip 33) ve 33 normal doku örneğinin 5'i (3 örnek tip 18, 2 örnek tip 33) tiplendirilebilmiş, tümör dokularının 2'sinde iki farklı tip HPV-DNA pozitifliği (birinde tip 16 + tip 33; birinde tip 18 + tip 33) saptanmıştır. Sonuç olarak, gastrointestinal sistemin gerek tümör dokularında gerekse tümöre

\* Bu çalışma, 3. Ulusal Viroloji Kongresi (9-13 Aralık 2007, Uludağ)'nde poster olarak sunulmuştur.

komşu normal dokularında saptadığımız yüksek HPV-DNA oranları, bu tip kanserlerde de HPV'nin rolü olabileceğini düşündürmekle birlikte, neden-sonuç ilişkisinin kurulabilmesi için daha ileri araştırmalara gereksinim olduğu açıktır.

**Anahtar sözcükler:** Gastrointestinal kanser, insan papillomavirusu, HPV, PCR.

## ABSTRACT

The role of human papillomavirus (HPV) has been well established in the pathogenesis of cervical cancers. However, HPV-DNA has also been detected in tumor tissues of other malignancies. Recently, detection of HPV-DNA in gastrointestinal cancer tissues with in-situ hybridization and PCR technologies has suggested possible role of HPV in gastrointestinal cancers. In this study, it was aimed to investigate the presence of HPV in the tumor tissues and adjacent normal tissues of gastrointestinal cancers and to determine the types of HPV in positive cases. The study included a total of 106 (59 male, 47 female, age range: 25-80 years, mean age: 57.03 ± 1.29 years) patients, of them 38 had gastric, 42 colon, 20 rectal, 4 esophageal and 2 small intestinal cancers. Genomic DNAs were isolated from the parafin embedded specimens of tumor and tumor-adjacent normal tissues and the performance of the extraction process was controlled with PCR using beta-globin primer. DNA extraction was achieved in 100 of the tumor tissues and in all of the tumor adjacent normal tissues (n= 106). HPV-DNA was searched by using GP5/GP6 primers and consensus PCR method. HPV-positive DNA samples were further typed by using HPV-11, 16, 18, 33 specific primers. HPV-DNA was detected in 41% (41/100) of tumor tissue samples and 31% (33/106) of tumor-adjacent normal tissue samples. There was no statistically significant difference in terms of HPV-DNA positivity between tumor and tumor-adjacent normal tissues (p> 0.05). HPV-DNA was detected in 44.7% (33/106) of gastric samples, 35.1% (13/37) of colon samples, 47.3% (9/19) of rectal samples, 25% (1/4) of esophagus samples and 50% (1/2) of small intestine samples. Eight of the HPV positive tumor tissues revealed HPV type 16, three type 18 and five type 33, while three of normal tissue samples revealed type 18 and two type 33. Two different HPV types together were detected in two tumor samples, one being type 16 + type 33 and the other being type 18 + type 33. Although these results indicating the presence of HPV-DNA in gastrointestinal tumor and adjacent normal tissues, suggest a possible role of HPV in gastrointestinal tumors, further studies are necessary for the establishment of a definite causative role.

**Key words:** Gastrointestinal cancer, human papillomavirus, HPV, PCR.

## GİRİŞ

Uzun süre siğil virusları olarak bilinen insan papillomavirusları (HPV)'na karşı ilgi, bu virusların insan kanserlerinin yaygın bir formu olan serviks kanserleriyle olan ilişkisinin belirlenmesinden sonra artmıştır<sup>1,2</sup>. Bunun sonucu olarak yoğunlaşan çalışmalar, bugün için bu virusun 100'den fazla farklı tipinin tanımlanmasına olanak sağlamıştır<sup>3</sup>. 1980'li yıllarda belirli HPV tipleri ile özellikle servikal kanser arasında güçlü bir ilişkinin gözlenmesiyle, papillomavirusların hücrelerin malignant dönüşümüne aracılık etme yetenekleri dikkati çekmiştir. Yapılan çalışmalar, virusun transformasyon özelliğinin bazı viral genlerin aktivasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiş, özellikle E6 ve E7 genlerinin hücreleri transforme edebildiği tespit edilmiştir<sup>4</sup>.

