



УДК 577.218: 616.62-006

DOI 10.24144/1998-6475.2023.59.78-81

УРІНАРНА МІКРОБІОТА ХВОРИХ НА РАК СЕЧОВОГО МІХУРА ТА РАК ПРОСТАТИ

**Коваль Г. М.¹, Кіш П. П.¹, Лушнікова О. В.¹, Голомб Л. А.¹, Карбованець О. І.¹,
Височанська В. В.¹, Петросова В. І.²**

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», ¹кафедра мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом інфекційних хвороб; ²кафедра генетики, фізіології рослин та мікробіології, м. Ужгород

Резюме. *Вступ.* Встановлення факту існування мікроорганізмів у сечових шляхах зумовило розширення знань клініцистів щодо норми та патології сечовидільної системи. В останнє десятиріччя все більше уваги приділяється ролі внутрішньоклітинних збудників у виникненні онкологічних хвороб сечової системи, і етіологічним чинником досить часто постають хламідії, уреоплазми та мікоплазми.

Мета дослідження. Визначення бактеріальних маркерів сечі онкохворих для виявлення патогенних штамів мікроорганізмів.

Матеріали та методи. Під нашим спостереженням знаходилося 18 хворих із раком сечового міхура та раком простати та 18 контрольних осіб. При виконанні дослідницької роботи використовувався комплексний методичний підхід із залученням мікроскопічних, бактеріологічних і статистичних методів, набір реагентів уреа/міко-скрин – 2.

Результати досліджень. У своїх дослідженнях ми оцінили якісний і кількісний склад бактеріальної флори сечі і встановили етіологічну значимість внутрішньоклітинної уропатогенної мікрофлори. Комбінована флора уреоплазма+мікоплазма діагностована у 40,3% досліджених зразків сечі.

Висновки. Таким чином, аналіз результатів наших досліджень дозволив довести, що надзвичайно важливим є настороженість лікаря щодо етіологічної причетності внутрішньоклітинної інфекції при хронічних запальних захворюваннях сечостатевого тракту. Тільки своєчасна діагностика і адекватне лікування сприятимуть запобіганню формуванню ускладнень у онкологічних хворих.

Ключові слова: уринарна мікробіота, рак сечового міхура, рак простати.

Microbiome of urinary tract and prostate tumors

Koval G.M., Kish P.P., Lushnikova O. V., Golomb L.A., Vysochanska V.V., Petrosova V.I.

Abstract. *Introduction.* Role of the urinary tract microbiome residents in cancerogenesis remains unclear. In the last decade, more and more attention is being paid to the role of intracellular pathogens. Chlamydia, ureaplasma, and mycoplasma quite often are found to be associated with the etiological factors of urinary tract tumors.

The aim of this study was to investigate the microbiome of the urine of cancer patients in order to identify pathogenic strains.

Materials and methods: 18 patients with urine bladder cancer and prostate cancer and 18 controls were examined. A complex methodical approach involving microscopic, bacteriological and statistical methods, a set of urea/myco-screen reagents - 2 was used.

Results: we evaluated the qualitative and quantitative composition of the bacterial flora of urine and established the etiological significance of intracellular uropathogenic microflora. The combined ureaplasma + mycoplasma flora was diagnosed in 40.3% of the examined urine samples.

Conclusions: the results of this research prove that it is extremely important for the doctor to be vigilant about the etiological involvement of intracellular infection in chronic inflammatory diseases of the genitourinary tract. An early diagnosis and adequate treatment may help to prevent complications in cancer patients.

Key words: urinary microbiota, bladder cancer, prostate cancer

Вступ

Відомо, що у людському організмі навіть при стані повного здоров'я живуть мільйони різноманітних мікроорганізмів, ціла екосистема. Це унікальна біоструктура зі своїми

функціями, життям і цілісністю – наш мікробіом. Для кожного вона особлива, як відбитки пальців. Кількість мікробних клітин приблизно вдесятеро перевищує кількість клітин самої людини. Під терміном «мікробіота» розу-

міють різноманіття мікроорганізмів у всьому макроорганізмі, а термін «мікробіом» означає сукупність генів усіх мікроорганізмів. Це нове поняття може дати вченим уявлення про розвиток механізмів низки захворювань. Серед них такі патології, як нетримання сечі, рак сечового міхура та рак простати.

