

Возможно ли влияние микоплазменной инфекции на патогенез рака предстательной железы?

Ю.Г. Аляев¹, А.З. Винаров¹, Д.Н. Фиев¹, Ю.А. Барыкова², Н.А. Винарова¹,
Д.Ю. Логунов², М.М. Шмаров², Б.С. Народицкий², А.В. Гудков³, А.Л. Гинцбург²

¹ММА им. И.М. Сеченова; ²НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва; ³Институт рака, Росвелл Парк, США

CAN MYCOPLASMA INFECTION AFFECT THE PATHOGENESIS OF PROSTATE CANCER?

Yu.G. Alyaev¹, A.Z. Vinarov¹, D.N. Fiyev¹, Yu.A. Barykova², N.A. Vinarova¹,
D.Yu. Logunov², M.M. Shmarov², B.S. Naroditsky², A.V. Gudkov³, A.L. Gintsburg²

¹I.M. Sechenov Moscow Medical Academy; ²N.F. Gamaleya

Research Institute of Experimental Medicine; ³Institute of Cancer, Roswell Park, USA

Objective: to define a possible correlation between *Mycoplasma* infection persistence and prostate cancer (PC).

Subjects and methods. Two hundred and fifty males aged 45 to 83 years (mean age 65.5 ± 0.71 years) with suspected PC were examined. In all the patients, polyfocal prostate biopsy from 12 points was carried out, by additionally taking 2 tissue columns from the peripheral area of both lobes. The basic material was referred for morphological study; the two additional columns were tested for *Mycoplasma* DNA by a polymerase chain reaction (PCR) and real-time PCR. The study was blind. According to the morphological findings, the patients were divided into 2 groups: 1) those with chronic prostatitis, prostate adenoma, low-grade prostatic interstitial neoplasia (PIN); 2) those with high-grade PIN (HG-PIN), PC. There were no age differences between the groups ($p = 0.05$).

Results. The standard procedure for PCR was applied to 127 subjects. Twenty-six (20.5%) of the 127 subjects with suspected PC were found to have *Mycoplasma* infection, *Mycoplasma* being detected in 21 (26.2%) of the 81 patients with verified HG-PIN and PC. *Mycoplasma hominis* was encountered in 19 (15%) patients of the 127 subjects with suspected PC and this infection was present in 16 (20%) of the 81 patients with verified HG-PIN and PC. Comparison of the frequency of HG-PIN and PC in the patients of general group (60%) and in those with *Mycoplasma* infection (80.8%) revealed significant differences ($p = 0.031$). HG-PIN and PC were also significantly more frequently seen in the patients with *Mycoplasma hominis* (84.2%) than in the general patient group (60%) ($p = 0.033$). There were no significant differences in the frequency of HG-PIN and PC between the patients from the general group (60%) and those with *Mycoplasma genitalium* (71.4%) ($p = 0.05$).

The patients with verified PC and HG-PIN were more frequently found to have *Mycoplasma hominis* (20%) than *Mycoplasma genitalium* (6.2%), which further drew our closer attention to just this pathogen.

The real-time PCR was used in 123 subjects to detect *Mycoplasma*. HG-PIN and prostate adenocarcinoma were revealed in 63 of the 123 patients with suspected PC, *Mycoplasma hominis* was seen in 46 (37%). The frequency ($n=46$) was 73.9%. The frequency of HG-PIN and PC was significantly higher in the patients with isolated *Mycoplasma hominis* DNA than in those without this pathogen ($p < 0.001$).

Conclusion. Thus, the investigation showed a significantly higher correlation in the frequency of HG-PIN and PC in the patients with *Mycoplasma* infection than in the general study patients with suspected PC. This was supported by the use of both the standard procedure for *Mycoplasma* DNA determination and real-time PCR diagnosis.

Key words: prostate cancer, viral and infectious diseases, correlation, *Mycoplasma*

Введение

Исследования последних лет вновь заставили затронуть вопрос о возможной корреляции между вирусными и инфекционными заболеваниями предстательной железы (ПЖ) человека и ее раковым поражением. Так, известно, что пациенты с раком ПЖ (РПЖ) чаще болеют венерическими заболеваниями, а рак шейки матки встречается чаще у жен больных РПЖ (A.V. D'Amico, 1995); инфекционный простатит, возможно, играет значительную роль в сложном и многофакторном процессе развития карциномы ПЖ [1]. Полиомавирусы, такие как ВК (ВКВ), JC (JCV) и SV40, так же как и вирус папилломы человека (ВПЧ), часто вовлекают

в онкогенез человеческие и другие клеточные линии; ВКВ обнаруживался и мог играть соответствующую роль в развитии и прогрессировании РПЖ у пациентов [2, 3].

