

Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie



**lek. Adam Kurpik**

## **Infekcja HPV u mężczyzn oraz jej udział w etiologii raka gruczołu krokowego**

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu

**Promotor prof. dr hab. n. med. Marcin Słojewski**

Projekt naukowy realizowany w Klinice Urologii i Onkologii Urologicznej  
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Szczecin 2023

**Promotorowi, Panu Profesorowi Marcinowi Słojewskiemu,  
składam serdeczne podziękowania za wsparcie, motywację  
oraz cenną pomoc włożoną w opracowanie niniejszej pracy.**

**Rodzinie  
dziękuję za cierpliwość i wyrozumiałość.**

## Spis treści

Spis skrótów użytych w tekście .....	5
Wprowadzenie .....	6
Epidemiologia raka gruczołu krokowego.....	6
Czynniki ryzyka rozwoju raka gruczołu krokowego.....	7
Onkogeneza raka gruczołu krokowego .....	8
Klasyfikacja raka gruczołu krokowego .....	9
System Gleasona.....	11
Budowa anatomiczna gruczołu krokowego.....	12
Embriologia układu płciowego – wybrane zagadnienia .....	13
Wirus brodawczaka ludzkiego (HPV) .....	15
Infekcja wirusem brodawczaka ludzkiego u mężczyzn oraz jego korelacja z rakiem stercza.....	16
Założenia projektu badawczego na podstawie wspólnej embriogenezy narządów płciowych u kobiet i mężczyzn.....	17
Cel pracy.....	20
Materiał i metody.....	21
Badany materiał.....	21
Testy DNA HPV .....	23
Metody statystyczne .....	24
Charakterystyka chorych włączonych do badania .....	24
Wyniki.....	27
Charakterystyka pełnej grupy badanej.....	27
Charakterystyka podgrupy 1 .....	30
Charakterystyka podgrupy 2.....	30
Wyniki testu na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego .....	33
Omówienie wyników .....	35
Wnioski.....	43
Ograniczenia pracy .....	44
Streszczenie .....	45
Summary.....	47
Spis tabel .....	49
Spis rycin.....	50
Piśmiennictwo .....	51

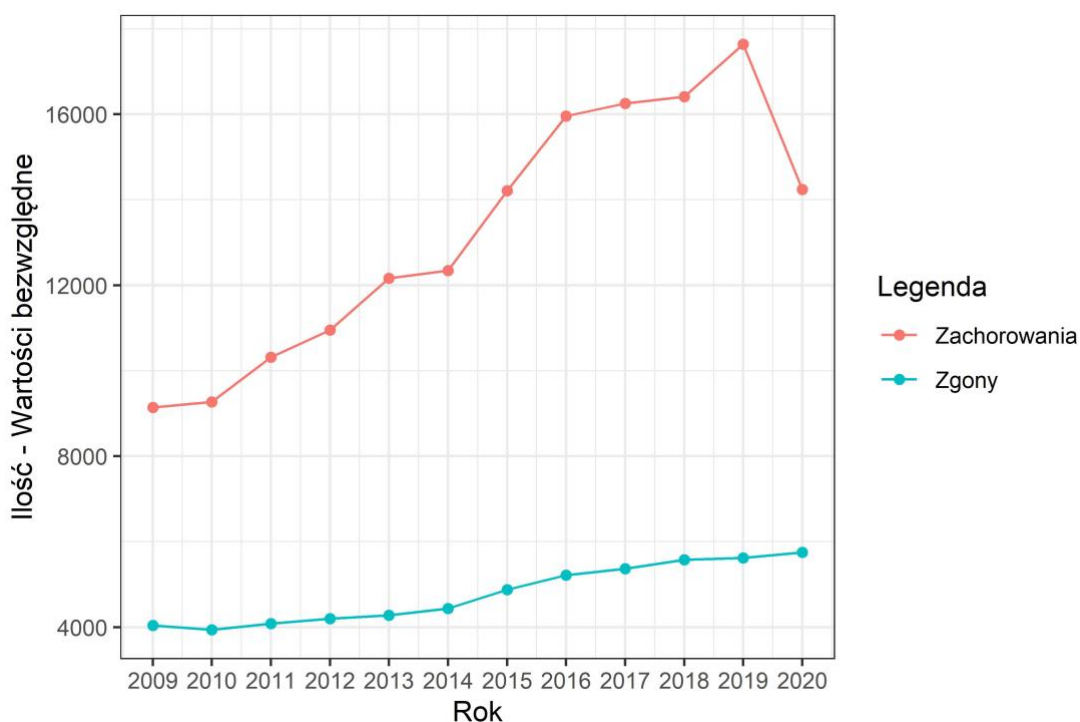
## Spis skrótów użytych w tekście

ADT	– terapia hormonalna raka stercza, polegająca na zmniejszeniu aktywności androgenów
BPH	– łagodny rozrost stercza
CIN	– wewnątrz nabłonkowa neoplazja szyjki macicy
CMV	– cytomegalowirus
EAU	– Europejskie Towarzystwo Urologiczne
EBRT	– radioterapia wiązką zewnętrzną
EBV	– wirus Epsteina–Barr
GS	– skala Gleasona
HPV	– wirus brodawczaka ludzkiego
HR-HPV	– wirus brodawczaka ludzkiego wysokiego ryzyka onkogenego
ISUP	– International Society of Urological Pathology – Międzynarodowa Organizacja Patologów Urologicznych
KRN	– Krajowy Rejestr Nowotworów
mpMRI	– multiparametryczny rezonans magnetyczny
PCR	– reakcja łańcuchowa polimerazy
PeIN	– wewnątrz nabłonkowa neoplazja prącia
PIN	– wewnątrz nabłonkowa neoplazja prostaty
PSA	– swoisty antygen sterczowy
PZ	– strefa obwodowa stercza
RGK	– rak gruczołu krokowego
RT-PCR	– reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym
SCC	– rak płaskonabłonkowy prącia, ang. <i>squamous cell carcinoma</i>
STD	– choroby przenoszone drogą płciową
TURP	– przezcewkowa elektroresekcja stercza
TZ	– strefa przejściowa stercza
UICC	– Union for International Cancer Control – Międzynarodowa Unia do Walki z Rakiem
WHO	– World Health Organization – Światowa Organizacja Zdrowia

## Wprowadzenie

### Epidemiologia raka gruczołu krokowego

Rak gruczołu krokowego (RGK, ICD10: C61) zgodnie z najnowszym raportem Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) z 2022 roku jest najczęściej rozpoznawanym nowotworem u mężczyzn i uznaje się go za kluczowy problem w urologii onkologicznej. Charakteryzuje się największą dynamiką wzrostu zachorowań oraz wykazuje wzrostową tendencję umieralności, zajmując aktualnie drugą pozycję po nowotworze płuc w klasyfikacji liczby zgonów rocznie. W Polsce w ostatnich latach odnotowuje się rocznie ponad 16 tysięcy nowych przypadków chorych na raka prostaty [1], natomiast na świecie stwierdza się ponad 1,3 miliona takich przypadków [2]. Zachorowalność i śmiertelność z powodu RGK z wartościami bezwzględnymi przedstawiono na rycinie 1.



Ryc. 1. Liczba zachorowań oraz zgonów na raka prostaty w Polsce w latach 2009–2020 według raportu KRN z 2022 roku

Do wzrostu liczby stwierdzanych przypadków raka gruczołu krokowego przyczyniło się rozpowszechnienie badań specyficznego antygenu sterczowego (PSA), ale głównym powodem jest przede wszystkim zjawisko starzejącej się

populacji mężczyzn, ponieważ wiek jest najistotniejszym czynnikiem predysponującym do zachorowania.

Pomimo istotnych różnic w zachorowalności, zależnie od czynników geograficznych, etnicznych oraz środowiskowych, obecny stan wiedzy nie pozwala na identyfikację konkretnych czynników mogących przyczyniać się w sposób jednoznaczny do wzrostu lub spadku zachorowania na raka stercza [3].

### **Czynniki ryzyka rozwoju raka gruczołu krokowego**

Oprócz wieku istotnym czynnikiem ryzyka, który sprzyja rozwojowi raka stercza, jest przynależność do rasy czarnej. Ryzyko zachorowania różni się w poszczególnych populacjach, a najwyższe z nich stwierdza się właśnie w tej populacji. Jest to szczególnie zauważalne wśród Afroamerykanów, u których występuje aż 2,5-krotnie większe ryzyko zachorowania niż u osób rasy kaukaskiej [4], z kolei najniższe odsetki zapadalności obserwuje się w populacjach azjatyckich [5].

U 9% pacjentów istotną rolę odgrywają czynniki genetyczne (postać dziedziczna raka stercza). Ryzyko zachorowania u osób, których krewni pierwszego stopnia chorowali na ten nowotwór, jest dwukrotnie większe niż w populacji ogólnej, ale tylko niewielka subpopulacja mężczyzn ma prawdziwą dziedziczną postać raka stercza. Dziedziczny rak stercza wiąże się z wcześniejszym wystąpieniem choroby (średnio o 6–7 lat), natomiast nie charakteryzuje go bardziej agresywny przebieg względem jej spontanicznej postaci [6].

W dostępnym piśmiennictwie istnieje szereg prac dotyczących wpływu różnych czynników środowiskowych na proces karcynogenezy raka prostaty. Wśród czynników ryzyka wymienia się m.in. poszczególne składowe zespoły metabolicznego: cukrzycę, hipercholesterolemię, nieodpowiednią dietę, powodującą niedobory mikro- i makroelementów, jednak nadal nie można wyodrębnić jednoznacznych czynników wpływających na zachorowalność raka prostaty [3].

Do ciekawych prac na temat czynników ochronnych względem raka prostaty należą badania na temat częstości ejakulacji, w której autorzy podają, że ponad 21 ejakulacji w miesiącu obniża ryzyko zachorowania nawet o 20% [7], oraz badanie przedstawiające korzystny wpływ obrzezania [8].

Powstało również wiele prac na temat wpływu drobnoustrojów przenoszonych drogą płciową na rozwój raka stercza, jednak udowodniony statystycznie wpływ ma jedynie zakażenie dwoinką rzeżączki, zwiększające zapadalność na ten rodzaj nowotworu [9]. Pozostałe drobnoustroje, jak: *Chlamydia*, *Trichomonas*, cytomegalowirus (CMV) oraz wirus Epsteina–Barr (EBV), mogą odgrywać pośrednią rolę, stanowiąc podłoże progresji nowotworowej.

Przypuszczalny wpływ infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV) na rozwój raka prostaty oraz przegląd dostępnego piśmiennictwa zostanie przedstawiony w osobnym podrozdziale.

### **Onkogeneza raka gruczołu krokowego**

Uważa się, że za powstawanie raka gruczołu krokowego odpowiedzialna jest zależność pomiędzy wrodzoną podatnością płciową (hormonalną), nabytymi zmianami genów somatycznych oraz czynnikami środowiskowymi. Gruczoł krokowy ma budowę strefową: centralną, przejściową i obwodową. To w strefie obwodowej najczęściej występują ogniska raka [2]. Zlokalizowany w sterczu rak jest często rozsiany wewnątrz narządu i posiada wiele ognisk, a poszczególne ogniska mogą różnić się w obrazie histopatologicznym.

Najczęstszą postacią histopatologiczną raka gruczołu krokowego jest gruczolakorak zrazikowy (*acinar adenocarcinoma*), występujący w około 90–95% przypadków. Według klasyfikacji WHO nowotwór ten należy do nowotworów gruczolowych i jest najliczniejszą podgrupą nowotworów pochodzenia nabłonkowego (*epithelial tumors*) [3].

W obrazie mikroskopowym gruczolakoraki prostaty różnią się stopniem zróżnicowania (złośliwością histologiczną), dając spektrum nowotworów od dobrze zróżnicowanych (niskiej złośliwości), które trudno odróżnić od prawidłowego utkania gruczołu krokowego, do zmian o niskim zróżnicowaniu (wysokim stopniu złośliwości). Histologiczną cechą wspólną dla wszystkich raków stercza jest obecność pojedynczej warstwy jednego typu komórek, bez warstwy podstawnej, która jest widoczna w prawidłowych cewkach gruczolowych.

Dostępne są dane, które podają, że przewlekłe zapalenie oraz infekcje układu moczowo-płciowego pobudzają rakotwórczość prostaty poprzez stres oksydacyjny i wytwarzanie reaktywnych form tlenu, indukując tym samym uszkodzenie DNA i selekcję zmutowanych komórek, co prowadzi do



wewnątrz nabłonkowej neoplazji gruczołu krokowego (PIN) i transformacji złośliwej [10].

U większości chorych rak gruczołu krokowego ma stosunkowo łagodny i powolny przebieg, choć po wieloletnim okresie choroby może dojść do lokalnej progresji oraz rozwoju przerzutów odległych [11,12]. Choroba cechuje się wieloletnim okresem przedklinicznym i najczęściej rozpoznawana jest jako mała, ograniczona do narządu zmiana o niskim stopniu złośliwości [13,14]. Jednak u niektórych chorych przebieg może być odmienny, co wiąże się z szybką, często niekontrolowaną progresją nowotworu [15,16].

Rak stercza może szerzyć się przez ciągłość oraz za pośrednictwem naczyń krwionośnych lub limfatycznych. Nowotwory w obwodowej części gruczołu krokowego naciekają tkankę okołosterczową poprzez bezpośredni naciek torebki lub szerząc się wzdłuż pęczków naczyniowo-nerwowych. Z kolei naciek pęcherzyków nasiennych może być następstwem bezpośredniego nacieku okolicznych tkanek miękkich lub szerzenia się wzdłuż przewodów wytryskowych.

Znacznemu zaawansowaniu miejscowemu zwykle towarzyszyć mogą przerzuty odległe. Rak gruczołu krokowego najczęściej daje przerzuty do węzłów chłonnych, kości i płuc. Zajęcie poszczególnych grup węzłów chłonnych odbywa się zgodnie z drenażem limfatycznym narządu. Najpierw stwierdza się je w grupach węzłów poniżej rozwidlenia tętnic biodrowych wspólnych: w węzłach biodrowych wewnętrznych i zewnętrznych, następnie dochodzi do zajęcia węzłów biodrowych wspólnych, okołoaortalnych i pachwinowych. Rozsiew drogą krwionośną skutkuje powstaniem przerzutów odległych, które najczęściej lokalizuje się w szkieletcie osiowym, rzadziej w płucach, wątrobie i innych narządach mięsistych.

### **Klasyfikacja raka gruczołu krokowego**

Najczęściej stosowaną klasyfikacją kliniczną raka stercza jest klasyfikacja TNM, która jest stworzona, publikowana i uaktualniana przez Międzynarodową Unię do Walki z Rakiem (UICC – Union for International Cancer Control). Obecnie obowiązuje klasyfikacja z 2017 roku do oceny stopnia zaawansowania RGK [17].

