

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ  
РАБОТА

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ  
ЖЕЛЕЗЫ

Выполнил: Шаяхметов Рустам Ильгизович  
направление подготовки  
06.04.01 Биология  
Направленность (профиль) образовательной  
программы Фундаментальная и прикладная  
микробиология

Руководитель: Борцова Юлия Львовна,  
к.б.н., доцент кафедры фундаментальной и  
прикладной микробиологии

Выпускная квалификационная  
работа допущена к защите:

«17» 06 2025 г.

Выпускная квалификационная работа

защищена с оценкой «отлично»

«24» 06 2025 г.

Уфа, 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений и условных обозначений	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1. Современные представления об этиологии, патогенезе и эпидемиологии рака предстательной железы	9
1.2. Микробиота простаты в норме	10
1.3. Микробиота простаты при раке предстательной железы	12
1.3.1. Возможные пути попадания микроорганизмов в простату	14
1.3.2. Связь развития рака простаты с микробиотой других органов	17
1.4. Материалы и методы для изучения микробиома простаты	21
1.4.1. Микробиологические методы идентификации микроорганизмов	25
1.4.2. Молекулярно-генетические методы идентификации микроорганизмов: ПЦР, секвенирование	27
1.5. Лабораторная диагностика и лечение рака простаты	30
1.5.1. Микробиом простаты как биомаркер рака предстательной железы	33
1.5.2. Бактериальная иммунотерапия рака простаты	34
1.5.3. Влияние экзо- и эндотоксинов на развитие рака предстательной железы	35
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
2.1. Объекты исследования и материалы	38
2.2. Методы исследования	38
2.2.1. Методика бактериологического исследования мазков опухолевой ткани предстательной железы	38
2.2.2. Приготовление элективных питательных сред	38
2.2.3. Выделение чистых культур микроорганизмов	42

2.2.4. MALDI-TOF масс-спектрометрия	42
2.2.5. Статистический анализ	44
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	45
3.1. Выделение и идентификация микроорганизмов в мазках опухолевой ткани предстательной железы	45
3.1.1. Результаты MALDI-TOF масс-спектрометрии	45
3.2. Изучение влияния инфекций мочевыводящих путей на развитие рака предстательной железы	49
3.3. Сравнительный анализ результатов бактериологического исследования с гистологическим заключением пациентов с РПЖ	50
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	56
ВЫВОДЫ	57
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	58

## Список сокращений и условных обозначений

CNF – цитотоксический некротизирующий фактор

HERV – эндогенные ретровирусы

MLST – мультилокусное последовательное типирование

PBS – фосфатно-солевой буфер

PLA2 – фосфолипаза A2

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

ВГЧ-8 – вируса герпеса человека 8-го типа

ВПЧ 16 – вирус папилломы человека 16 типа

ВПЧ 18 – вирус папилломы человека 18 типа

ДГПЖ – доброкачественная гиперплазия предстательной железы

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМП – инфекции мочевыводящих путей

ИЛ-6 – интерлейкин-6

ИЛ-8 – интерлейкин-8

ИППП - инфекции, передающиеся половым путем

ЛПС – липополисахарид

мРПЖ – метастатический рак предстательной железы

ОТ-ПЦР – ПЦР с обратной транскрипцией

ПЖ – предстательная железа

ПИН – простатическая интраэпителиальная неоплазия

ПСА – простатический специфический антиген

ПЦР – полимеразная цепная реакция

рДНК – рибосомальная дезоксирибонуклеиновая кислота

рРНК – рибосомальная рибонуклеиновая кислота

РПЖ – рак предстательной железы

СК – саркома Капоши

ЦМВ – цитомегаловирус

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** В настоящее время всё больше исследований подтверждают, что микрофлора микроокружения опухоли предстательной железы играет важную роль в возникновении, прогрессировании и прогнозе данного онкологического заболевания (Rizzo et al., 2022). Согласно данным литературы около 16% от всех случаев рака в мире являются результатом присутствия определенных ассоциаций микроорганизмов (Zarei et al., 2022). Известно, что микроорганизмы и выделяемые ими метаболиты могут способствовать развитию опухоли, вызывая воспалительный процесс, сопровождающийся иммунным ответом организма (Che et al., 2021). Так, инфицирование простаты *E. coli*, а также другими видами *Enterobacteriaceae*, способствует развитию бактериального простатита (Коган и др., 2011). В процессе воспаления бактерии активируют синтез цитокинов – сигнальных молекул, выделяемых в опухолевое микроокружение, которые способны воздействовать на различные механизмы, способствующие канцерогенезу и прогрессированию злокачественного новообразования. Например, провоспалительные цитокины IL-6, IL-8 и TNF- $\alpha$  могут вызывать экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), активировать NF- $\kappa$ B, EGFR, TLR и другие сигнальные пути, тем самым стимулируя пролиферацию опухолевых клеток (Che et al., 2021). Кроме того, метаболиты микроорганизмов могут также проявлять противоопухолевые свойства. Некоторые *in vitro* и *in vivo* исследования доказывают, что бактериальные токсины, такие как  $\alpha$ -токсины и энтеротоксины могут вызывать апоптоз раковых клеток (Abedi et al., 2020). Таким образом, определение микробного состава рака предстательной железы – это важное направление, целью которого является определение роли компонентов микроокружения опухоли в прогрессировании заболевания, однако исследований в данной области проведено сравнительно мало.