Протягом тривалого часу сечовий міхур та сеча за відсутності клінічних ознак патології розглядалися як стерильні середовища, оскільки технологічних потужностей стандартних мікробіологічних методів було недостатньо, щоб охарактеризувати повний спектр уринарної мікробіоти. Досягнення молекулярної біології, геноміки, епігенетики та вдосконалення методів культивування мікроорганізмів дозволили визначити специфічний мікробіом у локусах організму, які раніше вважалися стерильними, у т.ч. сечовивідні шляхи [1]. Ідентифікація специфічного мікробіому у сечовивідному тракті важлива для розуміння проблеми підтримання здоров'я та/або розвитку конкретних захворювань. Однак важко встановити чіткий зв'язок між мікро-

біомом та здоров'ям чи патологією без урахування його зміни протягом життя та в залежності від сезону або під впливом навколишнього середовища (інфекції, лікування, дієта, гормональний статус чи стиль життя) [1,2]. Таким чином, виявлення уринарної мікробіоти відкрило нову сферу для досліджень з метою розробки лікування, спрямованого на конкретні мікроорганізми.

Мета дослідження

Визначення бактеріальних маркерів сечі онкохворих для виявлення патогенних штамів мікроорганізмів.

Матеріали та методи

Під нашим спостереженням знаходилось 28 хворих із раком сечового міхура та раком простати і 18 контрольних осіб. При виконанні дослідницької роботи використовувався комплексний методичний підхід із залученням мікроскопічних, бактеріологічних і статистичних методів, набір реагентів уреа/міко-скрин-2 (рис. 1).



Рис. 1. Набір реагентів уреа/міко-скрин - 2.

Набір реагентів уреа/міко-скрин - 2 призначений для одночасного виявлення та ідентифікації двох видів урогенітальних мікоплазм: *Ureaplasma urealyticum* та *Mycoplasma hominis*. Набір розрахований для проведення 12 аналізів, включаючи контролю, містить у тому числі транспортне середовище для збереження нативних зразків. Принцип методу – у лунки стрипу, що містить різні специфічні реагенти, вносять селективне живильне середовище, а потім розтитровану пробу, що досліджується. При цьому середовище в 4 лунках, призначених для виявлення, ідентифікації та напівкількісної оцінки титру

Ureaplasma urealyticum забарвлюється в жовтий колір, а середовище в 4 лунках, призначених для виявлення, ідентифікації та напівкількісної оцінки титру *Mycoplasma hominis*, забарвлюється в зелений колір. У процесі зростання кількості мікоплазм утворюються продукти метаболізму, що призводять до зміни рН середовищ. Візуально це проявляється у зміні кольорів рН-індикаторів та, відповідно, у різній зміні кольору середовищ. Колір середовища змінюється від жовтого до червоного або червоно-малинового для *Ureaplasma urealyticum*, а для *Mycoplasma hominis* – від зеленого до фіолетового.



Дослідження біологічного матеріалу та інтерпретацію отриманих результатів проводили згідно зі загально визначеними методичними рекомендаціями. Ідентифікували виділені мікроорганізми загальноприйнятим бактеріологічним методом, згідно з класифікацією Бергі [8], використовуючи відповідні поживні середовища (уріселект-агар, кандида агар) та тест-системи.

Результати досліджень

Щороку в Україні діагностується понад 7 000 нових випадків раку простати та сечового міхура, понад 3000 чоловіків помирає. За даними Національного канцер-реєстру в Україні за 2022 рік було діагностовано 7758 нових випадків раку передміхурової залози (РПЗ) (за оперативною інформацією). Захворювання посідає третє місце в Україні серед причин смерті від злоякісних новоутворень після раку легень і раку шлунка.