Rozwinięcie nazwy TNM oznacza: T – *tumour* (zaawansowanie miejscowe guza pierwotnego), N – *nodules* (zajęcie węzłów chłonnych), M – *metastases* (obecność przerzutów odległych). Klasyfikację szczegółowo przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Kliniczna klasyfikacja TNM raka stercza z 2017 roku

T – guz pierwotny	
Tx	guz niemożliwy do oceny
T0	brak guza pierwotnego
T1	guz niewykrywalny w badaniu palpacyjnym i obrazowym
T1a	guz wykryty przypadkowo w badaniu histopatologicznym, stanowiący 5% lub mniej wyciętej tkanki gruczołu krokowego
T1b	guz wykryty przypadkowo w badaniu histopatologicznym, stanowiący ponad 5% wyciętej tkanki gruczołu krokowego
T1c	guz wykryty podczas biopsji gruboigłowej
T2	guz ograniczony do gruczołu krokowego
T2a	guz zajmuje połowę jednego płata
T2b	guz zajmuje więcej niż połowę jednego płata
T2c	guz zajmuje oba płaty
T3	guz naciekający poza torebkę gruczołu krokowego
T3a	naciekanie pozatorebkowe, jedno- lub obustronne
T3b	naciekanie pęcherzyków nasiennych
T4	guz nieruchomy lub naciekający sąsiednie narządy inne niż pęcherzyki nasienne
N – regionalne węzły chłonne	
Nx	nie można ocenić okolicznych węzłów chłonnych
N0	nie stwierdza się przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych
N1	obecne przerzuty w regionalnych węzłach chłonnych
M – przerzuty odległe	
Mx	nie można określić obecności przerzutów odległych
M0	brak przerzutów odległych
M1	obecne przerzuty odległe
M1a	przerzuty do pozaregionalnych węzłów chłonnych
M1b	przerzuty do kości
M1c	inne przerzuty odległe

Dodatkowo rak stercza klasyfikowany jest na poszczególne grupy ryzyka pod kątem ewentualnego nawrotu choroby po radykalnym leczeniu operacyjnym lub po leczeniu pod postacią radioterapii wiązką zewnętrzną (EBRT) [18]. Podział ten przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Klasyfikacja raka stercza na poszczególne grupy ryzyka wg D'Amico [3]

Rak gruczołu krokowego			
niskiego ryzyka	pośredniego ryzyka		wysokiego ryzyka
PSA <10 ng/mL oraz GS <7 oraz cT1-2a	PSA 10–20 ng/mL lub GS 7 lub cT2b	PSA >20 ng/mL lub GS >7 lub T2c	każde PSA każda GS jeśli cT3-4 lub cN+
choroba ograniczona			choroba miejscowo zaawansowana

### System Gleasona

Zalecanym i powszechnie stosowanym systemem oceny złośliwości raka stercza jest ocena wg skali Gleasona (GS). Opiera się ona na stopniu architektonicznego zróżnicowania raka i zależna jest od obrazu cewek gruczołowych, obrazu granicy guza oraz obecności nacieku podścieliska [19]. Wyróżniono pięć stopni, spośród których stopień 1. oznacza bardzo dobrze zróżnicowanego raka, a stopień 5. – raka niskozróżnicowanego [20]. W 2014 roku dwa pierwsze stopnie zostały wyeliminowane z oceny i nie są obecnie powszechnie używane [21]. Ze względu na heterogenne utkania nowotworu ocenie podlega najbardziej dominujący w preparacie wzorzec (pierwotny) oraz drugi najczęściej występujący (wtórny). Wynik przedstawia się za pomocą sumy punktów za stopnie wzorca pierwotnego i wtórnego. Jeśli nowotwór posiada wyłącznie jedno utkanie, to wynik podaje się jako podwojenie wyniku pojedynczego wzorca. W przypadku trzech stopni GS przedstawia się w postaci najczęściej występującego utkania oraz najwyższego utkania, niezależnie od jego rozległości.

Najczęściej rozpoznaje się nowotwory w stopniach 6 i 7 [19,20]. Niskiemu stopniowi złośliwości histologicznej odpowiadają wyniki  $\leq 6$ , a wysokiemu stopniowi złośliwości wyniki  $\geq 7$  [22].

Zatwierdzona przez ISUP (International Society for Urological Pathology) klasyfikacja z 2014 roku ogranicza liczbę stopni raka stercza, od 1 do 5 i stosowana jest jako alternatywa dla systemu klasyfikacji wg Gleasona. Przedstawiono ją w tabeli 3 [23].

Tabela 3. Klasyfikacji raka stercza wg złośliwości histologicznej zatwierdzona przez ISUP

Skala Gleasona	ISUP
2–6	1
7 (3 + 4)	2
7 (4 + 3)	3
8 (4 + 4 lub 3 + 5 lub 5 + 3)	4
9–10	5

### **Budowa anatomiczna gruczołu krokowego**

Gruczoł krokowy, stercz, prostata (od języka starogreckiego *prostátēs* – strażnik) jest nieparzystym narządem mięszo-gruczołowym, będącym częścią męskiego układu płciowego. W jego budowie wyodrębniamy podstawę, wierzchołek i cztery powierzchnie (przednią, tylną i boczne), a jego kształt bywa porównywany do kasztana albo spłaszczonego stożka. Wymiary stercza u dorosłego, dojrzałego mężczyzny przedstawiają się następująco: przekrój poprzeczny (wymiar od jednego boku do drugiego) – 40 mm, przekrój podłużny (od podstawy do wierzchołka) – 38 mm oraz wysokość (od powierzchni przedniej do tylnej) – 30 mm. Zlokalizowany jest na dnie miednicy mniejszej, za spojeniem łonowym, całą swoją podstawą przylega do pęcherza moczowego. Przez mięszo gruczołu przebiegają parzyste przewody wytryskowe oraz część sterczowa cewki moczowej. Stercz składa się z dwóch płatów bocznych: prawego i lewego połączonych łącznotkankową węzliną. Wyróżnia się również płat środkowy, który w formie klina umiejscowiony jest pomiędzy proksymalnym odcinkiem cewki sterczowej, a przewodami wytryskowymi, sięgając do poziomu ich ujścia na wzgórku nasiennym. Mięsz gruczołu zawiera liczne, silnie rozgałęzione gruczoły cewkowo-pęcherzykowe, uchodzące do cewki sterczowej na wzgórku oraz w jego sąsiedztwie, a ich światło wysłane jest jedno- lub dwuwarstwowym nabłonkiem walcowatym. Wydzielina gruczołów wchodzi w skład nasienia, a między elementami gruczołowymi znajduje się istota włóknisto-mięśniowa tworząca zbitą, jędrną konsystencję.

Część sterczowa cewki moczowej o długości 3–4 cm przenika przez gruczoł krokowy na całej jej długości, od podstawy do wierzchołka. Na tylnej ścianie cewki, praktycznie wzdłuż całej jej długości, od ujścia wewnętrznego cewki moczowej, czasami aż do cewki błonistej, przebiega pojedynczy fałd błony

śluzowej, w środkowej części tworzący wrzecionowatą wyniosłość zwaną wzgórkami nasiennymi. Na środku wzgórek znajduje się ujście ślepo zakończonego uchylka, o dużej zmienności osobniczej, zwanego łagiewką sterczową. Dookoła ujścia łagiewki, na wzgórkach nasiennych, uchodzą bocznie parzyste przewody wytryskowe, powstałe z połączenia przewodów pęcherzyków nasiennych i nasieniowodów, a także zlokalizowane są liczne ujścia przewodników odprowadzających wydzielinę gruczołową stercza [24].

Budowa strefowa prostaty znana jest od początku ubiegłego stulecia. Na podstawie odrębności anatomii i histologii oraz odpowiedniej hormonowrażliwości wyróżniamy cztery strefy [25]:

1. Przednia – stanowi zrąb włóknisto-mięśniowy, niezawierający tkanki gruczołowej.
2. Przejściowa (*transition zone* – TZ) – zajmuje jedynie od 5–10% objętości stercza. Składają się na nią dwa płaty boczne obejmujące proksymalną część cewki sterczowej, aż do wzgórka nasiennego. Dochodzi tutaj do łagodnego rozrostu stercza (BPH), dlatego jej objętość zwiększa się wraz z wiekiem, a obecność raka stwierdza się w tej strefie jedynie w 25%.
3. Centralna – otaczająca przewody wytryskowe. Obejmuje około 20% objętości gruczołu krokowego. W tej strefie rozwija się najczęściej zapalenie, rzadko powstaje tutaj rak.
4. Obwodowa (*peripheral zone* – PZ) – jest największą strefą, obejmuje 70–80% objętości stercza, leży w tylnodolnej części gruczołu i jest miejscem pierwotnego powstawania raka w ponad 70% przypadków tego schorzenia.

### **Embriologia układu płciowego – wybrane zagadnienia**

W 4.–7. tygodniu życia płodowego z endodermy powstaje pierwotna zatoka moczowo-płciowa, dająca początek rozwojowy narządom moczowo-płciowym u obu płci. Można wyróżnić trzy części zatoki moczowo-płciowej:

1. Górną, największą część – pęcherz moczowy.
2. Część miedniczną zatoki moczowo-płciowej, tj. stosunkowo wąski kanał, który u zarodków męskich przekształca się w część sterczową i błoniastą cewki moczowej.
3. Ostateczną zatokę moczowo-płciową, której finalny rozwój wykazuje duże zróżnicowanie w zależności od płci [26].

Nabłonek cewki moczowej męskiej i żeńskiej jest również pochodzenia endodermalnego, a otaczająca tkanka łączna i tkanka mięśniowa gładka wywodzą się z mezodermy trzewnej. Pod koniec 3. miesiąca życia płodowego nabłonek części sterczowej cewki moczowej zaczyna proliferować i wytwarzać szereg uwypukleń, które wnikają do otaczającej mezenchymy i u zarodków męskich wytwarzają gruczoł krokowy, natomiast u żeńskich – gruczoły cewkowe i okołocewkowe [27].

Różnicowanie płci jest złożonym procesem, obejmującym wiele genów. Kluczowa w dymorfizmie płciowym jest obecność chromosomu Y, który w swoim krótszym ramieniu zawiera gen czynnika powstawania jądra. Jego obecność lub brak wywiera bezpośredni wpływ na różnicowanie gonad. Płeć chromosomowa ustalana jest już w czasie zapłodnienia, jednak do 7. tygodnia rozwoju zarodka gonady nie wykazują różnic zależnych od płci, z uwagi na pozostawanie grzebieni, sznurów oraz przewodów płciowych w stadium niezróżnicowania. Następnie w zależności od rodzaju działających hormonów w organizmie zarodka, testosteronu lub estrogenów, współdziałających lub nie z substancją hamującą rozwój przewodów Müllera, dochodzi do odpowiedniego różnicowania przewodów płciowych oraz rozwoju adekwatnych narządów płciowych wewnętrznych oraz zewnętrznych, męskich lub żeńskich [26].

Początkowo zarodki obu płci posiadają dwie pary przewodów płciowych: przewody śródnerczowe (Wolffa) oraz przyśródnerczowe (Müllera). W odpowiednich warunkach hormonalnych przewody śródnerczowe dają początek narzodom płciowym męskim, natomiast przewody przyśródnerczowe – narzodom żeńskim. W przypadku odpowiedniej aktywacji hormonalnej i komórkowej przewodów śródnerczowych i rozwoju narządów płciowych męskich przewody przyśródnerczowe, z których miałyby powstawać narządy żeńskie, są blokowane. Analogicznie wygląda sytuacja odwrotna, w przypadku działania hormonów żeńskich. Czasami jednak przewody przyśródnerczowe u mężczyzn oraz śródnerczowe u kobiet pozostawiają po sobie ślad w postaci tzw. narządów szczątkowych. U mężczyzn do takich zaliczamy m.in. przyczepki jądra i najądrza oraz łagiewkę sterczową [27].

Łagiewka sterczowa (*utricleus prostaticus*) jest ślepo zakończonym, pośrodkowo położonym uchyłkiem cewki sterczowej cewki moczowej. Należy do pozostałości dolnych, złączonych ze sobą obu części przewodów przyśródnerczowych. U płodów żeńskich z połączenia silnie rozwiniętych i zróżnicowanych obu przewodów przyśródnerczowych tworzy się kanał

macicznie-pochwowy, a następnie odpowiednie narządy płciowe. Z tego powodu łagiewka sterczowa nazywana jest również męską pochwą [28].

### **Wirus brodawczaka ludzkiego (HPV)**

Wirus brodawczaka ludzkiego należy do rodziny *Papillomaviridae*, która obejmuje ponad 100 typów wirusów. Zakażenie dotyczy głównie młodych osób, aktywnych seksualnie. Dochodzi do niego podczas kontaktów płciowych, kiedy to następuje przeniesienie wirusa pomiędzy partnerami. Zakażenie rozprzestrzenia się bardzo łatwo i jest najczęstszym na świecie zakażeniem przenoszonym drogą płciową. Trzeba jednak zaznaczyć, że kontakty seksualne nie są jedyną drogą transmisji wirusa, może ona nastąpić również poprzez kontakt skórny, a nawet w trakcie porodu, podczas którego matka przekazuje wirusa dziecku.

Szacuje się, że około 75–80% osób aktywnych seksualnie ulegnie zakażeniu w ciągu swojego życia [29]. U wielu osób wirus znajduje się w fazie latencji, co oznacza, że nie ujawnia się i przebiega bezobjawowo, a dzięki układowi immunologicznemu często ulega samowyleczeniu w ciągu 12–18 miesięcy [29]. Jednak powtarzające się infekcje, występujące podczas stałej aktywności seksualnej, mogą utrzymywać się przez dłuższy, nieokreślony czas. W przypadku osób wykazujących objawy immunosupresji może dojść do przetrwałego zakażenia HPV, a w odległym następstwie do powstania nowotworu, wpływ na to mogą mieć również inne współwystępujące zakażenia. Wyróżnia się następujące typy onkogenne HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 i 73. Związane są one z powstawaniem zmian przednowotworowych i nowotworowych narządów płciowych, odbytu oraz nosogardzieli. Nieonkogenne typy 1 i 2 odpowiedzialne za powstawanie powszechnie znanych brodawek naskórka (kurzajek) dłoni i stóp, natomiast typy wirusa 6, 11, 42, 44 odpowiadają za powstawanie kłykcin kończystych narządów płciowych.

Wirus brodawczaka ludzkiego posiada materiał genetyczny w postaci DNA o długości około 8000 par zasad. W skład genomu wchodzi geny wczesne (E, *early*) oraz późne (L, *late*). Geny wczesne odpowiedzialne są za replikację wirusa, natomiast późne za syntezę białek otoczkowych. Powstałe białka E5, E6 oraz E7 uznawane są za onkoproteiny i biorą udział w procesie nowotworzenia. Trwała infekcja HPV wysokiego ryzyka, która nie jest usuwana przez prawidłowo funkcjonujący układ immunologiczny, powoduje inaktywację białek p53 oraz pRB, które są głównymi supresorami nowotworowymi. Dodatkowo białko E5

uczestniczy w różnicowaniu komórek nabłonka, a w konsekwencji ułatwia ich zainfekowanie oraz unikanie mechanizmów obronnych gospodarza.

Cechą charakterystyczną infekcji HPV jest obecność koilocytów w obrazie histologicznym. Są to komórki z powiększonym, hiperchromatycznym, niejednorodnym jądrem, zatopionym w jasnej, „pustej” cytoplazmie, co daje obraz wyraźnego przejaśnienia w postaci otoczki „halo” [30,31].

### **Infekcja wirusem brodawczaka ludzkiego u mężczyzn oraz jego korelacja z rakiem stercza**

Zakłada się, że częstość występowania zakażenia HPV wśród mężczyzn nie różni się w poszczególnych grupach wiekowych, a współczynnik dodatniego zakażenia HPV jest porównywalny do tego obserwowanego u kobiet.

Z uwagi na szerokie rozpowszechnienie wirusa HPV powstało wiele prac badających wpływ tej infekcji na różne rodzaje nowotworów narządów moczowo-płciowych męskich, jednak do tej pory infekcja ta ma udowodniony wpływ jedynie w karcynogenezie raka prącia [32].

DNA wirusa brodawczaka ludzkiego zidentyfikowano w 70–100% przypadków wewnątrz nabłonkowej neoplazji prącia (PeIN) oraz w 40–50% próbkach biopsji prącia z obecnością inwazyjnego raka. Wskaźnik dodatniego wyniku HPV różni się w zależności od różnych podtypów histologicznych raka płaskonabłonkowego prącia (SCC). Zakażenie to występuje w niektórych wariantach SCC prącia (raki HPV zależne), podczas gdy korelacja w przypadku innych wariantów histologicznych jest znikoma lub nawet żadna (raki HPV niezależne). Wysoką częstość występowania infekcji HPV stwierdza się w podtypie bazaloidnym raka płaskonabłonkowego (76%) oraz jego wariacie, brodawkowato-bazaloidnym (82%). Najczęstszymi podtypami wirusa brodawczaka ludzkiego w raku prącia są typy 16 (72%) i 18 (6%) [33]. Dodatkowo ryzyko raka prącia jest zwiększone u pacjentów z kłykciami kończystymi, wywołanymi przez nieonkogenne typy wirusa HPV 6 [34]. Co ciekawe, istnieje znaczna zbieżność geograficzna między rakiem prącia a rakiem szyjki macicy u kobiet, co wskazuje na wspólną etiologię oraz współwystępowanie obu tych nowotworów u partnerów seksualnych [35].