В 2008 г. в американском журнале «Oncogene» опубликованы результаты исследования, проведенного нами на эмбриональной культуре фибробластов крыс и мышей, в котором изучалось влияние микоплазм на клеточные сигнальные системы. В частности, было показано, что микоплазменная инфекция путем подавления функции онкобелка p53 и активирования ядерного фактора NF-kB приводит в клетке к изменениям, которые могут обуславливать в последующем возникновение мута-

ций, генетической нестабильности, хронического воспаления, пролиферации, блокирование апоптоза (рис. 1). Данные трансформации могут predisполагать к злокачественному перерождению в клетках.

Это очевидно, если вспомнить, что представляют собой такие клеточные сигнальные системы, как онкобелок p53 и ядерный фактор NF-κB, на которые влияет микоплазменная инфекция. Онкобелок p53 — главный фактор, препятствующий канцерогенезу; определяет ответ клетки на стресс через активацию апоптоза или ареста клеточного цикла; поддерживает генетическую стабильность в клеточной популяции; функция p53 часто нарушена в опухолевых клетках; потеря функции p53 является одним из наиболее сильных факторов опухолевой прогрессии. Ядерный фактор NF-κB — основной фактор, стимулирующий канцерогенез; главный регулятор воспаления; активируется в ответ на множество внешних воздействий и регулирует экспрессию генов врожденного и приобретенного иммунитета; мощный ингибитор апоптоза, индуцирующий экспрессию множества антиапоптоических факторов; активен более чем в 90% опухолей; большинство опухолей чувствительно к ингибированию NF-κB; снижает активность p53.

Микоплазмы — одни из наиболее распространенных этиологических агентов инфекции половой системы мужчин. *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* и *Ureaplasma urealyticum* являются генитальными [4, 5]. В то же время участие микоплазм в генезе негонококкового уретрита (НГУ), простатита и эпидидимита признается далеко не всеми авторами [6—14].

Малая изученность и спорные результаты наличия, персистенции и повреждающего воздействия микоплазменной инфекции на ткань ПЖ человека, а также данные исследований в культуре клеток ПЖ животных в отношении возможного участия в механизмах развития РПЖ, заставили нас провести собственное исследование. В нем мы изучали корреляцию между персистенцией микоплазм в ПЖ и различными патологическими процессами в ней.

Материалы и методы

В Урологической клинике ММА им. И.М. Сеченова 250 мужчинам с подозрением на РПЖ выполнили трансректальную полифокальную биопсию ПЖ под ультразвуковым наведением. Все больные прошли дооперационное обследование. Для исключения контаминации

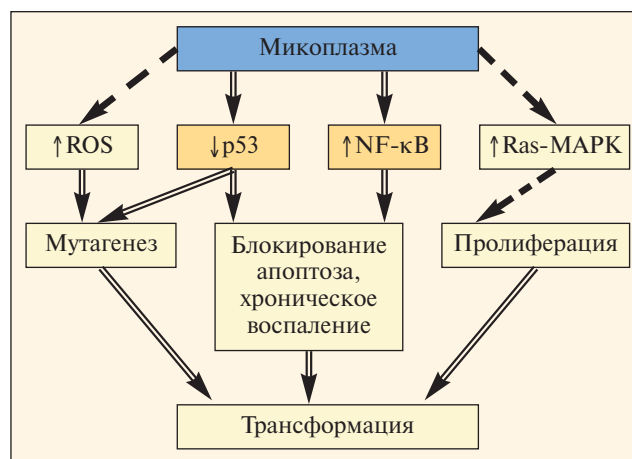


Рис. 1. Механизм трансформации клеток животных микоплазмами (D.Y. Logunov и соавт., 2008)

инфекционными агентами исследуемого материала до биопсии на операционном столе брали мазки из прямой кишки, использовали стерильные биопсийные иглы.