HPV-DNA'sı, tüm insan kanserlerinin yaklaşık %10'unda saptanmakta ve servikal kanser dışında diğer kanser tiplerinde de (baş ve boyun kanserleri, oral kanser, özofageal kanser, bazı deri kanserleri, akciğer kanseri) gösterilebilmektedir<sup>2,5</sup>. Polimeraz zincir re-

aksiyonu (PCR) ve in situ hibridizasyon teknikleri ile kolorektal kanser dokularında HPV-DNA tespiti, HPV enfeksiyonunun kolorektal kanser gelişimiyle de ilişkili olabileceğini desteklemektedir<sup>5-7</sup>. Bu çalışmanın amacı, çeşitli gastrointestinal karsinom örneklerinde HPV-DNA varlığının araştırılması ve HPV tiplerinin belirlenmesidir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Örnekler

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi (FÜTF) İnsan Araştırmaları Etik Kurulunca onaylanan çalışmada, FÜTF Patoloji Anabilim Dalında patolojik olarak gastrointestinal karsinom tanısı almış 106 hastaya ait tümör örnekleri ve aynı hastaların tümöre komşu olan normal doku örnekleri kullanıldı. Örneklerin toplanması aşamasında, arşiv taraması yapılarak gastrointestinal sistemin özofagus, mide, kolon, ince bağırsak ve rektum bölgelerini içeren karsinomlu hastalar tespit edildi. Çalışmaya alınan olgularda (59 erkek, 47 kadın; yaş aralığı: 25-80 yıl, yaş ortalaması  $57.03 \pm 1.29$  yıl) tümörlerin lokalizasyonu ve histolojik tipleri Tablo 1'de gösterildi.

### DNA İzolasyonu

Genomik DNA izolasyonu tümör dokusu ve komşu normal dokuyu içeren parafine gömülü dokulardan elde edilen kesitlerden gerçekleştirildi. Bu hastalara ait histolojik preparatlar mikroskop altında incelenerek tümör dokusu ve normal doku örneği içeren preparatlar ve daha sonra bunlara ait parafin bloklar elde edildi. Parafine gömülü dokulardan 5 µm'lik kesitler alınarak ependorf tüplerde saklandı. Örnek toplanması tamamlandıktan sonra DNA izolasyonu aşamasına geçildi. Parafin blok kesitlerinden DNA izolasyonu Kalcan ve arkadaşlarının<sup>8</sup> protokolüne göre uygulandı. Özetle 5 µm olarak alınan kesitler 500 µml proteinaz K'lı sindirim tamponu (20 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, %0.2'lik SDS) ile bir gece 37°C'de inkübe edildi. Dokudaki DNA, fenol: kloroform:izoamil alkol (25:24:1) tekniği kullanılarak saflaştırıldı ve etanol presipitasyon ile toplandı.

**Tablo 1.** Hastalarda Tümörlerin Lokalizasyonu ve Histolojik Tiplerinin Dağılımı

	Mide (n= 38)	Kolon (n= 42)	Rektum (n= 20)	Özofagus (n= 4)	İnce bağırsak (n= 2)
İyi diferansiyel adenokarsinom	2	5	2	-	-
Orta diferansiyel adenokarsinom	13	27	15	2	2
Az diferansiyel adenokarsinom	10	5	-	1	-
Karsinoid tümör	1	-	-	-	-
Taşlı yüzük hücreli karsinom	4	-	-	-	-
Müsinöz karsinom	3	3	3	-	-
Difüz büyük B hücreli karsinom	2	-	-	-	-
Adenoskuamöz karsinom	1	2	-	1	-
Difüz infiltratif karsinom	2	-	-	-	-

## PCR

Tüm doku kesitlerinden elde edilen DNA'lar ve beta-globin primerleri ile PCR yapılarak<sup>9</sup> ekstraksiyonun başarısı kontrol edildi. Beklenen bant boyutunda DNA'nın gözlenmediği örnekler için parafin blok kesitlerinden tekrar DNA izolasyonu yapıldı.