В своїх дослідженнях ми оцінили якісний і кількісний склад бактеріальної флори сечі і встановили етіологічну значимість внутрішньоклітинної уропатогенної мікрофлори. Комбінована флора уреоплазма+мікоплазма діагностована у 40,3% досліджених зразків сечі.

Стара догма про те, що сеча у здоровому сечовому міхурі стерильна, була зруйнована завдяки застосуванню технології секвенування 16S рРНК та методу ККПМ [4,6,7]. Роль мікробіому сечового міхура у розвитку захворювань сечових шляхів була вивчена нещодавно при використанні зразків сечі, отриманих за допомогою катетера [5]. Так само зростає кількість досліджень, що вивчають концепцію, що наявність бактерій у крові людини не обов'язково прирівнюється до наявності інфекції

При аналізі таскономічної структури бактеріальних ізолятів, виділених із сечі контрольної групи, виявлено таку тенденцію: у сечі здорових чоловіків – *Eubacterium spp.* (70,0%) і *Peptostreptococcus spp.* (40,0%). Дріжджоподібні гриби *Candida*, виділені із сечі були представлені *C. tropicalis* (20,0%) та *C. albicans* (10,0%). Середні рівні бактеріурії для більшості таксонів склали 105 КУО/мл.

У чоловіків зі злоякісним новоутворенням простати та сечового міхура вияв-

лено підвищений вміст *Bacteroidetes spp.*, *Proteobacteria spp.*, *E. coli*, *Enter. faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia*.

Серед ізольованих штамів ентеробактерій 38,2 % виявили стійкість до цефалоспоринів II та 19,0 % – до цефалоспоринів III покоління, 48,1 % – до ампіциліну, 24,6 % – до пеніцилінів, Переважна більшість ентеробактерій (понад 93,0 %) були чутливими до карбапенемів, амікацину та цефалоспоринів IV покоління.

Штами грибів *Candida spp.* у 89,0 % випадків були чутливі до ністатину, у 83,1 % – до клотримазолу, у 69,9 % – до кетоконазолу. Значно меншу чутливість виявляли ізоляти *Candida spp.* до флуконазолу та ітраконазолу (47,8 % і 57,0 % відповідно).

У багатьох дослідженнях приділяли увагу взаємозв'язку між мікробіомом господаря та схильністю до злоякісних пухлин в органах, крім сечовивідного тракту. Є явні докази такої асоціації при колоректальній аденокарциноми, раку шлунка, товстого кишечника та гепатобіліарної системи. При цих новоутвореннях бактерії можуть впливати на ризик раку, перешкоджаючи, зокрема, дії β-катеніну (є ключовим модулятором проліферації та виживання пухлинних клітин). Крім того, бактерії можуть модулювати ризик розвитку раку за допомогою утворення канцерогенних хімічних речовин (наприклад, нітрозамінів та ацетальдегіду) в результаті метаболізму [3].

У своїх дослідженнях ми намаглися також встановити етіологічну значимість внутрішньоклітинної уропатогенної мікрофлори. Комбінована флора уреоплазма+мікоплазма діагностована у 40,3% досліджених зразків сечі.

Відомо, що ці мікроорганізми характеризуються відсутністю клітинної стінки і здатні до внутрішньоклітинного ендопаразитизму, важко піддаються лікуванню. Антибіотикограма збудників *Mycoplasma spp.* показала високу активність всіх ізолятів (++++ до джозаміцину, до рокситроміцину та азитромицину відповідно на (+++)). Позитивний ефект джозаміцину спостерігався як при моноінфекціях, так і при інфекціях, які викликані в асоціації з декількома збудниками (рис. 2).