Помимо основных столбиков ткани ПЖ, направлявшихся на морфологическое исследование, выполняли забор двух дополнительных — из периферической зоны обеих долей для осуществления поиска в них микоплазм. Данные столбцы ткани помещались в специально подготовленные эпидорфы со стабилизационной средой. В течение 5 мин после забора материал помещался в морозильную камеру (–15—–20°C).

У 127 больных исследование ткани ПЖ на наличие микоплазм осуществляли стандартным методом качественного анализа полимеразной цепной реакции (ПЦР). В зависимости от результатов морфологического заключения все эти пациенты были поделены на 2 группы: 1-я (n=46) — больные с хроническим простатитом, аденомой ПЖ и простатической интерстициальной неоплазией (ПИН) низкой степени (НС); 2-я (n=81) — пациенты с ПИН высокой степени (ВС) и аденокарциномой ПЖ (табл. 1).

Различий по возрасту между двумя группами пациентов не выявлено, $p=0,05$ (рис. 2).

Таблица 1. Разделение пациентов на группы в зависимости от результатов морфологического исследования

Показатель	Группа	
	1-я (n=46)	2-я (n=81)
Возраст, годы	45—80 (65,6±1,13)	47—83 (65,4±0,92)
Уровень ПСА*, нг/мл	1,4—780 (113,6±16,8)	2,9—1393 (160,8±17,9)
Диагноз	Хронический простатит, аденома ПЖ, ПИН НС	ПИН ВС, аденокарцинома ПЖ

*ПСА — простатспецифический антиген.

В дальнейшем для получения более точных результатов 123 пациентам с подозрением на РПЖ ДНК *Mycoplasma hominis* определяли с помощью метода количественной диагностики ПЦР в режиме реального времени (Real-time-ПЦР). Методика Real-time-ПЦР по сравнению со стандартной име-

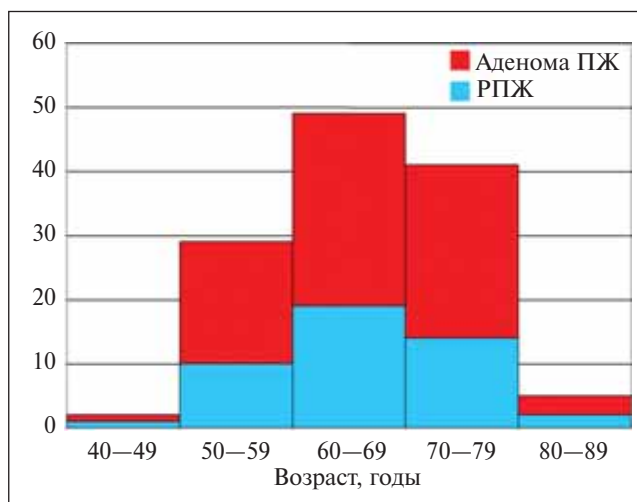


Рис. 2. Распределение исследуемых групп пациентов по возрасту ($p=0,05$)

Таблица 2. Разделение пациентов на группы в зависимости от результатов морфологического исследования

Показатель	Группа	
	1-я (n=60)	2-я (n=63)
Возраст, годы	50—83 (66,4±7,9)	40—79 (66,3±7,9)
Уровень ПСА*, нг/мл	1,8—37,7 (14,3±17,3)*	0,2—100 (9,6±6,2)**
Диагноз	Хронический простатит, аденома ПЖ, ПИН НС	ПИН ВС, аденокарцинома ПЖ

*Медиана 7,2, **медиана 9,2.

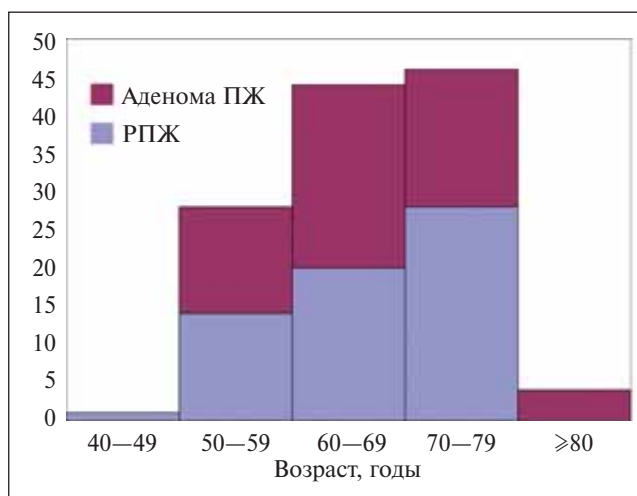


Рис. 3. Распределение исследуемых групп пациентов по возрасту ($p>0,05$)

ет ряд преимуществ: меньшая вероятность получения ложноотрицательных результатов ввиду отсутствия контаминации «воздушно-капельным» путем используемых реактивов; более высокая (в 2 раза) чувствительность, а также возможность количественного подсчета геномов внутри клеток, что в последующем при сопоставлении с фоновыми значениями позволяет достоверно определить наличие или отсутствие инфекции, тогда как при стандартной методике исследователь «на глаз» оценивает степень свечения тест-полоски, что накладывает определенную тень субъективизма на результаты исследования.