Çalışmamızda HPV konsensus PCR ve tipe özgül multipleks PCR için pozitif kontrol örneği olarak ve PCR'nin optimizasyonu için Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında rutin çalışmalar esnasında pozitif olarak tespit edilen hasta DNA'ları kullanıldı. HPV-DNA genotiplendirmesi için, öncelikle hangi örneklerde HPV'nin olduğunu araştırmak amacıyla GP5/GP6 genel primerleri kullanılarak PCR çalışıldı<sup>10</sup>. Agaroz jel elektroforezi sonucunda beklenildiği gibi 145 baz çifti (bç) uzunluğunda bant gözlenen örnekler HPV enfeksiyonu yönünden pozitif olarak değerlendirildi.

HPV-DNA pozitifliği saptanan örneklerin tiplendirilmesi için HPV tip 11, 16, 18 ve 33'e özgül primerler kullanılarak iki ayrı reaksiyon tüpü içerisinde PCR uygulandı<sup>10</sup>. Bant boyutları birbirinden oldukça farklı olan HPV-16 ve 33 birlikte, HPV-11 ve 18 birlikte çalışıldı. HPV-16 için özgül primer dizisi daha önce iyi çalıştığı bilinen farklı bir makaleden alındı<sup>11</sup>. İkili multipleks PCR ile tespit edilen HPV tipi, kontrol amaçlı tekrar tek başına çalışıldı ve görüntüldü.

PCR reaksiyon karışımları, beta-globin ve GP5/GP6'ya özgül PCR için 25 µl ile; HPV tiplerine özgül PCR için ise her iki tip primer çiftinden (HPV-16 ve 33 birlikte, HPV-11 ve 18 birlikte) konularak 50 µl ile çalışıldı. PCR reaksiyonu için, 1.25 U Taq DNA polimeraz (Sigma, Germany), 2 mM dNTP, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl ile 10 mM Tris-HCl (pH: 8.3) tamponu (10X buffer) içeren master miks solüsyonu, DNA içeren tüplere eklenerek son hacme tamamlandı. Tüm PCR amplikonları %2'lik agaroz jel elektroforezi ile analiz edildi.

Çalışmada kullanılan primerler İontek (İstanbul, Türkiye) firmasına sentezlettilirdi. Primerlerin tümü 20 pmol olarak kullanıldı. Satın alınan primerlerin nükleotid dizisi ve elde edilen PCR ürününün büyüklüğü Tablo II'de gösterildi.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için Windows SPSS 11.0 versiyonu ile ki-kare testi uygulandı. P değerinin < 0.05 olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

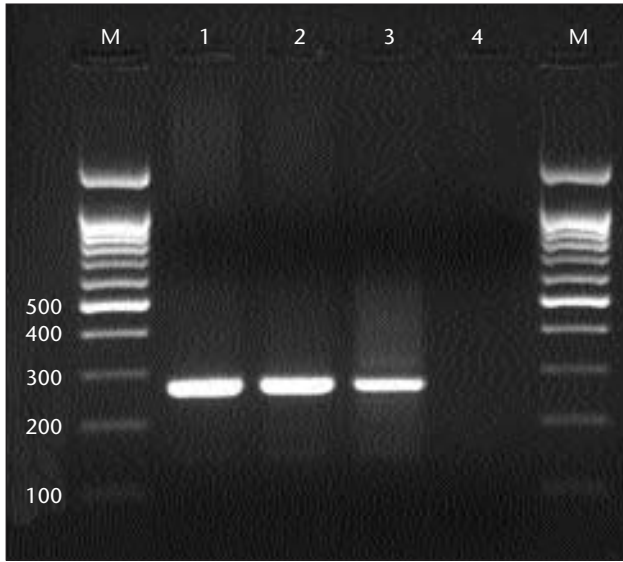
## BULGULAR

Çalışmamızda, beta-globine özgül PCR ile doku kesitlerinden elde edilen DNA'lardan 268 bç uzunluğunda ürünü gösteren bantlar elde edilmiştir (Resim 1). Tümör dokularının tümünden (n= 106) DNA eldesi gerçekleştirilirken, birkaç kez izolasyona rağmen 106 normal dokunun 6'sından DNA elde edilememiştir.