Jak do tej pory opublikowano niewiele prac na temat ewentualnego wpływu infekcji HPV w patomechanizmie powstawania raka prostaty, a żadne z tych badań nie zostało przeprowadzone w Polsce. Dotychczasowe badania oparte były przede wszystkim na identyfikacji wirusa HPV w materiale



histopatologicznym prostaty oraz na wynikach badań serologicznych krwi, moczu oraz nasienia, stwierdzających obecność odpowiednich przeciwciał. Wyniki te dostarczają nam coraz więcej dowodów wskazujących na pozytywną korelację pomiędzy zakażeniem wirusem brodawczaka ludzkiego, a wzrostem ryzyka rozwoju raka stercza. Z licznych metaanaliz na ten temat wynika, że infekcje przenoszone drogą płciową (STD), w tym infekcja HPV, mogą odgrywać ważną rolę w inicjacji RGK [36]. Mogą powodować nawracające stany zapalne prostaty, co z kolei aktywuje kaskadę procesu transformacji nowotworowej [37]. Należy zaznaczyć, że stan zapalny na poziomie tkankowym występuje u około 17% wszystkich przypadków raka stercza [38]. Badania biologiczne dostarczyły dowodów, że aktywny tlen i azot oraz wolne rodniki wytwarzane przez stan zapalny tkanki zwiększają ryzyko zachorowania na raka stercza poprzez hamowanie aktywności przeciwnowotworowej [39,40]. Jest wysoce prawdopodobne, że u mężczyzn z istniejącym wcześniej stanem zapalnym prostaty na tle infekcji wirusem HPV zlokalizowanym na poziomie gruczołu krokowego pojawiają się sprzyjające warunki do rozwoju raka.

Opublikowane dotychczas metaanalizy, w których badano korelację między zakażeniem HPV a ryzykiem raka gruczołu krokowego, w większości nie przyniosły jednoznacznych, rozstrzygających odpowiedzi [41,42,43]. Z kolei Russo i in. wykazali istotnie statystycznie większe ryzyko wystąpienia RGK u pacjentów z infekcją HPV typu 16 i uznali ją za potencjalny czynnik ryzyka. Autorzy nie wykazali takiego związku dla równie onkogenego typu 18 wirusa HPV [44]. Dostępne są dane na temat obecności wirusa brodawczaka ludzkiego w nasieniu u około 10% populacji ogólnej mężczyzn, a jako główny podtyp występującego tam wirusa wskazuje się również onkogeny typ 16 [45]. Sugerować to może przenoszenie wirusa z prostaty do nasienia, zgodnie z drogą wyprowadzającą nasienie i korelować z karcynogenezą w obrębie tego narządu.

Niestety, chociaż rozpoznano HR-HPV jako ważny czynnik ryzyka raka jamy ustnej i odbytu, a w przypadku rozwoju raka szyjki macicy jest uznawany nawet za czynnik kluczowy, to rola tego wirusa w karcynogenezie raka prostaty pozostaje nadal nie w pełni wyjaśniona.

### **Założenia projektu badawczego na podstawie wspólnej embriogenezy narządów płciowych u kobiet i mężczyzn**

Infekcja HPV jest zakażeniem powszechnym zarówno w populacji kobiet, jak i mężczyzn. Przetrwale zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego jest

najważniejszym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka szyjki macicy wśród kobiet. Ponad 99% nowotworów szyjki macicy wykazuje obecność DNA HPV. Jak do tej pory nie stwierdza się aż tak negatywnego wpływu infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego na żaden nowotwór rozwijający się w populacji męskiej.

Różnice te wynikać mogą z odmiennego przebiegu infekcji HPV u obu płci, prawdopodobnie z powodu odmiennego środowiska i odmiennych warunków replikacji wirusa. W populacji ogólnej nabłonek prącia bezobjawowych mężczyzn ma stale wyższą częstość występowania zakażenia HPV niż nabłonek szyjki macicy kobiet z prawidłowym badaniem cytologicznym. Zjawisko to potwierdza, że infekcja HPV na zrogowaciałym nabłonku napletka indukuje odmienną odpowiedź immunologiczną niż na nierogowaciejącym, wielowarstwowym nabłonku szyjki macicy u kobiet [35]. Ponadto stwierdza się, że miano wirusa jest znacząco niższe w przypadku chorych na raka prostaty mężczyzn w porównaniu z kobietami obciążonymi rakiem szyjki macicy [46,47].

Analizując nie do końca rozstrzygniętą jeszcze etiologię raka stercza, stwierdza się istotne różnice w zachorowaniach na ten nowotwór zależne od czynników geograficznych i etnicznych. Istnieją badania sugerujące, że wirusy HPV mogą odgrywać przyczynową rolę zarówno w raku prostaty, jak i w raku szyjki macicy w tych samych populacjach. Badania te przedstawiają dodatnią korelację między śmiertelnością z powodu raka szyjki macicy oraz śmiertelnością z powodu raka prostaty w tych samych populacjach. Wysoka śmiertelność z powodu raka szyjki macicy jest skorelowana z wysoką śmiertelnością z powodu raka prostaty. Podobnie wygląda odwrotna sytuacja w miejscach, gdzie zarówno populacje męskie, jak i żeńskie charakteryzują się niskimi wskaźnikami śmiertelności z powodu obu tych nowotworów. Korelację tę uznano za istotną statystycznie [48].

Za kolejną cechę wspólną można uznać wieloletni okres rozwoju obu wspomnianych nowotworów. W przypadku raka szyjki macicy infekcja HPV rozwija się w warstwie podstawnej nabłonka, zaczynając od zmian o niskim stopniu złośliwości (wewnątrz nabłonkowa neoplazja), aż do inwazyjnych form raka, a proces ten może trwać nawet kilkanaście lat. Podobnie rak gruczołu krokowego jest nowotworem charakteryzującym się wyjątkowo długim okresem przedklinicznym i nierzadko mówi się, że w odpowiednio podeszłym wieku wystąpi u większości mężczyzn, jednak nie będzie u nich bezpośrednią przyczyną zgonu. Powiązania te jednak nie dostarczają rozstrzygających

dowodów, a jedynie potwierdzają przypuszczalny wpływ infekcji HPV w karcynogenezie raka stercza.

W celu uzupełnienia dotychczasowej wiedzy uznano, że badanie obecności infekcji HPV w łagiewce sterczowej u pacjentów z rakiem stercza może wnieść istotną, znaczącą wiedzę na temat etiologii tego nowotworu. Można założyć, że to właśnie łagiewka sterczowa – mały uchyłek części sterczowej cewki moczowej, należący do pozostałości embrionalnych, z mocno pofałdowaną błoną śluzową pokrytą płaskim nabłonkiem przypominającym nabłonek części pochwowej szyjki macicy, odpowiednik rozwojowy kobiecego kanału maciczno-pochwowego, leżący w bliskim sąsiedztwie wzgórka nasiennego, gdzie uchodzą przewody wytryskowe [49] – jest doskonałym miejscem bytowania i transmisji wirusa HPV u mężczyzn.

Przed rozpoczęciem projektu założono również, że w strukturach o zbliżonym pochodzeniu embriologicznym można spodziewać się podobnych patomechanizmów powstawania chorób.

W aktualnej literaturze nie znaleziono żadnych dotychczasowych doniesień opisujących obecność wirusa HPV w łagiewce sterczowej prostaty z nowotworem, tym bardziej możliwej przewlekłej infekcji w tym miejscu jako ewentualnej przyczyny karcynogenezy.

## **Cel pracy**

1. Zbadanie obecności DNA wirusa brodawczaka ludzkiego w łagiewce sterczowej u mężczyzn z rakiem gruczołu krokowego poddanych radykalnej prostatektomii laparoskopowej.
2. Identyfikacja infekcji HPV u mężczyzn z rakiem gruczołu krokowego oraz ocena jej korelacji z rakiem w badanej grupie chorych.

## **Materiał i metody**

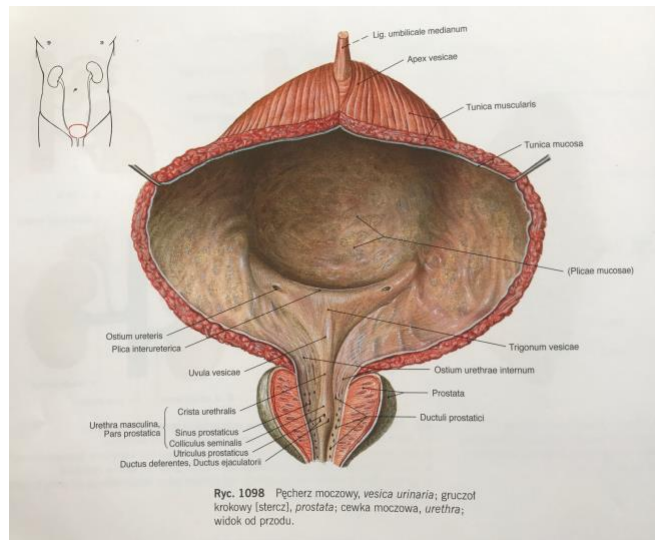
### **Badany materiał**

Do badania zostali prospektywnie, wybiórczo włączeni mężczyźni poddani operacji radykalnej prostatektomii techniką laparoskopową w Klinice Urologii i Onkologii Urologicznej w Szczecinie w latach 2019–2022 z powodu wcześniej rozpoznanego raka stercza.

Chorzy zostali poinformowani o prowadzonym badaniu oraz wyrazili świadomą zgodę na udział w projekcie.

Po wykonaniu radykalnej prostatektomii u tych pacjentów w usuniętym sterczu identyfikowano ujście łagiewki sterczowej. Celem identyfikacji łagiewki rozcinano preparat stercza wzdłuż przedniej powierzchni, od podstawy aż do wierzchołka, tym samym dokładnie eksponując tylną ścianę cewki sterczowej – obraz ten przedstawiono na rycinach 2 i 3. Makroskopowo, rzadziej mikroskopowo, identyfikowano ujście łagiewki na szczycie wrzecionowatego wzgórka nasiennego. Następnie używając cienkiej szczoteczki wymazowej (Rovers EndoCervex-Brush®), przedstawionej na rycinie 4, pobierano wymaz z łagiewki stercza, wprowadzając szczoteczkę do środka światła łagiewki. Bezpośrednio po pobraniu przechowywano materiał w lodówce w temperaturze 4°C, a następnie wysyłano do laboratorium posiadającego kwalifikacje w zakresie badań genotypowych DNA wirusa HPV metodą real-time PCR. Ścisłe przestrzegano zalecanego przez laboratorium czasu przesłania próbki i wykonania badania do 30 dni od pobrania materiału.

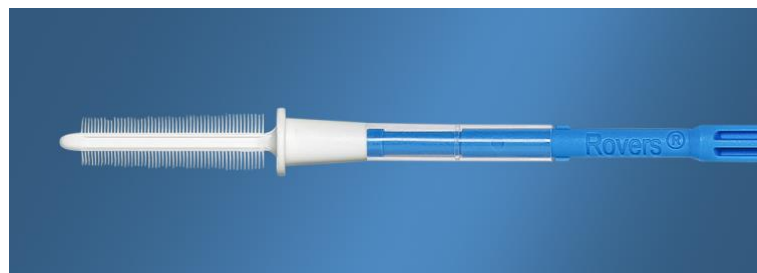
Dodatkowo celem uzupełnienia oraz porównania wyników pobierano materiał z losowych miejsc prostaty z uwzględnieniem makroskopowej lokalizacji guza oraz z ujścia zewnętrznego cewki moczowej i spod napletka również pod kątem stwierdzenia materiału DNA wirusa HPV. Żadnego z przesłanych materiałów laboratorium nie określiło jako nieużytecznego lub zbyt skąpego do wykonania testu na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego.



Ryc. 2. Pęcherz moczowy, prostata, część sterzowa cewki moczowej. Widok od przodu [50]



Ryc. 3. Przecięty stercz. Ekspozycja tylnej ściany cewki moczowej. Materiał własny



Ryc. 4. Szczoteczka wymazowa Rovers EndoCervex-Brush®. Materiał z internetu

Na podstawie badania preparatu prostaty oraz dostępnej dokumentacji medycznej zgromadzonej w Klinice zostały przeanalizowane następujące parametry: wynik testu PCR na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego w łagiewce sterczowej, w materiale z losowych miejsc prostaty oraz spod napletka i ujścia zewnętrznego cewki moczowej. Dodatkowo zbierano dane pacjentów na temat wieku, aktywności seksualnej, poziomu PSA, nikotynizmu, aktualnej infekcji układu moczowego, wyniku rezonansu magnetycznego stercza pod kątem rozległości zmiany nowotworowej oraz wielkości prostaty, klinicznego zaawansowania raka stercza w badaniu fizykalnym, zaawansowania histopatologicznego w usuniętym sterczu oraz morfologii łagiewki sterczowej w usuniętym preparacie.

Komisja Bioetyczna Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie wydała zaświadczenie nr KB-0012/13/19 o pozytywnym rozpatrzeniu wniosku dotyczącego przeprowadzenia niniejszego projektu badawczego.

### **Testy DNA HPV**

Optymalna metoda pobierania materiału u mężczyzn do testów na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego nie została jeszcze określona, ponieważ rutynowe pobranie odpowiedniego materiału ze zrogowaciałego nabłonka napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki nie jest tak optymalne jak w przypadku wymazów z szyjki macicy u kobiet przy użyciu szczoteczek cytologicznych.

Spośród wielu ogólnie stosowanych metod identyfikacji infekcji oraz obecności wirusa brodawczaka ludzkiego zastosowano najbardziej precyzyjną i dokładną.

DNA wirusa HPV w pobranym materiale identyfikowano za pomocą metody „Anyplex™ II HPV HR Detection”, którą uznano za zgodną z międzynarodowymi wskaźnikami walidacji do identyfikacji HPV DNA w badaniach przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy u kobiet, aktualnie powszechnie dostępną i stosowaną na całym świecie [51,52,53].

Anyplex™ II HPV HR Detection to multipleksowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR) z wykorzystaniem technologii znakowania i wydłużania oligonukleotydów do jednoczesnego wykrywania i genotypowania 14 następujących typów HPV wysokiego ryzyka: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

## Metody statystyczne

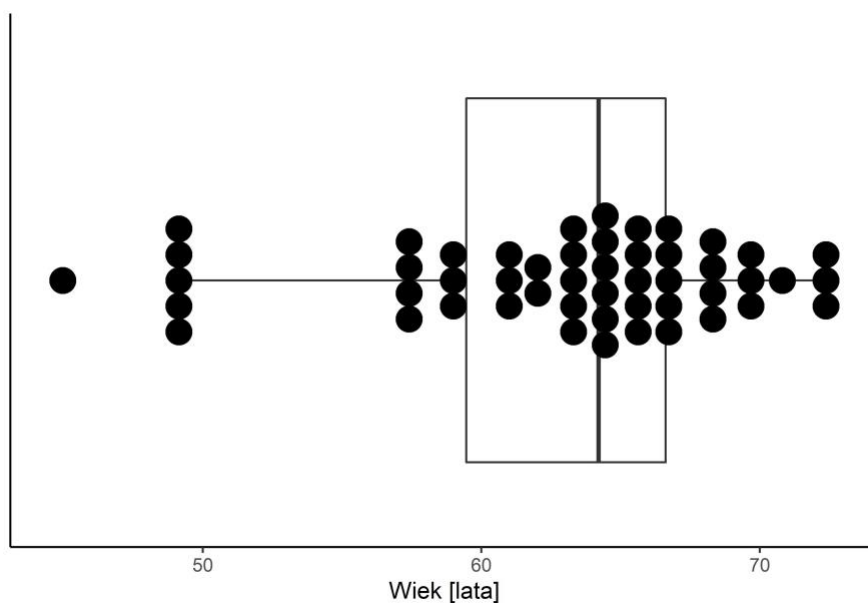
Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu R (wersja R-4.2.2) [54]. Dla zmiennych ilościowych obliczono mediany oraz przedział międzykwartyłowy (Q1–Q3). Dla zmiennych jakościowych obliczono częstości ich występowania (procent). Porównanie zmiennych ilościowych przeprowadzono za pomocą testu U Manna–Whitneya. Porównanie zmiennych jakościowych przeprowadzono za pomocą testu  $\chi^2$  oraz testu Fishera, w zależności od liczebności podgrup. Do wszystkich porównań przyjęto poziom  $\alpha = 0,05$ .

Wykresy zostały wykonane z użyciem biblioteki ggplot 2 [55]. Na wykresach pudełkowych boki prostokąta oznaczają pierwszy i trzeci kwartył. Pogrubiona linia w środku wykresu oznacza medianę. Wąsy mają długość półtora rozstępu międzykwartyłowego. Dodatkowo rozkład zmiennej został zobrazowany przez kropki oznaczające pojedyncze obserwacje.

Przedziały ufności dla odsetek wyznaczono, korzystając z rozkładu dwumianowego (*exact binomial method*) [56].