В связи с этим, **целью настоящего исследования** явилось изучение особенностей микробиоты предстательной железы у пациентов с раком предстательной железы.

**Задачи исследования:**

1. Обзор литературных данных по теме исследования.
2. Сбор биологического материала.
3. Проведение бактериологического исследования мазков из опухолевой ткани простаты пациентов с раком предстательной железы.
4. Проведение статистической обработки данных сравнения результатов бактериологического исследования с гистологическим заключением у пациентов с раком предстательной железы.

**Научная новизна и теоретическая ценность.** В работе выявлено 10 видов микроорганизмов (*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus safensis*, *Neurospora crassa*, *Neurospora sitophila*), которые могут способствовать развитию и прогрессированию рака предстательной железы.

**Научно-практическая значимость.** Полученные результаты могут быть использованы для коррекции противоопухолевой терапии и профилактики рака предстательной железы.

**Апробация результатов.** Участие в международном форуме «Неделя онкоурологии в г. Уфа», 16-22 июня 2025, г. Уфа.

Публикации:

1. **Шаяхметов Р.И.** Особенности микробиоты при раке предстательной железы / Сборник материалов 90-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины». 2025. (в печати).

2. **Шаяхметов Р.И., Борцова Ю.Л., Гимранова И.А., Газизуллина Г.Р., Павлов В.Н.** Особенности микробиоты микроокружения опухоли у пациентов

с раком предстательной железы / Сборник материалов IX Всероссийского конгресса по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXVIII Кашкинские чтения). 2025. *(в печати)*.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современные представления об этиологии, патогенезе и эпидемиологии рака предстательной железы

Рак предстательной железы (РПЖ) – злокачественное многофакторное опухолевое заболевание, развивающееся из эпителия желез предстательной железы (ПЖ) (Каприн и др., 2021). Является одним из наиболее распространенных злокачественных заболеваний и занимает второе место после опухолей трахеи, бронхов и легкого (17,4%) у мужчин (Pernar et al., 2018). Ежегодно РПЖ выявляется в 1,6 млн случаев, причем более 360 тыс. мужчин погибают от данного заболевания (Rider et al., 2016). По статистике РПЖ занимает первое место среди злокачественных заболеваний в США, Канаде и нескольких странах Европы. В России заболеваемость РПЖ также увеличивается. Так, в 2017 году было выявлено более 40 тыс. новых случаев РПЖ, что составило 40,5 на 100 тыс. населения. Показатели заболеваемости в период с 2007 по 2017 годы увеличились на 70,6%, а прирост показателя смертности составил 13,9% (Каприн и др., 2019).

Об этиологии и патогенезе данного заболевания известно сравнительно мало. Одним из направлений исследований в данной области является изучение влияния диеты и продуктов питания, а также гормонального воздействия и инфекций. Известно, что распространенность РПЖ зависит от географической принадлежности и этнических особенностей. Например, было выявлено, что афроамериканцы, проживающие на территории США болеют чаще, чем белые американцы и больше подвержены развитию агрессивной формы рака (Stanford et al., 1999; Tan et al., 2016). Кроме того, к факторам риска относят генетическую предрасположенность, возраст и особенности питания. Доказано, что риск развития РПЖ у мужчины, чей родственник (отец или брат) болел раком ПЖ, увеличивается почти в 2 раза, при этом, если болели два родственника сразу (отец и брат или два брата), то риск возрастает в 5,51 и 7,71 раза соответственно (Steinberg et al., 1990; Stewart et al., 2017). Обнаружено,

что употребление животного жира также повышает риск развития РПЖ (Denis et al., 1999).

Ряд исследований направлены на изучение роли лекарственных препаратов, курения, инфекций и хирургического вмешательства на прогрессирование данного заболевания.