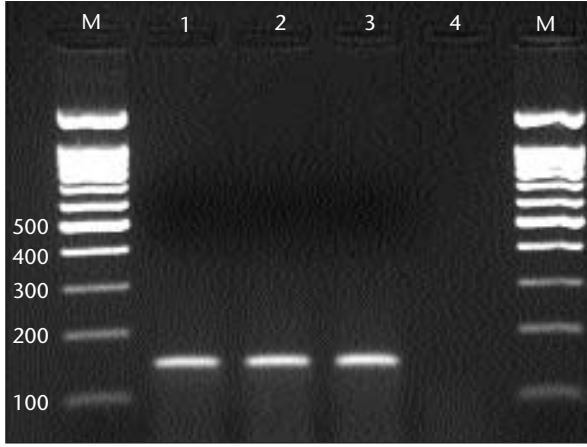
Örneklerde HPV-DNA varlığını araştırmak amacıyla GP5/GP6 genel primerleri ile tümör dokularının 100'üne ve normal dokuların hepsine PCR uygulanmış; 145 bç uzunluğunda bant gözlenen örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Resim 2). Buna göre, tümör dokularının %41 (41/100)'inde ve tümöre komşu normal dokuların %31 (33/106)'inde HPV-DNA pozitifliği tespit edilmiş, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p> 0.05).

**Tablo II.** PCR Yönteminde Kullanılan Primerlerin Dizileri ve Ürün Büyüklükleri

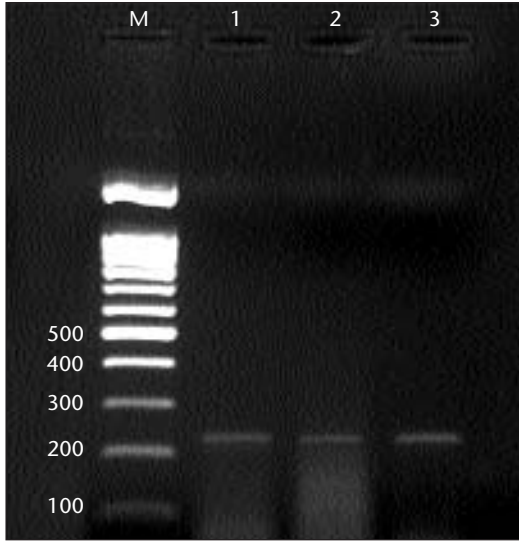
Primerler	Dizi (5'-3')	PCR ürünü (bç)
Beta-globin F	GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC	268
Beta-globin R	CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC	
GP5	TTT GTT ACT GTG GTA GAT AC	139-145
GP6	GAA AAA TAA ACT GTA AAT CA	
HPV18F	AAA CTA ACT AAC ACT GGG TTA TAC A	143
HPV18R	ATG GCA CTG GCC TCT ATA GT	
HPV16F	TCG ATG TAT GTC TTG TTG CAG	225
HPV16R	GGT TAC AAT ATT GTA ATG GGC	
HPV11F	TGT GTG GCG AGA CAA CTT TCC CTT	236
HPV11R	TGG TTA TTT AGT TTT ATG AAG CGT GCC TTT CCC	
HPV33F	AAC AGT TAA AAA ACC TTT AAA	171
HPV33R	AGT TTC TCT ACG TCG GGA CCT C	

**Resim 1.** Beta-globine özgül PCR ile elde edilen sonuçlar. Hat 1, 2, 3: 268 bç'lik bant elde edilen örnekler; Hat 4: Negatif kontrol; M: 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci.

HPV tiplerine özgül primerler ile yapılan PCR sonucunda, HPV-DNA pozitif 41 tümör dokusu örneğinin 16'sı (8 örnek tip 16, 3 örnek tip 18, 5 örnek tip 33) ve 33 normal doku örneğinin 5'i (3 örnek tip 18, 2 örnek tip 33) tiplendirilebilmiştir (Resim 3-5). Tümör dokularının ikisinde iki farklı tip HPV-DNA pozitifliği (birinde tip 16 + tip 33; birinde tip 18 + tip 33) tespit edilmiştir. Doku örneklerinin hiçbirisinde HPV tip 11'e rastlanmamıştır.