Так же как и в первой части исследования, в зависимости от морфологических результатов все пациенты были поделены на 2 группы: 1-я ($n=60$) — больные с хроническим простатитом, аденомой ПЖ, ПИН НС; 2-я ($n=63$) — пациенты с ПИН ВС и аденокарциномой ПЖ (табл. 2).

Различий по возрасту между этими группами пациентов не отмечено, $p>0,05$ (рис. 3).

Перекрестный анализ между двумя исследованиями нами не проводился.

Примечательно, что конечных результатов исследования (морфологического и молекулярно-биологического) не знали ни специа-

листы морфологической, ни работники молекулярной лабораторий, т.е. исследование носило слепой характер. Ни один пациент не получал стандартной курсовой антибактериальной терапии до выполнения биопсии.

В начале работы в антимикробный спектр нами были включены, помимо микоплазм, хламидии и уреаплазмы, однако после

обнаружения данных инфекций только лишь у 3 из 60 пациентов их поиск был прекращен.

Достоверность различия частот в исследуемых группах больных определяли с помощью критерия χ^2 (для таблиц 2×2 с точным решением Фишера). При сравнении данных результатов ПСА в связи с сильной неоднородностью числовых значений рассчитывали медиану и определяли достоверность различий. Достоверность различий среднего возраста устанавливали с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

На I этапе исследования посредством метода ПЦР у 26 (20,5%) из 127 мужчин с подозрением на РПЖ выявлена микоплазменная инфекция, причем из 81 больного с верифицированным РПЖ и ПИН ВС у 21 (26%) пациента, т.е. у каждого четвертого, обнаружена микоплазма (табл. 3).

Таблица 3. Доля положительных проб биоптатов, проанализированных методом ПЦР на наличие специфических фрагментов генома микоплазм

Диагноз	Число пациентов (биоптаты)	Количество положительных проб на:		
		<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	ДНК микоплазм
Хронический простатит, аденома ПЖ, ПИН НС	46	3 (6,5)	2 (4,3)	5 (10,8)
ПИН ВС, аденокарцинома ПЖ	81	16 (20)	5 (6,2)	21 (26,2)
Всего...	127	19 (15)	7 (5,5)	26 (20,5)

Примечание. Здесь и в табл. 4 в скобках — процент.

Полученные данные вызвали у нас интерес: где чаще встречаются РПЖ и ПИН ВС — в общей группе мужчин с подозрением на РПЖ или у пациентов с микоплазменной инфекцией, также с подозрением на РПЖ.

На рис. 4 представлена частота встречаемости случаев РПЖ и ПИН ВС у пациентов общей группы с подозрением на эти заболевания и в группе с теми же подозрениями, но с общей микоплазменной инфекцией.

Как показано на рис. 4, частота развития ПИН ВС и РПЖ ($n=21$) у пациентов с выделенной ДНК микоплазм ($n=26$) составила 80,8%, тогда как в общей группе — 63%. Частота встречаемости ПИН ВС и РПЖ у больных с выделенной ДНК микоплазм достоверно выше, чем в группе пациентов без микоплазмы ($p=0,031$).

На рис. 5 представлена частота встречаемости РПЖ и ПИН ВС у пациентов общей группы с подозрением на эти заболевания и в группе с теми же подозрениями, но с наличием *Mycoplasma hominis*. На рис. 5 видно, что частота развития ПИН ВС и РПЖ ($n=16$) у больных с выделенной ДНК *Mycoplasma hominis* ($n=19$) составляет 84,2%, что достоверно выше, чем в группе пациентов без нее ($p=0,033$).

Достоверных различий по частоте встречаемости ПИН ВС и РПЖ между больными с выделенной ДНК *Mycoplasma genitalium* (71,4%) и общей группой пациентов (63%) не было, $p=0,05$ (рис. 6).