## Charakterystyka chorych włączonych do badania

Do badania włączono 50 mężczyzn poddanych zabiegom radykalnej prostatektomii laparoskopowej z powodu raka stercza w latach 2019–2022 w Klinice Urologii i Onkologii Urologicznej PUM. Mediana wieku badanej grupy wynosiła 64,21 lat (59,47–66,62). Dokładną charakterystykę wieku populacji badanej przedstawiono na rycinie 5.



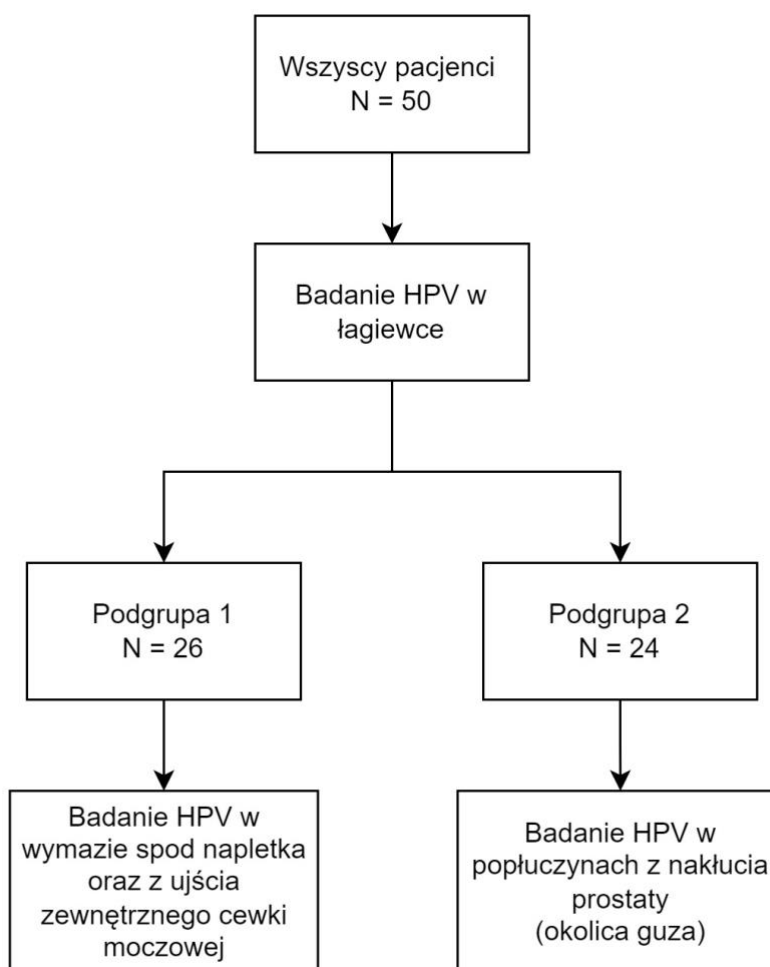
Ryc. 5. Wykres pudełkowy wieku dla całej populacji badanej. Czarne kropki reprezentują pojedynczych pacjentów



U każdego chorego z badanej populacji wykonano wymaz z łagiewki sterczowej w kierunku obecności DNA HPV. Następnie grupa została losowo podzielona na dwie podgrupy:

1. 26 pacjentów, u których wykonano dodatkowo badanie na obecność DNA HPV w wymazie spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej.
2. 24 pacjentów, u których wykonano dodatkowo badanie na obecność DNA HPV w materiale popłuczyn z losowych miejsc prostaty, ze szczególnym uwzględnieniem makroskopowej lokalizacji zmiany nowotworowej.

Podział populacji badanej przedstawiono na rycinie 6.



Ryc. 6. Schemat blokowy (Flowchart) badania. Podział całej populacji na poszczególne grupy badane

Początkowo kwalifikowani byli jedynie pacjenci zgłaszający zachowaną aktywność seksualną – 38 (76%), następnie celem porównania włączeni zostali również pacjenci niepodtrzymujący obecnie aktywności seksualnej – 12 (24%)

z uwagi na dane o utrzymywaniu się wirusa HPV nawet 2 lata od inicjacji zakażenia [29].

Dodatni wywiad nikotynowy występował aż u 41 (82%) chorych: aktualnie palący – 13 (26%), palący w przeszłości – 28 (56%), jedynie 9 (18%) pacjentów zadeklarowało całkowity brak styczności z papierosami w ciągu swojego życia.

Z uwagi na możliwą koincydencję różnych stanów zapalno-infekcyjnych wyodrębniono pacjentów z aktualnym zakażeniem układu moczowego. Grupa ta liczyła 3 (6%) chorych.

Zwrócono również uwagę na parametry dodatkowe, niecharakterystyczne dla ogólnej grupy badanej: współistniejący rak pęcherza moczowego u jednego pacjenta (2%), pacjent jemeńskiego pochodzenia – 1 (2%). W jednym przypadku pacjent posiadał dodatni wywiad w kierunku raka stercza wśród krewnych pierwszego stopnia i został zakwalifikowany do leczenia operacyjnego z zaawansowanym rakiem stercza wysokiego ryzyka, po wcześniej rozpoczętej hormonoterapii (ADT). Natomiast u innego pacjenta wykonano prostatektomię paliatywną pomimo podejrzenia naciekającego charakteru guza.

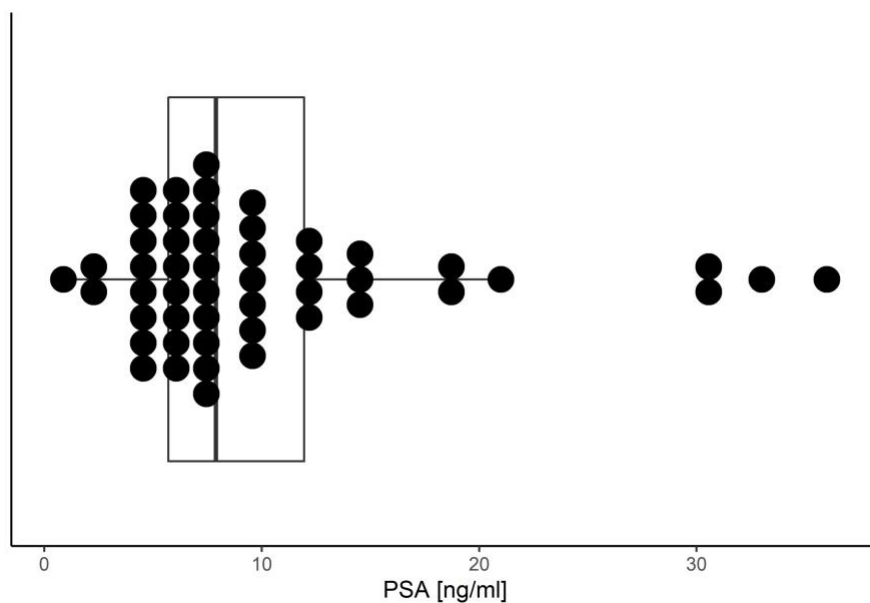
## Wyniki

### Charakterystyka pełnej grupy badanej

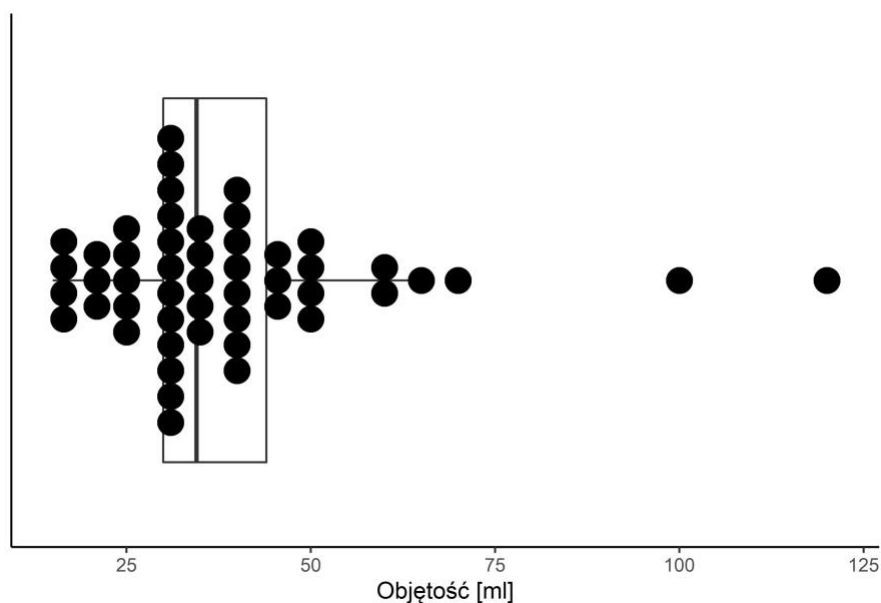
Na podstawie wyniku badania histopatologicznego uzyskanego po zabiegu wszystkie zmiany nowotworowe oceniono jako gruczolakoraki, co potwierdziło ten typ nowotworu jako dominującą grupę histopatologiczną raka stercza. Ponad połowę operowanych chorych (28 pacjentów, 56%) stanowili pacjenci z rakiem stercza ograniczonym do narządu, sklasyfikowanym jako zmiany pT2a oraz pT2c. Kolejną liczną grupą byli pacjenci ze zmianami naciekającym torebkę stercza – pT3a (18 chorych, 36%). W jednym przypadku natomiast rozpoznano zmianę naciekającą sąsiadujące narządy – pT4.

Rozpatrując zajęcie węzłów chłonnych, w zdecydowanej większości były one wolne od przerzutów raka, pN0 47 (94%), jedynie u 3 chorych zdiagnozowano regionalne zajęcie węzłów – pN1. Wyniki te ilościowo zbliżone były do pierwotnych ocen stadium zaawansowania choroby w multiparametrycznym rezonansie magnetycznym miednicy, wykonanym u prawie wszystkich chorych przed planowanym zabiegiem.

Średnia wartość PSA została wyliczona na 7,89 ng/ml, przy średniej szacunkowej objętości prostaty 34,5 ml zbadanej w mpMRI. Poniżej przedstawiono wykresy wartości PSA (ryc. 7) oraz rozkładu objętości prostaty w całej populacji badanej (ryc. 8).



Ryc. 7. Wykres pudełkowy wartości PSA [ng/ml] dla całej populacji badania. Czarne kropki reprezentują pojedyncze obserwacje



Ryc. 8. Wykres pudełkowy objętości prostaty [ml] dla całej populacji badania. Czarne kropki reprezentują poszczególnych chorych

Odnosnie do histologicznego stopnia złośliwości nowotworu dominowała grupa 2 wg klasyfikacji ISUP. Wynik GS 3 + 4 miało 20 (40%) chorych. Kolejną grupą byli pacjenci z GS 3 + 3, liczyła ona 14 (28%) chorych, co potwierdza najbardziej rozpowszechnione z rozpoznawanych stopnie złośliwości w materiale z radykalnej prostatektomii. Najmniej liczne były grupy najbardziej

zaawansowane, tj. ISUP 4, licząca 4 pacjentów (8%), oraz ISUP 5, licząca 3 pacjentów (6%). Pełna charakterystyka grupy została przedstawiona w tabeli 4.

Tabela 4. Charakterystyka kliniczna oraz zaawansowanie nowotworu prostaty dla całej badanej populacji

Charakterystyka kliniczna	
N	50
Wiek	64,21 (59,47–66,62)
Aktywność seksualna	38 (76%)
ZUM	3 (6%)
Papierosy	tak: 13 (26%) w przeszłości: 28 (56%) nie: 9 (18%)
Zaawansowanie nowotworu	
pT	pT2a: 3 (6%) pT2c: 25 (50%) pT3a: 18 (36%) pT3b: 3 (6%) pT4: 1 (2%)
pN	N0: 47 (94%) N1: 3 (6%)
PSA	7,89 (5,7–11,95)
PV	34,5 (30–44)
DRE	cT1c: 19 (38%) cT2a: 13 (26%) cT2b: 12 (24%) cT2c: 5 (10%) cT3: 1 (2%)
Skala Gleasona	6: 14 (28%) 7: 29 (58%) 8: 4 (8%) 9: 3 (6%)
ISUP	1: 14 (28%) 2: 20 (40%) 3: 9 (18%) 4: 4 (8%) 5: 3 (6%)
MRI PIRADS	PIRADS 2: 3 (6%) PIRADS 3: 4 (8%) PIRADS 4: 27 (54%) PIRADS 5: 16 (32%)
MRI zajęcie węzłów	N0: 45 (90%) N1: 5 (10%)
MRI nacieki torebki	nie: 39 (78%) możliwy: 4 (8%) tak: 7 (14%)

### **Charakterystyka podgrupy 1**

W podgrupie badanej 1, w której oprócz oceny parametru głównego, tj. materiału DNA wirusa HPV w łagiewce sterczowej, oceniono również obecność wirusa w materiale pobranym spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej, było 26 pacjentów.

Mediana ich wieku była zbliżona do mediany wieku całej badanej populacji. Aktywność seksualną zgłosiło jedynie 17 pacjentów (65%). Charakterystyka klasyfikacji TNM raka gruczołu krokowego nie odbiegała procentowo od tej występującej w całej grupie badanej, dominowały zmiany ograniczone do narządu – pT2c.

To właśnie w tej podgrupie obecny był pacjent z naciekającym sąsiednie narządy rakiem stercza pT4 oraz wszyscy pacjenci z zajęтыми regionalnymi węzłami chłonnymi – były to cechy wyróżniające tę grupę badaną. Wartości PSA oraz objętości stercza nie odbiegały od tych ocenionych w całej populacji.

Pełna charakterystyka podgrupy 1 została przedstawiona w tabeli 5.

### **Charakterystyka podgrupy 2**

W tej podgrupie oprócz parametru głównego oceniono dodatkowo obecność DNA HPV w popłuczynach losowych miejsc prostaty, ze szczególnym uwzględnieniem makroskopowej lokalizacji guza w przypadku takiej możliwości. Podgrupa ta liczyła 24 pacjentów, a zakres wieku nie różnił się istotnie od pozostałych grup.

Była to grupa, w której – jak się okazało – najwięcej osób, bo aż 21 (87,5%), deklarowało zachowaną aktywność seksualną. Histopatologicznie dominowały klasyfikacje pT2c oraz pT3a, co nie było cechą wyróżniającą. W podgrupie tej nie było pacjentów z histopatologicznie zajęтыми węzłami chłonnymi.

Charakterystyka podgrupy 2 została przedstawiona w tabeli 6.

Tabela 5. Charakterystyka kliniczna oraz zaawansowanie nowotworu prostaty dla podgrupy 1

Charakterystyka kliniczna	
N	26
Wiek	64,67 (60,72–68,43)
Aktywność seksualna	17 (65,38%)
ZUM	1 (3,85%)
Papierosy	0: 4 (15,38%) 1: 10 (38,46%) 2: 12 (46,15%)
Zaawansowanie nowotworu	
pT	2c: 14 (53,85%) 3a: 10 (38,46%) 3b: 1 (3,85%) 4: 1 (3,85%)
pN	0: 23 (88,46%) 1: 3 (11,54%)
PSA	7,95 (5,32–12,44)
PV	33,5 (30–44)
DRE	cT1c: 7 (26,92%) cT2a: 10 (38,46%) cT2b: 6 (23,08%) cT2c: 2 (7,69%) cT3: 1 (3,85%)
Skala Gleasona	6: 6 (23,08%) 7: 15 (57,69%) 8: 3 (11,54%) 9: 2 (7,69%)
ISUP	1: 6 (23,08%) 2: 10 (38,46%) 3: 5 (19,23%) 4: 3 (11,54%) 5: 2 (7,69%)
MRI PIRADS	PIRADS 2: 3 (11,54%) PIRADS 3: 3 (11,54%) PIRADS 4: 14 (53,85%) PIRADS 5: 6 (23,08%)
MRI zajęcie węzłów	N0: 21 (80,77%) N1: 5 (19,23%)
MRI naciek torebki	0: 21 (80,77%) 1: 5 (19,23%)

Tabela 6. Charakterystyka kliniczna oraz zaawansowanie nowotworu prostaty dla podgrupy 2

Charakterystyka kliniczna	
N	24
Wiek	63,95 (59,05–65,78)
Aktywność seksualna	21 (87,5%)
ZUM	2 (8,33%)
Papierosy	0: 5 (20,83%) 1: 3 (12,5%) 2: 16 (66,67%)
Zaawansowanie nowotworu	
pT	pT2a: 3 (12,5%) pT2c: 11 (45,83%) pT3a: 8 (33,33%) pT3b: 2 (8,33%)
pN	N0: 24 (100%)
PSA	7,75 (6,04–10,45)
PV	34,5 (28,75–41,25)
DRE	cT1c: 12 (50%) cT2a: 3 (12,5%) cT2b: 6 (25%) cT2c: 3 (12,5%)
Skala Gleasona	6: 8 (33,33%) 7: 14 (58,33%) 8: 1 (4,17%) 9: 1 (4,17%)
ISUP	1: 8 (33,33%) 2: 10 (41,67%) 3: 4 (16,67%) 4: 1 (4,17%) 5: 1 (4,17%)
MRI PIRADS	PIRADS 3: 1 (4,17%) PIRADS 4: 13 (54,17%) PIRADS 5: 10 (41,67%)
MRI zajęcie węzłów	N0: 24 (100%)
MRI nacieki torebki	nie: 18 (75%) tak: 2 (8,33%) możliwe: 4 (16,67%)



## **Wyniki testu na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego**

Na 50 wykonanych testów wykrywających obecność materiału DNA wirusa brodawczaka ludzkiego w łagiewce sterczowej w ani jednym przypadku nie uzyskano dodatniego wyniku, 0/50 (0%) – 95% przedział ufności od 0% do 7,11%. Brak pozytywnego wyniku na obecność DNA HPV stwierdzono również w podgrupie, w której materiałem badanym były popłuczyny z losowych miejsc prostaty, gdzie uwzględniano również makroskopową lokalizację guza, 0/24 (0%) pacjentów, 95% przedział ufności od 0% do 14,25%.