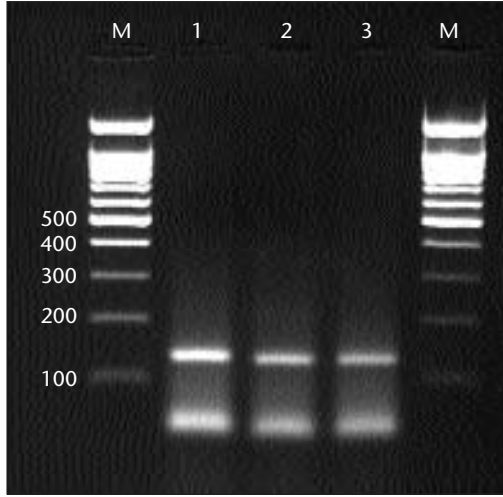


**Resim 2.** GP5/GP6 primerleri ile elde edilen PCR sonucu. Hat 1, 2, 3: 145 bç'lik bant elde edilen HPV-DNA pozitif örnekler; Hat 4: Negatif kontrol; M: 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci.

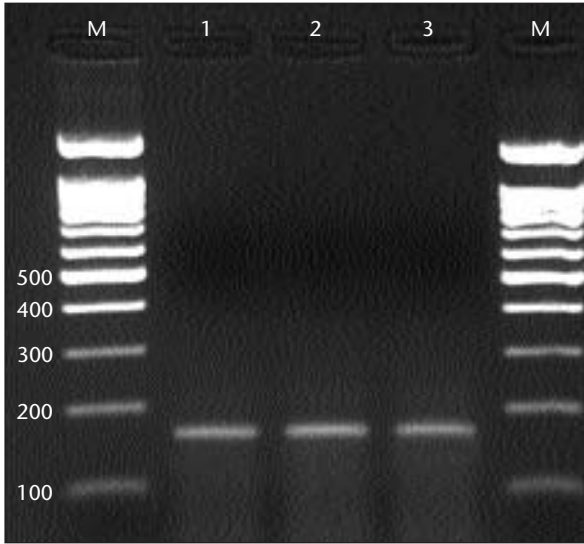


**Resim 3.** HPV-16 için PCR sonucu. Hat 1, 2, 3: 225 bç'lik bant elde edilen pozitif örnekler; M: 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci.

Tümör dokusunun lokalizasyonuna göre HPV pozitifliğinin dağılımı değerlendirildiğinde; mide örneklerinin %44.7 (17/38)'sinde, kolon örneklerinin %35.1 (13/37)'inde, rektum örneklerinin %47.3 (9/19)'ünde, özofagus örneklerinin %25 (1/4)'inde ve ince bağırsak örneklerinin %50 (1/2)'sinde HPV-DNA varlığı tespit edilmiştir. Tümör dokularının histolojik tiplerine göre HPV pozitifliği ve tip dağılımı Tablo III'te görülmektedir.



**Resim 4.** HPV-18 için PCR sonucu. Hat 1, 2, 3: 143 bç'lik bant elde edilen pozitif örnekler; M: 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci.



**Resim 5.** HPV-33 için PCR sonucu. Hat 1, 2, 3: 171 bç'lik bant elde edilen pozitif örnekler. M: 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci.

## TARTIŞMA

İnsan kanserlerinin gelişiminde virusların olası rolü son 50 yıldır yoğun bir şekilde çalışılmış ve çeşitli kanserler ile bazı DNA ve RNA virusları arasındaki ilişkiler saptanmıştır<sup>12</sup>. Karsinogenezde rol oynayan DNA tümör viruslarından en önemlisi HPV'dir<sup>13</sup>. HPV'nin servikal kanser ile ilişkisinin netlik kazanmasının yanında<sup>14,15</sup> kolorektal kanserlerle olan ilişkisi de dikkati çekmektedir. 2001 yılında Lee ve arkadaşlarının<sup>16</sup> kolorektal kanserli 19