Следует отметить, что из 21 больного с микоплазменной инфекцией и РПЖ у 16 выявлена *Mycoplasma hominis*. Среди пациентов с верифицированным РПЖ и ПИН ВС *Mycoplasma hominis* встречалась чаще (в 20% случаев), чем *Mycoplasma genitalium* (6,2%), что и привлекло в дальнейшем наше более пристальное внимание именно к этому патогену.

Благодаря применению более современного метода количественной диагностики Real-time-ПЦР 123 пациентам с подозрением на РПЖ кроме основных столбиков ткани ПЖ, направленных на морфологическое исследование, ДНК *Mycoplasma hominis* определяли в двух дополнительных.

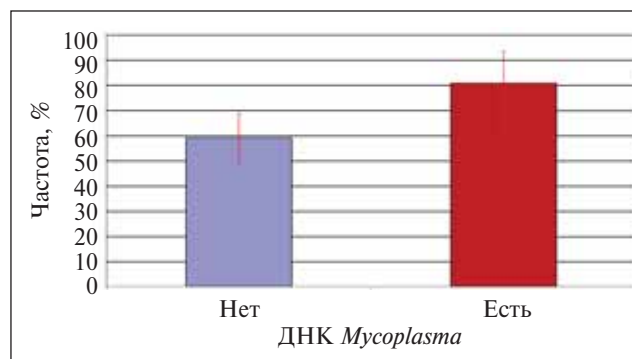


Рис. 4. Частота встречаемости ПИН ВС и аденокарциномы ПЖ у пациентов с выделенной ДНК *Mycoplasma* и ее отсутствием

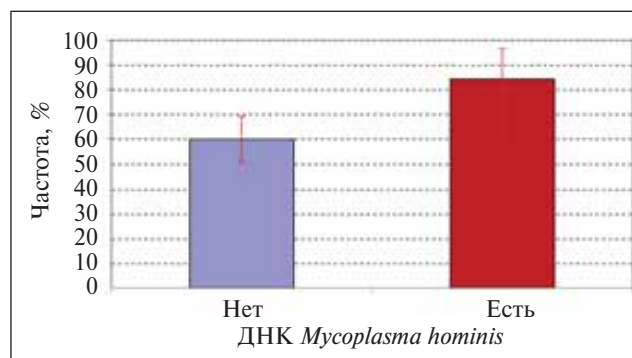


Рис. 5. Частота встречаемости ПИН ВС и аденокарциномы ПЖ у пациентов с выделенной ДНК *Mycoplasma hominis* и ее отсутствием

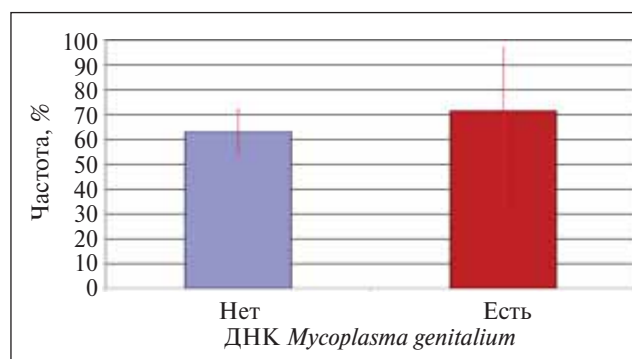


Рис. 6. Частота ПИН ВС и аденокарциномы простаты у пациентов с выделенной ДНК *Mycoplasma genitalium* и ее отсутствием

Таблица 4. Исследование методом Real-time-ПЦР биоптатов ткани ПЖ на наличие специфических фрагментов генома *Mycoplasma hominis*

Диагноз	пациентов	Число положительных проб на <i>Mycoplasma hominis</i>
ПИН НС	60	12 (20)
ПИН ВС, аденокарцинома ПЖ	63	34 (54)
Всего...	123	46 (37)