Pozytywne wyniki, potwierdzające obecność wirusa HPV w badanym materiale, uzyskano jedynie w 2 przypadkach (7,69%) z podgrupy 1, która liczyła 26 pacjentów, u których obecność HPV potwierdzono w wymazie spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej. Jednocześnie nie potwierdzając takiej infekcji w łagiewce sterczowej u tych samych pacjentów, 95% przedział ufności od 0,95% do 25,13%. W pierwszym przypadku u pacjenta wykryto podtypy 18 oraz 51 wirusa HPV, natomiast w drugim podtyp 39. Zaskakujący jest fakt, że infekcja HPV u obu pacjentów nie była skorelowana z ich aktywnością seksualną, ponieważ obaj zadeklarowali brak aktualnej aktywności seksualnej, istotność statystyczną różnicy w tym parametrze oceniono na  $p = 0,054$ . Potwierdza to informacje na temat długotrwałego utrzymywania się infekcji HPV w organizmie, trwającej nawet 2–3 lata od kontaktu seksualnego, podczas którego doszło do zakażenia. Dodatkowo stwierdzono, że nie występowała koincydencja zakażenia układu moczowego u żadnego z pacjentów w trakcie pobierania materiału do badania. Obaj chorzy należeli do grupy aktywnych palaczy. Nowotwory rozpoznane u tych pacjentów były zmianami zaliczanymi do grupy wysokiego ryzyka wg klasyfikacji EAU (odpowiednio pT3a cN+ oraz pT2c) i zidentyfikowane były w stosunkowo niewielkich rozmiarowo prostatkach, 15 i 18 ml. Charakterystykę pacjentów z pozytywnym wynikiem DNA HPV przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Charakterystyka pacjentów z dodatnim wynikiem DNA HPV w wymazie spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej

	Przypadek 1	Przypadek 2
Podtyp HPV	18,51	39
N	1	1
Wiek	72,73	60,55
Aktywność seksualna	nie	nie
ZUM	nie	nie
Papierosy	tak	tak
pT	pT3a	pT2c
pN	nie	nie
PSA	14,06	12
PV	15	18
DRE	cT1c	cT2a
Skala Gleasona	7	7
ISUP	2	2
MRI PIRADS	PIRADS 4	PIRADS 2
MRI zajęcie węzłów	tak	nie
MRI naciek torebki	nie	nie

## Omówienie wyników

W najnowszej metaanalizie przeprowadzonej w 2020 roku przez Lawsona i Glenna uwzględniono wyniki wszystkich 26 przeprowadzonych od 1991 do 2018 roku badań na temat dodatniego wpływu infekcji HPV na patologię gruczołu krokowego. Po zsumowaniu danych ze wszystkich prac wirus HPV wysokiego ryzyka został stwierdzony w 325 (22,6%) z 1284 przypadków raka stercza oraz w 113 (8,6%) z 1313 przypadków łagodnego rozrostu stercza lub w prawidłowej tkance prostaty ( $p = 0,001$ ) [47]. McNicol i in. jako pierwsi zidentyfikowali HPV w materiale z prostaty w 1991 roku [57]. Ich wyniki zostały następnie potwierdzone w ponad 25 badaniach przeprowadzonych w wielu różnych krajach. Wyniki wskazują, że HPV wysokiego ryzyka identyfikowano w prawidłowych, łagodnych i złośliwych tkankach gruczołu krokowego, z różną częstością, jak pokazano w tabeli 8. We wszystkich tych badaniach, w których zidentyfikowano HPV, zastosowano najdokładniejsze metody testowania PCR, trzeba jednak zwrócić uwagę na fakt, że jakość analiz PCR wzrosła dopiero po 2000 roku. Najczęściej stwierdzano HPV typu 16 i 18, jednak z uwagi na ich wysokie, znaczące i dobrze znane ryzyko onkogenne były to często jedyne typy, które miały zostać zidentyfikowane w badaniu.

W 2013 roku australijscy naukowcy Whitaker i in. zidentyfikowali HPV wysokiego ryzyka u 58% z 50 pacjentów obciążonych rakiem stercza oraz u 16% z 50 pacjentów z łagodnym rozrostem stercza [58]. Badanie to przedstawia najsilniejszą dotychczas zbadaną korelację pomiędzy infekcją HPV a patologią stercza. Oparte było na materiale tkankowym prostaty (brak danych co do rodzaju oraz sposobu pobrania materiału tkankowego stercza) z wykorzystaniem metody PCR in situ stwierdzającej obecność DNA HPV, której ryzyko zanieczyszczenia materiału jest mniejsze niż w przypadku stosowania standardowej metody PCR. Wynik ten był istotny statystycznie ( $p = 0,001$ ) i dodatkowo został potwierdzony standardową metodą PCR.

Wyniki wszystkich 26 badań, w których uzyskano dodatnią korelację HPV z rakiem stercza, przedstawiono w tabeli 8. Badania, których wyniki były istotne statystycznie, zaznaczono pogrubieniem.

Tabela 8. Wyniki badań pozytywnej korelacji infekcji HPV z rakiem stercza

Badanie	Kraj	Rak stercza	BPH	Podtyp HPV	Wartość p
McNicol i Dodd 1992 [57]	Kanada	14/27 52%	35/61 57%	16, 18	0,396 ns
Anwar i in. 1992 [59]	Japonia	28/68 41%	0/10 0%	16, 18, 33	0,221 ns
Ibrahim i in. 1992 [60]	USA	6/40 15%	2/29 7%	16	0,344 ns
Rotola et al 1992 [61]	Włochy	6/8 75%	14/17 82%	16	0,0815 ns
Dodd i in. 1993 [62]	Kanada	3/7 43%	5/10 50%	16	0,0841 ns
Tu i in. 1994 [63]	USA	1/43	0/1	16	–
Moyret-Lalle i in. 1995 [64]	Francja	9/17 53%	7/22 32%	16	0,682 ns
Wideroff i in. 1996 [65]	USA	7/56 13%	4/42 10%	16, 18, 31, 33, 45	0,654 ns
Terris i Peehl 1997 [66]	USA	10/53 19%	12/58 20%	16	0,571 ns
<b>Serth i in. 1999 [67]</b>	<b>Niemcy</b>	<b>10/47 21%</b>	<b>1/37% 3%</b>	<b>16</b>	<b>0,027 is</b>
Carozzi i in. 2004 [68]	Włochy	6/24 25%	3/25 12%	16, 18, 31	0,333 ns
<b>Leiros i in. 2005 [69]</b>	<b>Argentyna</b>	<b>15/41 37%</b>	<b>0/30 0%</b>	<b>16</b>	<b>0,011 is</b>
Silvestre i in. 2009 [70]	Brazylia	2/65 3%	0/6 0%	16	–
<b>Martinez-Fierro i in. 2010 [71]</b>	<b>Meksyk</b>	<b>11/55 20%</b>	<b>4/75 5%</b>	<b>33, 45, 52, 58, 66</b>	<b>0,020 is</b>
Aghakhani i in. 2011 [72]	Iran	10/104 10%	5/104 5%	16, 18	0,213 ns
Chen i in. 2011 [46]	Australia	7/51 14%	3/11 27%	18	0,367 ns
Tachezy i in. 2012 [73]	Czechy	1/51 2%	2/95 2%	–	–
<b>Whitaker i in. 2013 [59]</b>	<b>Australia</b>	<b>29/50 58%</b>	<b>8/50 16%</b>	<b>18</b>	<b>0,003 is</b>
<b>Ghasemian i in. 2013 [74]</b>	<b>Iran</b>	<b>5/29 17%</b>	<b>8/167 5%</b>	–	<b>0,026 is</b>
Mokhtari i in. 2013 [75]	Iran	3/30 10%	1/90 1%	–	–
Michopoulou i in. 2014 [76]	Grecja	8/50 16%	1/30 3%	16, 18, 31	0,127 ns
<b>Singh i in. 2015 [77]</b>	<b>Indie</b>	<b>36/95 38%</b>	<b>4/55 7%</b>	<b>16, 18</b>	<b>0,001 is</b>
<b>Huang i in. 2016 [78]</b>	<b>Chiny</b>	<b>30/75 40%</b>	<b>9/73 12%</b>	–	<b>0,001 is</b>
Davila Rodriguez i in. 2016 [79]	Meksyk	12/62	1/25 4%	18, 51, 52	0,104 ns
<b>Atashafrooz i in. 2016 [80]</b>	<b>Iran</b>	<b>16/100 16%</b>	<b>2/100 2%</b>	<b>16, 18, 31, 33, 54</b>	<b>0,002 is</b>
<b>Medel-Flores i in. 2018 [81]</b>	<b>Meksyk</b>	<b>37/189 20%</b>	<b>16/167 10%</b>	<b>16, 18, 31, 33, 52, 58</b>	<b>0,014 is</b>

p = 0,05; is – istotne statystycznie; ns – nieistotne statystycznie

Głównym ograniczeniem metaanalizy były różnorodne projekty badań, podejście metodologiczne oraz różnorodny sposób pobrania materiału tkankowego, jak i jego jakość. Zasadniczo stosowano dwie różne metody do stwierdzenia obecności wirusa brodawczaka ludzkiego: metody tkankowe oparte na reakcji łańcuchowej polimerazy oraz testy serologiczne. Badania, które były oparte na wynikach testów serologicznych, wyłączone z porównania w niniejszej pracy z uwagi na istotnie odmienną, mniej dokładną technikę wykrywania wirusa HPV.

Dodatkowo Lawson i Glenn przedstawili w swojej metaanalizie 8 badań, w których HPV nie zostało zidentyfikowane w nowotworowej prostaty. Najnowszym z nich jest badanie przeprowadzone przez australijskich naukowców Yow i in. W 2014 roku. Przedstawili oni wyniki wpływu infekcji różnych patogenów przenoszonych drogą płciową, identyfikując materiał drobnoustrojów za pomocą

specyficznych dla nich testów w materiale histologicznym po prostatektomii oraz po zabiegu przezcewkowej elektroresekcji łagodnego rozrostu stercza – TURP. W 115 nadających się do analizy próbkach, w których rozpoznano różnego stopnia zaawansowania chorobę nowotworową stercza, w ani jednym przypadku nie wykryto DNA wirusa HPV za pomocą RT-PCR, stwierdzając tym samym, że wpływ badanych drobnoustrojów, w tym wirusa brodawczaka ludzkiego, można uznać za mało prawdopodobny w karcynogenezie raka stercza niezależnie od stopnia nowotworowego zaawansowania choroby [82].

Do podobnych wniosków doszli autorzy pozostałych 7 badań przedstawiających ujemną korelację HPV z rakiem stercza. Za pomocą aktualnie dostępnych genotypujących metod RT-PCR nie stwierdzali pozytywnych wyników DNA HPV w materiale biopsyjnym lub histopatologicznym z rakiem stercza. Wyniki poszczególnych prac przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Wyniki badań ujemnej korelacji infekcji HPV z rakiem stercza

Badanie	Kraj	Rak stercza	BPH	Podtyp HPV	Wartość p
Masood i in. 1991 [83]	USA	0/20	0/20	–	–
Effert i in. 1992 [84]	USA	0/30	–	– (16,18*)	–
Serfling i in. 1992 [85]	USA	0/30	–	–	–
Anderson i in. 1997 [86]	Wielka Brytania	0/14	0/10	– (16,18*)	–
Noda i in. 1998 [87]	Japonia	0/38	3/71	16 (16,18*)	p = 0,19 ns
Saad 1999 [88]	Kanada	0/40	–	16,18,31	–
Gazzaz i Mosli 2009 [89]	Arabia Saudyjska	0/6	0/50	–	–
Yow i in. 2014 [82]	Australia	0/115	–	–	–

p = 0,05; is – istotne statystycznie; ns – nieistotne statystycznie

(16,18\*) – badanie wyłącznie dwóch onkogennych podtypów wirusa HPV 16 i 18

Z uwagi na przypuszczalny, jednak nadal niejednoznaczny wpływ infekcji HPV na rozwój raka stercza, podjęto próbę znalezienia zależności tej infekcji z rakiem stercza za pomocą wcześniej niebadanej metody. Analizując dokładnie budowę anatomiczną i histologiczną stercza oraz onkogenezę raka gruczołu krokowego, uznano, że łagiewka sterczowa może być odpowiednim miejscem bytowania wirusa w męskich drogach moczowo-płciowych. Hipoteza ta oraz założenie oparte było również na fakcie, że to mężczyźni są transmitterami infekcji HPV podczas stosunku, przenosząc wirusa na płęć żeńską, wśród której infekcja HPV ma tak niekorzystny wpływ na zdrowie.

Ze względu na brak wcześniejszych danych naukowych dotyczących infekcji HPV w tym konkretnym miejscu gruczołu krokowego w momencie rozpoczęcia

niniejszego projektu nie można było przewidzieć kierunku uzyskanych wyników. Jednak z uwagi na to, że przewlekły stan zapalny w obrębie stercza sprzyja rozwojowi raka, a wirus HPV jest jedynym patogenem zakaźnym przenoszonym drogą płciową, któremu można zapobiec dzięki odpowiedniej immunoterapii pod postacią szczepień, uznano, że wskazana i potrzebna jest dodatkowa ocena tej infekcji u pacjentów z rakiem gruczołu krokowego.

Z powodu niewielkiego rozmiaru oraz lokalizacji łagiewki sterczowej wymaz możliwy był do wykonania jedynie w usuniętym materiale prostaty. Z tego względu do badania można było włączyć jedynie pacjentów z rozpoznanym rakiem gruczołu krokowego, zakwalifikowanych do radykalnego leczenia operacyjnego. Identyfikacja łagiewki sterczowej w preparacie, na wyeksponowanym na tylnej ścianie cewki wzgórku nasiennym, nie stanowiła istotnego problemu technicznego w 42 przypadkach (84%). W pozostałych przypadkach użyto szkła powiększającego celem jej precyzyjnej lokalizacji, ostatecznie nie mając wątpliwości co do jej prawidłowej identyfikacji, potwierdzając tym samym obecność szczątkowego elementu anatomicznego u wszystkich badanych pacjentów. Z uwagi na brak jednoznacznych danych co do budowy histologicznej łagiewki sterczowej na podstawie wspólnego pochodzenia embriologicznego z kanałem szyjki macicy założono, że obie te struktury mogą być wyścielone podobnym nabłonkiem, do którego wirus HPV wykazuje największe powinowactwo.

Przeprowadzony projekt nie uwzględniał oceny budowy histologicznej łagiewki sterczowej, a opierał się jedynie na założeniu podobnej budowy, uwarunkowanej wspólnym pochodzeniem embrionalnym.

Na 50 wymazów z łagiewki sterczowej w ani jednym przypadku nie uzyskano wyniku potwierdzającego obecność infekcji typami wysokiego ryzyka onkogenego HPV w tej strukturze. Niestety, uzyskanych danych nie można porównać z innymi piśmiennictwie z uwagi na brak wcześniejszych badań o podobnym kierunku. Badanie tego parametru było innowacyjne i wcześniej niewykonywane, jednak jednoznacznie dało odpowiedź, że łagiewka sterczowa nie jest miejscem bytowania i replikacji wirusa brodawczaka ludzkiego u pacjentów z rakiem stercza oraz że jest wysoce prawdopodobne, że wirus HPV nie ma również powinowactwa do nabłonka wyścielającego tę część prostaty.