**Tablo III. Tümör Dokularının Histolojik Tiplerine Göre HPV Pozitifliği ve Saptanan HPV Tipleri**

Dokuların histolojik tipi	HPV-DNA pozitif örnek sayısı				
	HPV-16	HPV-18	HPV-33	Tiplendirilmeyen	
İyi diferansiye adenokarsinom	1			1	
Orta diferansiye adenokarsinom	24	5	2	3	14
Az diferansiye adenokarsinom	8	2	1		5
Müsinöz karsinom	4	1		2	1
Difüz büyük B hücreli karsinom	1				1
Adenoskuamöz karsinom	2				2
Difüz infiltratif karsinom	1				1
Toplam	41	8	3	5	25

hastanın tümör dokusu ve normal komşu dokularında yaptıkları çalışmada, tümör dokularının %84'ünde, normal mukozanın ise %53'ünde HPV-18 varlığı tespit etmişler ve HPV-18 enfeksiyonunun kolorektal kanserle ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. 2005 yılında yayınlanan bir çalışmada da, kolorektal kanserli 55 olgunun tümör ve normal dokuları ile kanser olmayan 10 bireyin normal dokuları HPV açısından incelenmiş ve hastaların %51'inin tümör dokusunda, %29'unun ise normal komşu dokularında HPV-DNA saptanırken, sağlıklı bireylere ait dokuların hiçbirisinde pozitiflik tespit edilmemiştir<sup>5</sup>. Bu bulgulara göre araştırmacılar, HPV'nin kolorektal kanserin patogeneziinde bir rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir<sup>5</sup>. Buyru ve arkadaşlarının<sup>17</sup> bir Türk popülasyonunda 53 kolon kanserli hastanın tümör örneği ve normal komşu dokularında HPV tip 6, 11, 16, 18 ve 33'ün varlığını araştırdıkları çalışmada, tümörlü dokuların 43 (%81.2)'ünde, normal dokuların ise 12 (%32)'sinde HPV-DNA pozitifliği bulunmuştur. Bu çalışmada en sık tespit edilen tipler HPV-18 ve HPV-33 olmuş; normal komşu doku örneklerinde ise en fazla tip 16 (%15) ve tip 11 (%13.2) saptanırken, tip 18'e rastlanmamıştır<sup>17</sup>. Buyru ve arkadaşları<sup>17</sup> da, yüksek riskli HPV tiplerinin malign lezyonlarda yüksek sıklıkta bulunduğunu ve HPV enfeksiyonunun kolorektal karsinomda rol oynayabileceğini ileri sürmektedirler.

Çalışmamızda, tümör dokusu örneklerinin %41 (41/100)'inde ve tümöre komşu normal doku örneklerinin %31 (33/106)'inde HPV-DNA pozitif olarak tespit edilmiş, bu örneklerin sırasıyla 16 ve 5 tanesinde araştırılan HPV tiplerinden en az birisinin varlığı bulunmuştur. Buna göre tümör örneklerinin 8'inde tip 16, 3'ünde tip 18 ve 5'inde tip 33 saptanırken, birer örnekte tip 16 + tip 33 ve tip 18 + tip 33 birlikteliği belirlenmiştir. Komşu normal dokulardaki tip dağılımı ise, 3 örnekte tip 18 ve 2 örnekte tip 33 olarak belirlenmiştir. Tümör ve komşu normal doku örneklerinin hiçbirinde HPV-11 tespit edilmemiştir. HPV-DNA pozitif tümör dokusu örneklerinde tiplendirme oranımız %39 (16/41), normal komşu doku örneklerinde ise %15 (5/33) olmuştur. Bu düşük oranlar, PCR sonucunda oluşan bantların zayıflığından ya da dokularda, araştırdığımız HPV tiplerinin dışında kalan diğer tiplerin varlığından kaynaklanmış olabilir.