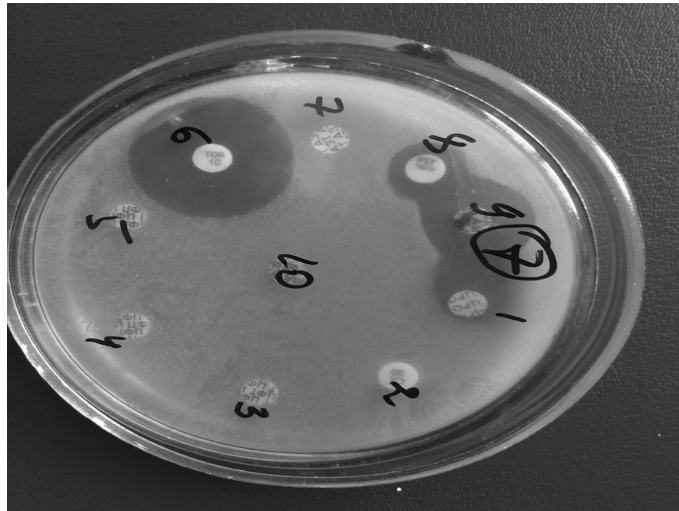


Рис. 2. Антибіотикочутливість *Mycoplasma* spp.

№ 6. джозаміцин – зона чутливості 32 мм;

№ 8. рокситроміцин – зона чутливості 23 мм;

№ 9. азитромицин – зона чутливості 25 мм.

Визначення чутливості уропатогенів різних систематичних груп до антибактеріальних препаратів сприяє удосконаленню тактики лікування запальних захворювань сечовидних і статевих шляхів за рахунок можливості проведення цілеспрямованої антибактеріальної терапії.

Висновки

Отримані дані викликають нові питання про можливі причинно-наслідкові зв'язки канцерогенезу сечовидільної системи. Існує мікробіом, пов'язаний зі здоровими сечовидними шляхами, який може змінюватися

при урологічних захворюваннях, і це є сприятливим контекстом для виявлення нових діагностичних, прогностичних біомаркерів на основі мікробіомів, які можна використовувати в практиці клінічної урології. Таким чином, аналіз результатів наших досліджень дозволив довести, що надзвичайно важливим є настороженість лікаря щодо етіологічної причетності внутрішньоклітинної та бактеріальної інфекції при хронічних запальних захворюваннях сечостатевого тракту. Тільки своєчасна діагностика і адекватне лікування сприятимуть запобіганню формуванню ускладнень у онкологічних хворих.

ЛІТЕРАТУРА

1. Aragón IM, Herrera-Imbroda B, Queipo-Ortuño MI, Castillo E, Del Moral JS, Gómez-Millán J, Yucel G, Lara MF. The Urinary Tract Microbiome in Health and Disease. *Eur Urol Focus*. 2018 Jan;4(1):128-138. doi: 10.1016/j.euf.2016.11.001. Epub 2016 Nov 14. PMID: 28753805.
2. Antunes-Lopes T, Vale L, Coelho AM, et al. The Role of Urinary Microbiota in Lower Urinary Tract Dysfunction: A Systematic Review. *Eur Urol Focus*. 2020;6(2):361-369. doi:10.1016/j.euf.2018.09.011.
3. Kustrimovic N, Bombelli R, Baci D, Mortara L. Microbiome and Prostate Cancer: A Novel Target for Prevention and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):1511. Published 2023 Jan 12. doi:10.3390/ijms24021511
4. Pearce MM, Hilt EE, Rosenfeld AB, et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. *mBio*. 2014;5(4):e01283-14. Published 2014 Jul 8. doi:10.1128/mBio.01283-14
5. Price TK, Hilt EE, Thomas-White K, Mueller ER, Wolfe AJ, Brubaker L. The urobiome of continent adult women: a cross-sectional study. *BJOG*. 2020;127(2):193-201. doi:10.1111/1471-0528.15920
6. Thomas-White KJ, Kliethermes S, Rickey L, et al. Evaluation of the urinary microbiota of women with uncomplicated stress urinary incontinence. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216(1):55.e1-55.e16. doi:10.1016/j.ajog.2016.07.049
7. Shoemaker R, Kim J. Urobiome: An outlook on the metagenome of urological diseases. *Investig Clin Urol*. 2021;62(6):611-622. doi:10.4111/icu.20210312
8. Bergey, D. H. 1860-1937. and John G Holt. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.