Potwierdzeniem ujemnej korelacji infekcji HPV z rakiem stercza przedstawionej w badaniach, uwzględnionych w tabeli 9, są wyniki uzyskane z materiału z losowych miejsc prostaty u pacjentów z rakiem stercza. Na 24 przydatne do przeprowadzenia testu próbki nowotworowo zmienionej tkanki

prostaty, uzyskane z popłuczyn pobranych makroskopowo, również w żadnym z tych materiałów nie stwierdzono obecności DNA wirusa brodawczaka ludzkiego. Pomimo ograniczeń, jakim mógł być w tym przypadku skąpy materiał do badania, najczęściej w formie treści surowiczo płynnej bez obecności makroskopowej tkanki, można wnioskować, że nowotworowo zmieniona tkanka prostaty nie zawiera materiału genetycznego HPV i ta lokalizacja prostaty podobnie jak łagiewka sterczowa nie jest miejscem bytowania wirusa brodawczaka ludzkiego u pacjentów obciążonych rakiem stercza.

Z kolei w ostatniej badanej grupie, w której pobierano wymaz spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej u pacjentów z rakiem stercza, uzyskano jedynie dwa dodatnie wyniki potwierdzające obecność infekcji HPV typami wysokiego ryzyka. W obu przypadkach wyodrębniono cechy wspólne pacjentów, którymi były: aktywny nikotynizm, rozpoznane nowotwory prostaty zaliczane do grup wysokiego ryzyka wg klasyfikacji EAU (odpowiednio pT3acN1, pT2c) oraz w obu przypadkach niewielkie rozmiary gruczołu krokowego 15 i 18 ml. Te wyniki częściowo potwierdzają dwa wcześniej przeprowadzone badania autorstwa Anwar i in. oraz Singh i in., w których zaobserwowano wzrost częstości występowania zakażeń HPV w zaawansowanych i późnych stadiach raka prostaty [59] w porównaniu z mniej zaawansowanymi, wcześniejszymi stadiami raka stercza [77].

W celu dokładniejszej analizy i zrozumienia ewentualnej zależności pomiędzy infekcją HPV a przewlekłym nikotynizmem spośród całej populacji badanej wyodrębniono kolejne podgrupy pacjentów z dodatnim wywiadem nikotynowym (aktualnie lub w przeszłości) oraz pacjentów nigdy niepalących papierosów. W 9-osobowej grupie pacjentów niepalących wszyscy zadeklarowali stałą aktywność seksualną, pomimo podobnego wieku do grupy pacjentów potwierdzających wywiad nikotynowy. Istotność statystyczną różnicy w tym parametrze oceniono na  $p = 0,05$ . Wyniki te potwierdzają powszechnie znane dane na temat niższej aktywności seksualnej oraz słabszej erekcji u pacjentów przewlekle palących papierosy. Mechanizm tych zaburzeń oparty jest na gorszym przepływie krwi przez naczynia tętnicze m.in. tętnice prącia, na skutek ich zwężeń przez tworzące się blaszki miażdżycowe. Dodatkowo w grupie pacjentów niepalących był istotnie statystycznie niższy poziom PSA, jego mediana wynosiła 5,59 ng/ml względem poziomu 9,16 ng/ml w grupie pacjentów z dodatnim wywiadem nikotynowym. Na pograniczu istotności statystycznej były również różnice w stopniu histologicznej złośliwości raka gruczołu krokowego. U większości osób z grupy

niepalącej złośliwość raka według skali Gleasona oceniono na 3 + 3; ISUP 1, natomiast większość pacjentów z dodatnim wynikiem nikotynowym posiadała co najmniej 2. stopień według skali ISUP. Charakterystykę obu grup przedstawiono w tabeli 10.

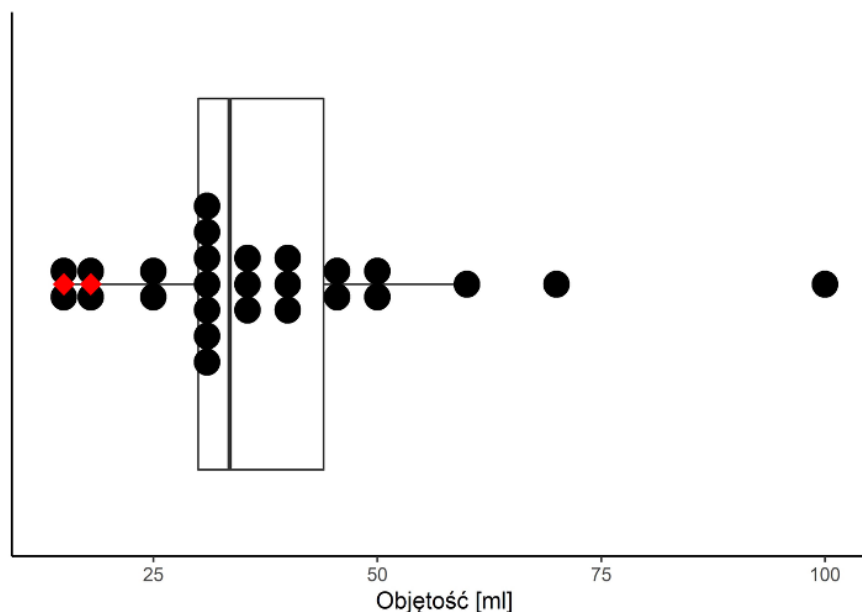
Tabela 10. Charakterystyka grupy pacjentów z dodatnim wywiadem nikotynowym oraz pacjentów negujących wywiad nikotynowy

Nikotynizm	Tak (kiedykolwiek)	Nie	
N	41	9	–
Wiek	64,3 (60,55–67,19)	63,73 (57,14–65,97)	0,47
Aktywność seksualna	29 (70,73%)	9 (100%)	0,09
ZUM	3 (7,32%)	0 (0%)	1
Nikotynizm	obecnie: 13 (31,71%) w przeszłości: 28 (68,29%)	nie: 9 (100%)	–
pT	pT2a: 3 (7,32%) pT2c: 20 (48,78%) pT3a: 15 (36,59%) pT3b: 2 (4,88%) pT4: 1 (2,44%)	pT2c: 5 (55,56%) pT3a: 3 (33,33%) pT3b: 1 (11,11%)	0,88
pN	N0: 38 (92,68%) N1: 3 (7,32%)	N0: 9 (100%)	1
PSA	9,16 (6,53–12,58)	5,59 (4,5–6)	0,002
PV	35 (25–45)	30 (30–39)	0,53
DRE	cT2c: 3 (7,32%) cT1c: 14 (34,15%) cT2b: 10 (24,39%) cT2a: 13 (31,71%) cT3: 1 (2,44%)	cT1c: 5 (55,56%) cT2b: 2 (22,22%) cT2c: 2 (22,22%)	0,15
Skala Gleasona	6: 9 (21,95%) 7: 27 (65,85%) 8: 3 (7,32%) 9: 2 (4,88%)	6: 5 (55,56%) 7: 2 (22,22%) 8: 1 (11,11%) 9: 1 (11,11%)	0,05
ISUP	1: 9 (21,95%) 2: 19 (46,34%) 3: 8 (19,51%) 4: 3 (7,32%) 5: 2 (4,88%)	1: 5 (55,56%) 2: 1 (11,11%) 3: 1 (11,11%) 4: 1 (11,11%) 5: 1 (11,11%)	0,1
MRI PIRADS	PIRADS 2: 3 (7,32%) PIRADS 3: 3 (7,32%) PIRADS 4: 21 (51,22%) PIRADS 5: 14 (34,15%)	PIRADS 3: 1 (11,11%) PIRADS 4: 6 (66,67%) PIRADS 5: 2 (22,22%)	0,79
MRI zajęcie węzłów	nie: 36 (87,8%) tak: 5 (12,2%)	nie: 9 (100%)	0,57
MRI naciek torebki	nie: 31 (75,61%) tak: 6 (14,63%) możliwy: 4 (9,76%)	nie: 8 (88,89%) tak: 1 (11,11%)	1

Analizując kolejną cechę wspólną pacjentów z dodatnim wynikiem testu DNA HPV w wymazie spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej, wyodrębniono grupę pacjentów z objętościami prostaty poniżej 20 ml, obliczoną



na podstawie rezonansu magnetycznego. Liczyła ona 6 osób. Statystycznie nie udało się dla tej grupy wyodrębnić charakterystycznych, wyróżniających ją cech ani wyciągnąć odpowiednich wniosków. Poniżej przedstawiono wykres rozkładu objętości prostaty dla podgrupy 1 z uwzględnieniem pacjentów z dodatnim wynikiem testu DNA HPV, którzy zostali oznaczeni kolorem czerwonym (ryc. 9).



Ryc. 9. Wykres pudełkowy objętości prostaty [ml] dla podgrupy 1. Czarne kropki reprezentują pojedyncze obserwacje. Na czerwono zaznaczono wartości parametrów dla pacjentów, u których wykryto HPV

Infekcja HPV pomimo jej dużego rozpowszechnienia nie jest tak powszechnie stwierdzana w populacji mężczyzn chorujących na raka stercza. Niniejsze wyniki oraz zebrane dane z wcześniejszego, dostępnego piśmiennictwa nie potwierdzają jej bezpośredniego wpływu w karcynogenezie raka stercza. Być może odgrywa ona rolę pośrednią, współdziałając z innymi drobnoustrojami, aktywując przewlekły stan zapalny, inaktywując tym samym białka oraz enzymy działające ochronnie w procesach onkogenezy lub odgrywa kluczową rolę w młodszych grupach wiekowych, kiedy to aktywność seksualna jest największa, początkując wówczas wieloletnią, długotrwałą kaskadę nowotworzenia, a w ostateczności u pacjentów z rozwiniętym już i zdiagnozowanym rakiem stercza pozostaje infekcją niewykrywalną.

Aktualnie w Polsce w najbliższym czasie planowane jest rozpoczęcie powszechnego, bezpłatnego i dobrowolnego programu szczepień dziewcząt i chłopców w wieku 11–13 lat przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego.

Program taki obecnie funkcjonuje w wielu krajach na całym świecie, a pierwsze efekty jego działania opublikowano w Wielkiej Brytanii, która stosuje powszechne szczepienia dziewcząt już od 2008 roku. Wyniki te wskazują na znaczną redukcję zapadalności na raka szyjki macicy, nawet o 87%. Oszacowano, że wprowadzenie programu w Wielkiej Brytanii zapobiegło 448 przypadkom raka szyjki macicy oraz ponad 17 tysiącom przypadków stanów przednowotworowych (CIN 3) w grupie młodych kobiet [90].

Ministerstwo Zdrowia rekomenduje włączenie w program szczepień również chłopców w wieku nastoletnim, argumentując to powszechnością zakażenia wśród obu płci, jego łatwą transmisją podczas kontaktów seksualnych oraz prawdopodobieństwem, że to mężczyźni mogą być nosicielami oraz transmitterami infekcji. Szczepienia chłopców mają zredukować przede wszystkim rozpowszechnienie infekcji wśród kobiet, zakładając heteroseksualizm jako najczęstszą orientację seksualną. Dodatkowym, równie istotnym argumentem jest udowodniony wpływ infekcji HPV na nowotwory występujące również w populacji męskiej, m.in. rak prącia, odbytu oraz nosogardzieli. Program szczepień w łatwy sposób ma zapobiec ich występowaniu lub istotnie zredukować ich zapadalność.

Wprowadzenie powszechnego programu szczepień przeciwko HPV wśród chłopców, w wieloletniej perspektywie obserwacji, przyniesie nam również jednoznaczną informację na temat wpływu tej infekcji na karcynogenezę raka stercza, przedstawiając ewentualną zmianę zachorowalności na ten nowotwór w grupie szczepionych chłopców.

## **Wnioski**

1. Brak materiału DNA wirusa brodawczaka ludzkiego (HR-HPV) w łagiewce sterczowej prostaty oraz w materiale z popłuczyn z lokalizacji guza nowotworowego w sterczu świadczy o braku infekcji HPV w obrębie nowotworowo zmienionego gruczołu krokowego.
2. Możliwe jest współwystępowanie infekcji HPV zlokalizowanej pod napletkiem lub w ujściu zewnętrznym cewki moczowej u pacjentów z rakiem stercza, jednak uzyskane wyniki nie pozwalają uznać infekcji HPV za bezpośredni czynnik ryzyka raka gruczołu krokowego.

## Ograniczenia pracy

1. Stosunkowo niewielka populacja chorych badania. Biorąc pod uwagę niską częstość stwierdzania DNA HPV w prostatce, w niektórych z dostępnych wcześniejszych badań nawet <5%, stwarza to prawdopodobieństwo, że subpopulacja chorych z obecną infekcją HPV może okazać się zbyt mała do analizy porównawczej.
2. Częściowa selekcja pacjentów – materiał do badań pochodził wyłącznie od pacjentów z rakiem stercza zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego w formie prostatektomii. Do tej formy leczenia wybiórczo kwalifikowani są chorzy najczęściej z nowotworem stercza ograniczonym do narządu. W zdecydowanej większości tak też było w wyodrębnionej grupie badanej, jedynie pojedyncze przypadki stanowiły zaawansowane stadia choroby.
3. Założenie projektu, polegające na zbadaniu obecności wirusa brodawczaka ludzkiego w łagiewce sterczowej, uniemożliwiało wyodrębnienie grupy kontrolnej, tj. pacjentów z prawidłową prostatą oraz pacjentów z łagodnym rozrostem stercza, gdyż materiał taki jest technicznie niemożliwy do pobrania in vivo z urologicznego punktu widzenia.
4. Niska częstość/brak obecności DNA HPV w pobranym materiale może wiązać się z wynikami fałszywie ujemnymi.

## Streszczenie

**Wstęp:** Rak stercza, podobnie jak powstający na bazie przetrwałej infekcji HR-HPV rak szyjki macicy u kobiet, jest najczęstszym nowotworem narządów płciowych. Etiologia raka prostaty nie jest do końca poznana. Stwierdza się istotne różnice w zachorowalności na ten nowotwór, w zależności od czynników geograficznych, etnicznych i środowiskowych. Jak do tej pory uznano infekcję HPV za możliwy i prawdopodobny czynnik ryzyka rozwoju raka stercza, jednak jej rola nie jest do końca poznana. Infekcja HPV jest najpowszechniejszym zakażeniem zarówno w populacji kobiet, jak i mężczyzn, przenoszonym drogą kontaktów seksualnych. Problem, jeżeli chodzi o związek HPV z rakiem prostaty, stanowić może brak nabłonka wielowarstwowego płaskiego nierogowaciejącego w sterczu, do którego wirus HPV ma największe powinowactwo.

Można przypuszczać, że łagiewka sterczowa, nazywana również męską pochwą, która jest małym uchylkiem części sterczowej cewki moczowej, należąca do pozostałości embrionalnych, z mocno pofałdowaną błoną śluzową, pokrytą płaskim nabłonkiem przypominającym nabłonek części pochwowej szyjki macicy, odpowiednik rozwojowy kobiecego kanału maciczno-pochwowego, leżący w bliskim sąsiedztwie wzgórka nasiennego, gdzie uchodzą przewody wytryskowe – jest doskonałym miejscem bytowania i transmisji wirusa HPV u mężczyzn.

Przed rozpoczęciem projektu założono, że w strukturach o zbliżonym pochodzeniu embrionalnym można spodziewać się podobnych patomechanizmów powstawania chorób.

**Cel pracy:** Ocena korelacji pomiędzy infekcją HPV u mężczyzn a rakiem prostaty poprzez zbadanie obecności wirusa brodawczaka ludzkiego w łagiewce sterczowej, losowych miejscach prostaty oraz pod napletkiem i w ujściu zewnętrznym cewki moczowej u pacjentów z rakiem gruczołu krokowego, poddanych radykalnej prostatektomii. Badanie takie nie było opisywane wcześniej w żadnym ośrodku.