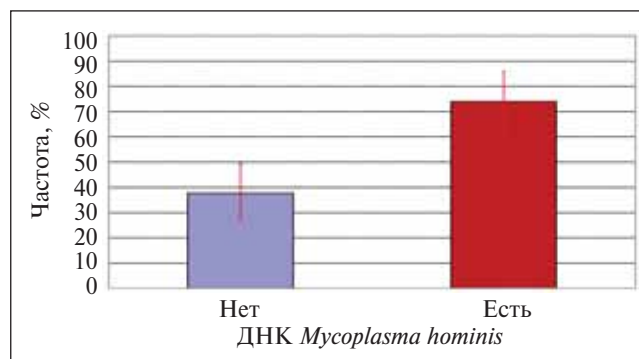


Рис. 7. Частота встречаемости ПИН ВС и аденокарциномы ПЖ у пациентов с выделенной ДНК *Mycoplasma hominis* и ее отсутствием (метод Real-time-ПЦР)

В это исследование вошли 123 пациента (60 — с хроническим простатитом, аденомой ПЖ и ПИН НС и 63 — с ПИН ВС и аденокарциномой ПЖ). В табл. 4 представлены распределение мужчин по

группам и частота встречаемости у них *Mycoplasma hominis*.

В результате частота встречаемости ПИН ВС и РПЖ ($n=34$) у пациентов с выделенной ДНК *Mycoplasma hominis* ($n=46$) составила 73,9%. Частота развития ПИН ВС и РПЖ у пациентов с выделенной ДНК *Mycoplasma hominis* достоверно выше, чем в группе пациентов без

Mycoplasma hominis, $p<0,001$ (рис. 7).

Заключение

Таким образом, по результатам проведенного исследования установлена достоверно большая корреляция по частоте встречаемости ПИН ВС и РПЖ у больных с микоплазменной инфекцией ПЖ, чем в общей группе пациентов с подозрением на РПЖ. Это показано в исследовании как методом ПЦР, так и Real-time-ПЦР. Подтвержден сам факт наличия, персистенции и повреждающего действия данной инфекции в ткани периферической зоны ПЖ, что ранее никем не было установлено и подвергалось сомнению. Имеющиеся данные литературы об эрадикации вирусной и бактериальной инфекции из организма человека как о методе профилактики некоторых раковых заболеваний заставляют нас задуматься также и в отношении микоплазменной инфекции. Однако это вопрос дальнейших клинических и молекулярно-биологических исследований.

Литература

1. Wagenlehner F.M., Elkahwaji J.E., Algaba F. et al. The role of inflammation and infection in the pathogenesis of prostate carcinoma. BJU Int 2007;100(4):733—7.
2. May M., Kalisch R., Hoschke B. et al. Detection of papillomavirus DNA in the prostate: a virus with underestimated clinical relevance? Urologe 2008;47(7):846—52.
3. Balis V., Sourvinos G., Soultz N. et al. Prevalence of BK virus and human papillomavirus in human prostate cancer. Int J Biol Markers. 2007;22(4):245—51.
4. Baron E.J., Peterson L.R., Finegold S.M. genital and sexually transmitted pathogens. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. C.V. Mosby Co., St. Louis, MO, 1994.
5. Waites K.B., Taylor-Robinson D. Mycoplasma and Ureaplasma, in manual of clinical microbiology. P.R. Murray et al., eds. American Society for Microbiology Press, 1999. p. 782—94.
6. Прилепская В.Н., Кисина В.И., Соколовский Е.В. К вопросу о роли микоплазм в урогенитальной патологии. Гинекология 2007;9(1):31—8.
7. Arya O.P., Tong C.Y., Hart C.A. et al. Is *Mycoplasma hominis* a vaginal pathogen? Sex Transm Infect 2001;77(1):58—62.
8. Бенькович А.С. Инфекции, вызываемые *Mycoplasma genitalium*: клинические проявления, особенности диагностики и терапии. Клин дерматол венерол 2008;3:61—2.
9. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 2002;51(RR—6):1.
10. Taylor-Robinson D. Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update. Clin Infect Dis 1996;23:671.
11. Остроумов О.А. Влияние хламидийной и микоплазменной инфекции на развитие неблагоприятных исходов беременности. Акт вобр акуш гинекол 2001—2002;1(1).
12. Horowitz J., Horowitz S., Mazor M. et al. *Ureaplasma urealyticum* cervical colonization as a marker for pregnancy complications. Int J Gynaecol Obstet 1995;48:15—9.
13. Calleri L.F., Taccani C., Porcelli A. *Ureaplasma urealyticum* vaginosis and premature rupture of membranes. What is its role? Minerva Ginecol 2000;52:49—58.
14. Donders G.C., Van Bulck B., Caudron J. et al. Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol 2000;183:431—7.