Tümör dokularının lokalizasyonuna göre HPV-DNA pozitifliğinin dağılımı incelendiğinde; 38 mide örneğinin 17 (%44.7)'sinde, 37 kolon örneğinin 13 (%35.1)'ünde, 19 rektum örneğinin 9 (%47.3)'ünde, 4 özofagus örneğinin 1 (%25)'inde ve iki ince bağırsak örneğinin 1 (%50)'inde HPV pozitifliği gözlenmiştir. Çalışmamızda, gastrointestinal sistem kanserli olguların tümör dokularında %41, tümöre komşu normal dokularında %31 gibi yüksek oranlarda HPV-DNA pozitifliği saptanmış; tümör ve normal dokularda saptanan oranlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). Bunun nedeni, kullanılan normal komşu dokuların tümör dokusundan yeterince iyi ayrılmamış olmasından ve komşu dokulara HPV DNA'sının kontaminasyonundan kaynaklanmış olabilir. Bodaghi ve arkadaşlarının<sup>5</sup> çalışmasında, kolorektal kanserli olguların %51 (28/55)'inin tümör dokusunda, %29 (15/52)'unun ise tümöre komşu normal dokularında HPV-DNA varlığı saptanmış ve komşu dokularda bir kontaminasyon olasılığının ortadan kaldırılması için 10 yeni hastada kontaminasyonu önleyecek önlemler alınarak tekrar bir çalışma yapılmıştır. Araştırmacılar çalıştıkları bu yeni grupta da üç tümör dokusu ile bir komşu dokuda HPV-DNA varlığı saptamışlar ve HPV enfeksiyonunun kolorektal kanser dokusu ve normal komşu dokularda yaygın olarak görülebileceğini ileri sürmüşlerdir<sup>5</sup>.

Sonuç olarak, gastrointestinal sistemin gerek tümör dokularında gerekse tümöre komşu normal dokularında saptadığımız yüksek HPV-DNA oranları, bu tip kanserlerde de HPV'nin rolü olabileceğini düşündürmekle birlikte, neden-sonuç ilişkisinin kurulabilmesi için daha ileri araştırmalara gereksinim olduğu açıktır.

## KAYNAKLAR

1. Ishiji T. Molecular mechanism of carcinogenesis by human papillomavirus-16. *J Dermatol* 2000; 27: 73-86.
2. Hausen H, de Villiers EM. Human papillomaviruses. *Ann Rev Microbiol* 1994; 48: 427-47.
3. Campisi G, Panzarella V, Giuliani M, et al. Human papillomavirus: its identity and controversial role in oral oncogenesis, premalignant and malignant lesions. *Int J Oncol* 2007; 30: 813-23.
4. Beutner KR, Tyring S. Human papillomavirus and human disease. *Am J Med* 1997; 102(5A): 9-15.
5. Bodaghi S, Yamanegi K, Xiao SY, Da Costa M, Palefsky JM, Zheng ZM. Colorectal papillomavirus infection in patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2862-7.
6. Damin DC, Caetano MB, Rosito MA, et al. Evidence for an association of human papillomavirus infection and colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 569-74.
7. 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.
8. Kalkan A, Ozdarendeli A, Bulut Y, Yekeler H, Cobanoglu B, Doymaz MZ. Investigation of Epstein-Barr virus DNA in formalin-fixed and paraffin-embedded breast cancer tissues. *Med Princ Pract* 2005; 14: 268-71.
9. Thompson CH. Identification and typing of molluscum contagiosum virus in clinical specimens by polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1997; 53: 205-11.
10. Soulitzis N, Sourvinos G, Dokianakis DN, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism and its association with bladder cancer. *Cancer Lett* 2002; 179: 175-83.
11. Ahn WS, Bae SM, Chung JE, et al. Evaluation of adeno-associated virus 2 and human papillomavirus 16 and 18 infection in cervical cancer biopsies. *Gynecol Oncol* 2003; 89: 105-11.
12. Reiss K, Khalili K. Viruses and cancer: lessons from the human polyomavirus, JCV. *Oncogene* 2003; 22: 6517-23.

13. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Robbins Temel Patoloji. 2003, 7. Baskı. Çevikbaş U (Çeviri Ed). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
14. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *Can Med Assoc J* 2001; 164: 1017-25.
15. Ergünay K, Misirlioglu M, Firat P, et al. Detection and typing of human papilloma virus by polymerase chain reaction and hybridization assay in cervical samples with cytological abnormalities. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 273-82.
16. Lee YM, Leu SY, Chiang H, Fung CP, Liu WT. Human papillomavirus type 18 in colorectal cancer. *J Microbiol Immunol Infect* 2001; 34: 87-91.
17. Buyru N, Tezol A, Dalay N. Coexistence of K-ras mutations and HPV infection in colon cancer. *BMC Cancer* 2006; 6: 115.