**Materiał i metody:** Jest to prospektywne badanie kliniczne przeprowadzone w Klinice Urologii PUM w latach 2019–2022. Bezpośrednio po zabiegu w pobranym preparacie prostaty zidentyfikowano łagiewkę sterczową, pobierano z niej wymaz, a następnie przesyłano materiał do laboratorium w celu wykonania testu na obecność DNA wirusa HPV metodą real-time PCR z genotypowaniem wirusa. Następnie cała grupa badana została losowo podzielona na dwie podgrupy. W pierwszej podgrupie wykonywano wymaz spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej, a w drugiej – biopsję aspiracyjną z losowych miejsc prostaty z uwzględnieniem obecności guza. Wszystkie pobrane materiały oceniano w kierunku obecności DNA HPV, podobnie jak materiał z łagiewki sterczowej.

**Wyniki:** Badanie obejmowało 50 pacjentów, mediana wieku grypy badanej wynosiła 64 lata. 38 (76%) z nich zadeklarowało aktywność seksualną, 9 (18%)

negowało nikotynizm kiedykolwiek i wszyscy z nich byli również w grupie pacjentów aktywnych seksualnie. Największą grupę stanowili pacjenci z rakiem ograniczonym do narządu (pT2a ora pT2c) – 28 (56%) pacjentów, a dominującym stopniem histologicznej złośliwości była grupa 2 wg ISUP. Średnia wartość PSA wynosiła 7,89 ng/ml.

Na 50 wykonanych testów DNA HPV w materiale z łagiewki sterczowej w ani jednym przypadku nie uzyskano dodatniego wyniku, 0/50 (0%). Brak pozytywnego wyniku na obecność DNA HPV stwierdzono również w podgrupie, w której materiałem badanym były popłuczyny z losowych miejsc prostaty, gdzie uwzględniano również makroskopową lokalizację guza, 0/24 (0%). Pozytywne wyniki uzyskano jedynie w 2 przypadkach (7,69%) z podgrupy badanej pierwszej, która liczyła 26 pacjentów, u których obecność HPV potwierdzono w wymazie spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej. Zaskakującym jest fakt, że infekcja HPV u obu tych pacjentów nie była skorelowana z ich aktywnością seksualną ( $p = 0,054$ ), ponieważ obaj zadeklarowali brak aktualnej aktywności seksualnej. Potwierdza to informacje o długotrwałym utrzymywaniu się infekcji HPV w organizmie po zakażeniu.

**Wnioski:** Brak materiału DNA wirusa brodawczaka ludzkiego w łagiewce sterczowej prostaty oraz w losowym materiale z popłuczyn z uwzględnieniem lokalizacji guza nowotworowego w sterczu świadczy o braku infekcji HPV w obrębie nowotworowo zmienionego gruczołu krokowego. Analiza dotychczasowego piśmiennictwa oraz wyniki niniejszego badania nie pozwalają uznać infekcji HPV za bezpośredni czynnik ryzyka wpływający na rozwój raka gruczołu krokowego, natomiast jej wpływ może być złożony oraz pośredni, poprzez indukcję przewlekłego stanu zapalnego prostaty, koincydencję z innymi patogenami oraz wpływ na inaktywację białek oraz enzymów fizjologicznie hamujących proces nowotworowy. Dowody te są wystarczające, aby zachęcać do powszechnych szczepień przeciwko zakażeniom HPV, również wśród płci męskiej. Dodatkowym wnioskiem po analizie zebranych danych jest fakt istotnego, negatywnego wpływu nikotynizmu na aktywność seksualną.

## Summary

**Introduction.** Prostate cancer is the most common genital cancer among men, as in cervical cancer in women it could share an important risk factor which is persistent HR-HPV infection in the case of men too. The etiology of prostate cancer is not fully understood, there are significant differences in the incidence of this cancer that are dependent on geographical and ethnic factors. Currently, there is no conclusive data on the relationship between prostate cancer and HPV infection among men.

HPV infection is a common infection in both women and men, transmitted mainly through sexual contact. A problem occurs with the association of HPV with prostate cancer and the lack of squamous epithelium in the prostate, with which HPV has an affinity.

Perhaps the prostatic utricle, also called the male vagina, which is a small diverticulum of the prostatic urethra, belongs to embryonic remains, with a strongly folded mucosa and covered with a flat epithelium resembles the vaginal and the cervix epithelium, which is the developmental equivalent of the female utero-vaginal canal, and is an excellent environment for the HPV to find a home.

It could be assumed that in structures with similar embryological origin, we can expect a comparable formation of pathomechanisms in the disease. This assumption underlies this research project.

**Aim of the study.** To assess the correlation between HPV infection in men and prostate cancer by examining the presence of human papillomavirus in the prostatic utricle, in random places of the prostate with particular emphasis on the tumor site, under the foreskin and in the external opening of the urethra of men with prostate cancer who had undergone radical prostatectomy. Such a study has not been conducted in any other center before.

**Materials and methods.** This is a single-center, prospective, clinical trial carried out from 2019 to 2022. Immediately after the procedure is carried out, the prostate utricle is identified in the prostate specimen, a smear is taken, and then sent to the laboratory to be tested for the presence of HPV DNA by real-time PCR. This test detects the presence of HPV-specific DNA sequences at high risk of developing cervical cancer. Additionally, in one subgroup a smear is taken from under the foreskin and the external opening of the urethra, and in the other the aspiration biopsy is performed at the same time on the specimen from random locations of both prostate lobes, including the tumor site. All collected materials are assessed for the presence of HPV DNA, as well as material from the prostatic utricle.

**Results.** The study involved 50 patients, the median age of those studied was 64 years. 38 subjects (76%) declared sexual activity, 9 (18%) denied ever smoking and all these were also in the group of sexually active patients. The largest group consisted of

patients with organ-confined cancer (pT2a and pT2c)–28 (56%), the dominant histological grade being ISUP group 2. The mean PSA value was 7.89 ng/ml.

Out of 50 HPV DNA tests performed in prostatic utricle material, no positive result was obtained in any case, 0/50 (0%). The lack of a positive result for the presence of HPV DNA was also found in the subgroup where the test material was aspirated from random prostate sites, where the macroscopic location of the tumor was also taken into account, 0/24 (0%). Positive results were only obtained in 2 cases (7.69%) from the first study subgroup, which consisted of 26 patients, in whom the presence of HPV was confirmed by a swab from under the foreskin and the external opening of the urethra. Surprisingly, HPV infection in both of these patients was not correlated with their sexual activity ( $p = 0.054$ ), as both declared no current sexual activity, confirming the long-term persistence of HPV infection in the body after infection.

**Conclusions.** The lack of human papillomavirus DNA material in the prostatic utricle and in the random material in aspiration sample, while taking into account the location of the neoplastic tumor in the prostate, indicates the absence of HPV infection within the cancerous prostate gland. An analysis of the existing literature and the results of this study do not allow HPV infection to be considered as a direct risk factor affecting the development of prostate cancer, but its impact may be complex and indirect, through the induction of chronic inflammation of the prostate, coincidence with other pathogens and the inactivation of proteins and enzymes physiologically inhibiting the neoplastic process. This evidence is sufficient to encourage universal HPV vaccination, including among males. An additional conclusion after the analysis of the data collected is the significant negative impact of nicotine on sexual activity.



## Spis tabel

Tabela 1.	Kliniczna klasyfikacja TNM raka stercza z 2017 roku.....	10
Tabela 2.	Klasyfikacja raka stercza na poszczególne grupy ryzyka.....	11
Tabela 3.	Klasyfikacja raka stercza wg złośliwości histologicznej zatwierdzona przez ISUP .....	12
Tabela 4.	Charakterystyka kliniczna oraz zaawansowanie nowotworu prostaty dla całej badanej populacji.....	29
Tabela 5.	Charakterystyka kliniczna oraz zaawansowanie nowotworu prostaty dla podgrupy 1 .....	31
Tabela 6.	Charakterystyka kliniczna oraz zaawansowanie nowotworu prostaty dla podgrupy 2 .....	32
Tabela 7.	Charakterystyka pacjentów z dodatnim wynikiem DNA HPV w wymazie spod napletka oraz ujścia zewnętrznego cewki moczowej...	34
Tabela 8.	Wyniki badań pozytywnej korelacji infekcji HPV z rakiem stercza .....	36
Tabela 9.	Wyniki badań ujemnej korelacji infekcji HPV z rakiem stercza.....	37
Tabela 10.	Charakterystyka grupy pacjentów z dodatnim wywiadem nikotynowym oraz pacjentów negujących wywiad nikotynowy .....	40

## Spis rycin

Ryc. 1. Liczba zachorowań oraz zgonów na raka prostaty w Polsce w latach 2009–2020 według raportu KRN z 2022 roku .....	6
Ryc. 2. Pęcherz moczowy, prostata, część sterczowa cewki moczowej. Widok od przodu .....	22
Ryc. 3. Przecięty stercz. Ekspozycja tylnej ściany cewki moczowej. Materiał własny .....	22
Ryc. 4. Szczoteczka wymazowa Rovers EndoCervex-Brush®.....	22
Ryc. 5. Wykres pudełkowy wieku dla całej populacji badanej. Czarne kropki reprezentują pojedynczych pacjentów .....	24
Ryc. 6. Schemat blokowy (Flowchart) badania. Podział całej populacji na poszczególne grupy badane.....	25
Ryc. 7. Wykres pudełkowy wartości PSA [ng/ml] dla całej populacji badania. Czarne kropki reprezentują pojedyncze obserwacje .....	28
Ryc. 8. Wykres pudełkowy objętości prostaty [ml] dla całej populacji badania. Czarne kropki reprezentują poszczególnych chorych.....	28
Ryc. 9. Wykres pudełkowy objętości prostaty [ml] dla podgrupy 1. Czarne kropki reprezentują pojedyncze obserwacje. Na czerwono zaznaczono wartości parametrów dla pacjentów, u których wykryto HPV .....	41

## Piśmiennictwo

1. Wojciechowska U., Barańska K., Michałek I., Olasek P., Miklewska M., Didkowska J.A.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2020 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów, 2022. ISSN 0867-8251.
2. Sandhu S., Moore C.M., Chiong E., Beltran H., Bristow R.G., Williams S.G.: Prostate cancer. *Lancet*. 2021; 398(10305), 1075–1090. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00950-8. PMID: 34370973.
3. EAU Guidelines: Prostate Cancer | Uroweb [Internet]. <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/>
4. Klein E.A., Jones J.S.: Management of Prostate Cancer. Springer Science & Business Media, 2012, s. 4–10. ISBN 978-1-60761-259-9.
5. Patel A.R., Klein E.A.: Risk factors for prostate cancer. *Nat Clin Pract Urol*. 2009; 6(2), 87–95. DOI: 10.1038/ncpuro1290. PMID: 19198622.
6. Randazzo M., Müller A., Carlsson S., Eberli D., Huber A., Grobholz R. i in.: A positive family history as a risk factor for prostate cancer in a population-based study with organised prostate-specific antigen screening: results of the Swiss European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC, Aarau). *BJU Int* 2016; 117(4), 576–583. DOI: 10.1111/bju.13310. PMID: 26332304.
7. Rider J.R., Wilson K.M., Sinnott J.A., Kelly R.S., Mucci L.A., Giovannucci E.L.: Ejaculation Frequency and Risk of Prostate Cancer: Updated Results with an Additional Decade of Follow-up. *Eur Urol* 2016; 70(6), 974–982. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.03.027. PMID: 27033442.
8. Pabalan N., Singian E., Jarjanazi H., Paganini-Hill A.: Association of male circumcision with risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2015; 18(4), 352–357. DOI: 10.1038/pcan.2015.34. PMID: 26215783.
9. Lian W.Q., Luo F., Song X.L., Lu Y.J., Zhao S.C. Gonorrhea and Prostate Cancer Incidence: An Updated Meta-Analysis of 21 Epidemiologic Studies. *Med Sci Monit* 2015; 21, 1902–1910. DOI: 10.12659/MSM.893579. PMID: 26126881.
10. Sfanos K.S., Yegnasubramanian S., Nelson W.G., De Marzo A.M.: The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development. *Nat Rev Urol* 2018; 15(1), 11–24. DOI: 10.1038/nrrol.2017.167. PMID: 29089606.
11. Ablin R.J., Mason M.D.: Metastasis of Prostate Cancer. Springer Science & Business Media, 2007, s. 5–18. ISBN 978-1-4020-5847-9.
12. Popiolek M., Rider J.R., Andren O., Andersson S.O., Holmberg L., Adami H.O. i in.: Natural history of early, localized prostate cancer: a final report from three decades of follow-up. *Eur Urol* 2013, 63(3), 428–435. DOI: 10.1016/j.eururo.2012.10.002. PMID: 23084329.
13. Ramon J., Denis L.J.: Prostate Cancer. Springer Science & Business Media, 2007, s. 34. ISBN 978-3-540-40901-4.
14. Tewari A.K., Whelan P., Graham J.D.: Prostate Cancer: Diagnosis and Clinical Management. John Wiley & Sons, 2013, s. 7–8. ISBN 978-1-118-34739-3.

15. Thompson M., Resnick M.I., Klein E.A.: Prostate Cancer Screening. Springer Science, 2001. ISBN 978-1-4757-6306-5.
16. Cowen M.E., Chartrand M., Weitzel W.F.: A Markov model of the natural history of prostate cancer. *J Clin Epidemiol* 1994; 47(1), 3–21. 1994. DOI: 10.1016/0895-4356(94)90029-9. PMID: 8283192.
17. Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind C. (eds.): TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer. 8th edn. Wiley & Sons, 2017. <https://www.uicc.org/resources/tnm-classification-malignant-tumours-8th-edition>
18. Cooperberg M.R., Pasta D.J., Elkin E.P., Litwin M.S., Latini D.M., Du Chane J. i in.: The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy. *J Urol* 2005, 173(6), 1938–1942. DOI: 10.1097/01.ju.0000158155.33890.e7. PMID: 15879786.
19. Eble J.N., Sauter G., Epstein J.I., Sesterhenn I.A.: Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. IARC Press, 2004. s. 179.
20. Stachura, Domagała W.: Patologia znaczy słowo o chorobie, tom II, wydanie trzecie. Polska Akademia, 2019, s. 998–1000. ISBN 978-83-7676-307-1.
21. Epstein J.I., Egevad L., Amin M.B., Delahunt B., Srigley J.R., Humphrey P.A.: The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol* 2016; 40(2), 244–252. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000530. PMID: 26492179.
22. Krzakowski M., Potemski P., Warzocha K., Wysocki P.: Onkologia kliniczna. T. II. Via Medica, 2015, s. 742. ISBN 978-83-7599-796-5.
23. Epstein J.I., Zelefsky M.J., Sjoberg D.D., Nelson J.B., Egevad L., Magi-Galluzzi C. i in.: A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur Urol* 2016; 69(3), 428–435. DOI: 10.1016/j.eururo.2015.06.046. PMID: 26166626.
24. Oh C.S., Chung I.H., Won H.S., Kim J.H., Nam K.: Morphologic Variations of the Prostatic Utricle. *Clin Anat* 2009; 22(3), 358–364. DOI: 10.1002/ca.20759. PMID: 19173260.
25. Sklinda K., Dąbrowska A., Olejnik P., Walecki J.: Anatomia prawidłowa i zmiany łagodne w PI-RADS v2. *Prz. Urol.* 2017, 1, 26–29.
26. Sadler T.W.: Embriologia lekarska. Med Tour Press International, 1993, s. 260–287. ISBN 83-900617-4-0.
27. Bręborowicz G.H.: Położnictwo i ginekologia, t. 2. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, 2016, s. 75–78, 197, 209–211. ISBN 978-83-200-4999-2.
28. Bochenek A., Reicher M.: Anatomia człowieka, t. 4. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, 1958, s. 165–172, 232–237, 294–304.
29. Partridge J.M., Koutsky L.A.: Genital human papillomavirus infection in men. *Lancet Infect Dis* 2006; 6(1), 21–31. DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70323-6. PMID: 16377531.

30. Reid R., Stanhope C.R., Herschman B.R., Booth E., Phibbs G.D., Smith J.P.: Genital warts and cervical cancer. I. Evidence of an association between subclinical papillomavirus infection and cervical malignancy. *Cancer* 1982; 50(2), 377–387. DOI: 10.1002/1097-0142(19820715)50:2<377::aid-cnrcr2820500236>3.0.co;2-a. PMID: 6282442.
31. Krawczyk E., Supryniewicz F.A., Liu X., Dai Y., Hartmann D.P., Hanover J., Schlegel R.: Koilocytosis: A cooperative interaction between the human papillomavirus E5 and E6 oncoproteins. *Am J Pathol* 2008; 173(3), 682–688. DOI: 10.2353/ajpath.2008.080280. PMID: 18688031.
32. Lebelo R.L., Boulet G., Nkosi C.M., Bida M.N., Bogers J.P., Mphahlele M.J.: Diversity of HPV types in cancerous and pre-cancerous penile lesions of South African men: implications for future HPV vaccination strategies. *J Med Virol* 2014; 86(2), 257–265. DOI: 10.1002/jmv.23730. PMID: 24155172.
33. Munoz N., Castellsagué X., Berrington de González A., Gissmann L.: Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006; 24 Suppl 3: S3/1. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.05.115. PMID: 16949995.
34. Nordenvall C., Chang E.T., Adami H.O., Ye W.: Cancer risk among patients with condylomata acuminata. *Int J Cancer* 2006; 119(4), 888–893. DOI: 10.1002/ijc.21892. PMID: 16557590.
35. Cai T., Di Vico T., Durante J., Tognarelli A., Bartoletti R.: Human papilloma virus and genitourinary cancers: a narrative review. *Minerva Urol Nefrol.* 2018; 70(6), 579–587. DOI: 10.23736/S0393-2249.18.03141-7. PMID: 30160386.
36. Sutcliffe S., Giovannucci E., Gaydos C.A., Viscidi R.P., Jenkins F.J., Zenilman J.M. I in.: Plasma antibodies against Chlamydia trachomatis, human papillomavirus, and human herpesvirus type 8 in relation to prostate cancer: a prospective study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007; 16(8), 1573–1580. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0134. PMID: 17684131.
37. Yin B., Liu W., Yu P., Liu C., Chen Y., Duan X. i in.: Association between human papillomavirus and prostate cancer: a meta-analysis. *Oncol Lett.* 2017; 14(2): 1855–1865. DOI: 10.3892/ol.2017.6367. PMID: 28789421.
38. Ohshima H., Bartsch H.: Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res.* 1994; 305(2), 253–264. DOI: 10.1016/0027-5107(94)90245-3. PMID: 7510036.
39. Schetter AJ, Heegaard NH, Harris CC. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis.* 2010; 31(1), 37–49. DOI: 10.1093/carcin/bgp272. PMID: 19955394.
40. De Marzo A.M., Platz E.A., Sutcliffe S., Xu J., Grönberg H., Drake C.G. i in.: Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2007; 7(4), 256–269. DOI: 10.1038/nrc2090. PMID: 17384581.
41. Lin Y., Mao Q., Zheng X., Yang K., Chen H., Zhou C. i in.: Human papillomavirus 16 or 18 infection and prostate cancer risk: a metaanalysis. *Iran J Med Sci.* 2011; 180(2), 497–503. DOI: 10.1007/s11845-011-0692-6. PMID: 21400096.

42. Bae J.M.: Human papillomavirus 16 infection as a potential risk factor for prostate cancer: an adaptive meta-analysis. *Epidemiol Health*. 2015; 37:e2015005. DOI: 10.4178/epih/e2015005. PMID: 25687950.
43. Yang L., Xie S., Feng X., Chen Y., Zheng T., Dai M. i in.: Worldwide prevalence of human papillomavirus and relative risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2015; 5, 14667. DOI: 10.1038/srep14667. PMID: 26441160.
44. Russo G.I., Calogero A.E., Condorelli R.A., Scalia G., Morgia G., La Vignera S.: Human papillomavirus and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Aging Male* 2020; 23(2), 132–138. DOI: 10.1080/13685538.2018.1455178. PMID: 29571270.
45. Lyu Z., Feng X., Li N., Zhao W., Wei L., Chen Y. i in.: Human papillomavirus in semen and the risk for male infertility: a systematic review and metaanalysis. *BMC Infect Dis*. 2017; 17(1): 714. DOI: 10.1186/s12879-017-2812-z. PMID: 29121862.
46. Chen A.C., Waterboer T., Keleher A., Morrison B., Jindal S., McMillan D. i in.: Human papillomavirus in benign prostatic hyperplasia and prostatic adenocarcinoma patients. *Pathol Oncol Res*. 2011; 17(3), 613–617. DOI: 10.1007/s12253-010-9357-4. PMID: 21240663.
47. Carozzi F., Tamburrino L., Bisanzi S., Marchiani S., Paglierani M., Di Lollo S. i in.: Are biomarkers evaluated in biopsy specimens predictive of prostate cancer aggressiveness? *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016; 142, 201–212. DOI: 10.1007/s00432-015-2015-1. PMID: 26210155.
48. Lawson J.S., Glenn W.K.: Evidence for a causal role by human papillomaviruses in prostate cancer – a systematic review. *Infect Agent Cancer* 2020; 15, 41. DOI: 10.1186/s13027-020-00305-8. PMID: 32684946.
49. Puppo V., Puppo G.: Male vagina is a more accurate term than prostatic utricle. *Int J Urol*. 2015, 23(1), 108. DOI: 10.1111/iju.12998. PMID: 26500156.
50. Putz R., Pabst R.: *Sobotta Atlas Anatomii Człowieka, t. 2, przeł. Woźniak W., Jędrzejewski K., Urban & Partner, 2010, s. 190-198, ISBN 978-83-89581-09-9*
51. Hesselink A.T., Sahli R., Berkhof J., Snijders P.J., van der Salm M.L., Agard D. i in.: Clinical validation of Anyplex™ II HPV HR Detection according to the guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening. *J Clin Virol* 2016; 76, 36–39. DOI: 10.1016/j.jcv.2016.01.009. PMID: 26809131.
52. Meijer C.J., Berkhof J., Castle P.E., Hesselink A.T., Franco E.L., Ronco G. i in.: Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer* 124(3), 516–520. DOI: 10.1002/ijc.24010. PMID: 18973271.
53. Hesselink A.T., Sahli R., Berkhof J., Snijders P.J., van der Salm M.L., Agard D. i in.: Clinical validation of Anyplex™ II HPV HR Detection according to the guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening. *J Clin Virol*. 2016; 76, 36–39. DOI: 10.1016/j.jcv.2016.01.009. PMID: 26809131.
54. R Core Team (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

55. Wickham H.: *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, 2016. ISBN 978-3-319-24277-4
56. Aragon T.J.: *epitools: Epidemiology Tools*. R package version 0.5-10.1. <https://CRAN.R-project.org/package=epitools>
57. McNicol P.J., Dodd J.G.: High prevalence of human papillomavirus in prostate tissues. *Urol J*. 1991; 145(4), 850–853. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)38476-8. PMID: 1848641.
58. Whitaker N.J., Glenn W.K., Sahrudin A., Orde M.M., Delprado W., Lawson J.S.: Human papillomavirus and Epstein Barr virus in prostate Cancer: Koilocytes indicate potential oncogenic influences of human papillomavirus in prostate Cancer. *Prostate* 2013; 73(3), 236–241. DOI: 10.1002/pros.22562. PMID: 22851253.
59. Anwar K., Nakakuki K., Shiraishi T., Naiki H., Yatani R., Inuzuka M.: Presence of rasoncogene mutations and human papillomavirus DNA in human prostate carcinomas. *Cancer Res* 1992; 52, 5991–596. PMID: 1382850.
60. Ibrahim G.K., Gravitt P.E., Dittrich K.L., Ibrahim S.N., Melhus O., Anderson S.M. i in.: Detection of human papillomavirus in the prostate by polymerase chain reaction and in situ hybridization. *J Urol*.1992; 148(6), 1822–1826. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)37040-4. PMID: 1279224.
61. Rotola A., Monini P., Di Luca D., Savioli A., Simone R., Secchiero P. i in.: Presence and physical state of HPV DNA in prostate and urinary-tract tissues. *Int J Cancer*. 1992; 52(3), 359–365. DOI: 10.1002/ijc.2910520306. PMID: 1328067.
62. Dodd J.G., Paraskevas M., McNicol P.J.: Detection of human papillomavirus 16 transcription in human prostate tissue. *J Urol*. 1993; 149(2), 400–402. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)36103-7. PMID: 7678873.
63. Tu H., Jacobs S.C., Mergner W.J., Kyprianou N.: Rare incidence of human papillomavirus types 16 and 18 in primary and metastatic human prostate cancer. *Urology* 1994; 44, 726–731. DOI: 10.1016/s0090-4295(94)80215-7. PMID: 7974946.
64. Moyret-Lalle C., Marçais C., Jacquemier J., Moles J.P., Daver A., Soret J.Y. i in.: Ras, p53 and HPV status in benign and malignant prostate tumors. *Int J Cancer* 1995; 64(2), 124–129. DOI: 10.1002/ijc.2910640209. PMID: 7542226.
65. Wideroff L., Schottenfeld D., Carey T.E., Beals T., Fu G., Sakr W. i in.: Human papillomavirus DNA in malignant and hyperplastic prostate tissue of black and white males. *Prostate* 1996, 28(2), 117–123. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0045(199602)28:2<117::AID-PROS7>3.0.CO;2-D. PMID: 8604392.
66. Terris M.K., Peehl D.M.: Human papillomavirus detection by polymerase chain reaction in benign and malignant prostate tissue is dependent on the primer set utilized. *Urology* 1997; 50, 150–156. DOI: 10.1016/S0090-4295(97)00126-X. PMID: 9218040.
67. Serth J., Panitz F., Paeslack U., Kuczyk M.A., Jonas U.: Increased levels of human papillomavirus type 16 DNA in a subset of prostate cancers. *Cancer Res*. 1999; 59(4), 823–825. PMID: 10029070.
68. Carozzi F., Lombardi F.C., Zendron P., Confortini M., Sani C., Bisanzi S. i in.: Association of human papillomavirus with prostate cancer: analysis of a consecutive

- series of prostate biopsies. *Int J Biol Markers* 2004; 19(4), 257–261. DOI: 10.1177/172460080401900401. PMID: 15646830.
69. Leiros G.J., Galliano S.R., Sember M.E., Kahn T., Schwarz E., Eiguchi K.: Detection of human papillomavirus DNA and p53 codon 72 polymorphism in prostate carcinomas of patients from Argentina. *BMC Urol.* 2005 Nov 24;5:15. doi: 10.1186/1471-2490-5-15. PMID: 16307686; PMCID: PMC1314892.
  70. Silvestre R.V., Leal M.F., Demachki S., Nahum M.C., Bernardes J.G., Rabenhorst S.H. i in.: Low frequency of human papillomavirus detection in prostate tissue from individuals from northern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009; 104(4), 665–667. DOI: 10.1590/s0074-02762009000400024. PMID: 19722096.
  71. Martinez-Fierro M.L., Leach R.J., Gomez-Guerra L.S., Garza-Guajardo R., Johnson-Pais T., Beuten J. i in.: Identification of viral infections in the prostate and evaluation of their association with cancer. *BMC Cancer* 2010; 10, 326. DOI: 10.1186/1471-2407-10-326. PMID: 20576103.
  72. Aghakhani A., Hamkar R., Parvin M., Ghavami N., Nadri M., Pakfetrat A. i in.: The role of human papillomavirus infection in prostate carcinoma. *Scand J Infect Dis.* 2011; 43(1), 64–69. DOI: 10.3109/00365548.2010.502904. PMID: 20662618.
  73. Tachezy R., Hrbacek J., Heracek J., Salakova M., Smahelova J., Ludvikova V. i in.: HPV persistence and its oncogenic role in prostate tumors. *J Med Virol.* 2012; 84, 1636–1645. DOI: 10.1002/jmv.23367. PMID: 22930513.
  74. Ghasemian E., Monavari S.H., Irajian G.R., Jalali Nodoshan M.R., Roudsari R.V., Yahyapour Y.: Evaluation of human papillomavirus infections in prostatic disease: a cross-sectional study in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(5), 3305–3308. DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.5.3305. PMID: 23803120.
  75. Mokhtari M., Taghizadeh F., Hani M.: Is prostatic adenocarcinoma in a relationship with human papilloma virus in Isfahan-Iran. *J Res Med Sci* 2013; 18(8), 707–710. PMID: 24379849; PMCID: PMC3872612.
  76. Michopoulou V., Derdas S.P., Symvoulakis E., Mourmouras N., Nomikos A., Delakas D. i in.: Detection of human papillomavirus (HPV) DNA prevalence and p53 codon 72 (Arg72Pro) polymorphism in prostate cancer in a Greek group of patients. *Tumour Biol* 2014; 35(12), 12765–12773. DOI: 10.1007/s13277-014-2604-7. PMID: 25213701.
  77. Singh N., Hussain S., Kakkar N., Singh S.K., Sobti R.C., Bharadwaj M.: Implication of high risk Human papillomavirus HR-HPV infection in prostate cancer in Indian population – A pioneering case-control analysis. *Sci Rep.* 2015; 5, 7822. DOI: 10.1038/srep07822. PMID: 25592643.
  78. Huang L., Wu M.G., He J., Wei Z.S., Lü W.X., Song X.J. i in.: Correlation of highrisk HPV 16/18 infections with prostate cancer. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2016; 22, 501–505. PMID: 28963837.
  79. Dávila-Rodríguez M.I., Ignacio Morales C.V., Aragón Tovar A.R., Olache Jimenez D., Castelán Maldonado E., Lara Miranda S. i in.: Human papilloma virus detection by INNOLiPA HPV in prostate tissue from men of Northeast Mexico. *Asian Pac J Cancer*



- Prev 2016, 17(11), 4863–4865. DOI: 10.22034/APJCP.2016.17.11.4863. PMID: 28030912.
80. Atashafrooz F., Rokhbakhsh-Zamin F.: Frequency and type distribution of human papilloma virus in patients with prostate Cancer, Kerman, southeast of Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17(8), 3953–3958. PMID: 27644644.
  81. Medel-Flores O., Valenzuela-Rodríguez V.A., Ocadiz-Delgado R., Castro-Muñoz L.J., Hernández-Leyva S., Lara-Hernández G. i in. Association between HPV infection and prostate cancer in a Mexican population. *Genet Mol Biol.* 2018; 41(4), 781–789. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2017-0331. PMID: 30508006.
  82. Yow M.A., Tabrizi S.N., Severi G., Bolton D.M., Pedersen J., Longano A. i in.: Detection of infectious organisms in archival prostate cancer tissues. *BMC Cancer.* 2014; 14, 579. DOI: 10.1186/1471-2407-14-579. PMID: 25106851.
  83. Masood S., Rhatigan R.M., Powell S., Thompson J., Rodenroth N.: Human papillomavirus in prostatic cancer: no evidence found by in situ DNA hybridization. *South Med J.* 1991; 84(2), 235–236. DOI: 10.1097/00007611-199102000-00020. PMID: 1703667.
  84. Effert P.J., Frye R.A., 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(1), 192–196. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)37195-1. PMID: 1309581.
  85. Serfling U., Ciancio G., Zhu W., Leonardi C., Penneys N.S. Human Papillomavirus and Herpes Virus DNA are not detected in benign and malignant prostatic tissue using the polymerase chain reaction. *J Urol.* 1992; 148(1), 192–194. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)36551-5. PMID: 1319507.
  86. Anderson M., Handley J., Hopwood L., Murrant S., Stower M., Maitland N.J.: Analysis of prostate tissue DNA for the presence of human papillomavirus by polymerase chain reaction, cloning, and automated sequencing. *J Med Virol* 1997; 52(1), 8–13. DOI: 10.1002/(sici)1096-9071(199705)52:1<8::aid-jmv2>3.0.co;2-8. PMID: 9131451.
  87. Noda T., Sasagawa T., Dong Y., Fuse H., Namiki M., Inoue M.: Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in archival specimens of benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer using a highly sensitive nested PCR method. *Urol Res* 1998; 26(3), 165–169. DOI: 10.1007/s002400050041. PMID: 9694597.
  88. Saad F., Gu K., Jean-Baptiste J., Gauthier J., MesMasson A.M.: Absence of human papillomavirus sequences in early stage prostate cancer. *Can J Urol.* 1999; 6(4), 834–838. PMID: 11180776.
  89. Gazzaz F.S., Mosli H.A.: Lack of detection of human papillomavirus infection by hybridization test in prostatic biopsies. *Saudi Med J* 2009; 30(5), 633–637. PMID: 19417961.
  90. Falcaro M., Castañon A., Ndlela B., Checchi M., Soldan K., Lopez-Bernal J. et al.: The effects of the national HPV vaccination programme in England, UK, on cervical cancer and grade 3 cervical intraepithelial neoplasia incidence: a register-based observational study. *Lancet* 2021, 398(10316), 2084–2092. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02178-4. PMID: 34741816.