На сегодняшний день внедряются новые методы диагностики РПЖ, в том числе и ПСА-мониторинг, однако заболеваемость остается высокой. За 2018 г. метастатический РПЖ (мРПЖ) IV стадии был выявлен у 18,9% пациентов, РПЖ III стадии диагностирован у 21,5% пациентов, а локализованный РПЖ I–II стадии выявлен у 58,5% пациентов (Каприн и др., 2019). Ввиду этого, для определения факторов риска и профилактики данного заболевания предлагается проведение молекулярно-биологических, генетических и эпидемиологических исследований.

## **1.2. Видовой состав микробиоты простаты в норме**

В настоящее время трудно сказать, существует ли нормальная микробиота здоровой простаты, поскольку проблема заключается в получении стерильного биоматериала из тканей простаты здорового мужчины (Porter et al., 2018). Некоторые исследования (Sfanos et al., 2008; Yow et al., 2017; Cavarretta et al., 2017; Honda-Takinami et al., 2022), в которых использовали ПЦР для выявления 16S рРНК в образцах, не дали положительных результатов, что привело к выводу о вероятной стерильности здоровой простаты. Группой исследователей также было установлено, что наличие нормальной бактериальной флоры в простате маловероятно, поскольку по данным ПЦР не удалось обнаружить ДНК бактерий в тканях простаты у практически здоровых мужчин. Положительные результаты ПЦР были зарегистрированы только в образцах после радикальной простатэктомии при различных воспалительных процессах в простате (Hochreiter et al., 2000).

Ложноположительные результаты представляют собой важную проблему при исследовании микробиома простаты, что связано со

сложностями в получении образцов и высоким риском их загрязнения. Например, в одном исследовании с использованием универсальной эубактериальной ПЦР для анализа последовательности гена 16S рДНК были изучены 170 образцов ткани простаты, полученных во время радикальной простатэктомии у 30 пациентов с диагнозом РПЖ. Секвенирование гена 16S рДНК выявило бактериальную ДНК в тканях простаты, однако при сравнении с результатами биопсий было не обнаружено значимой связи между наличием определенных видов бактерий и признаками воспаления. Были обнаружены бактерии, обычно ассоциируемые с инфекциями мочевыводящих путей, такие как *Escherichia* spp., *Enterococcus* spp. и *Pseudomonas* spp., а также бактерии, характерные для уретральной флоры, включая *Streptococcus* spp., *Acinetobacter* spp. и *Actinomyces* spp. Полученные результаты привели к возникновению гипотезы о том, что микробиом предстательной железы, возможно, не существует, а обнаруженные бактерии представляют собой лишь остаточную бактериальную ДНК, «окаменевшую» в тканях простаты (Sfanos et al., 2008).

С другой стороны, при посеве секрета предстательной железы у пациентов без установленной урологической патологии был зафиксирован рост *Escherichia coli* в 58% всех случаев, *Staphylococcus epidermidis* в 10%, *Staphylococcus warnerii* в 6% и *Enterobacter* spp. в 26%, при этом количество обнаруженных микроорганизмов не превышало  $10^4$  КОЕ/мл, а микробных ассоциаций обнаружено не было (Masljakov et al., 2021).

В результате полного секвенирования РНК и секвенирования гена 16S рДНК в опухолевых и доброкачественных тканях у 20 пациентов с агрессивным РПЖ выявлены представители семейства *Enterobacteriaceae*, среди которых преобладали *Propionibacterium acnes* и бактерии рода *Escherichia*. Нужно отметить, что для решения проблемы ложноположительных результатов исследователи провели несколько процедур очистки с целью минимизации риска контаминации (Yow et al., 2017).

В другом исследовании также было обнаружено присутствие *P. acnes* во всех типах тканей у пациентов с РПЖ. Кроме того, авторы зафиксировали

повышение доли представителей *Streptococcaceae* в неопухолевых тканях и увеличенное количество *Staphylococcaceae* в опухолевых. Данные результаты могут быть обусловлены тем, что представители *Streptococcaceae* относятся к здоровому микробиому нормальной ткани предстательной железы. Однако, известно, что бактерии родов *Streptococcus* и *Staphylococcus* являются представителями микробиома кожи, что делает их частыми источниками загрязнения биоматериала (Cavarretta et al., 2017). Таким образом, важно применять отрицательный контроль, чтобы исключить загрязняющие виды.

### 1.3. Микрофлора при раке предстательной железы

Проводится множество исследований, направленных на определение специфических бактериальных взаимодействий, которые могут оказывать влияние на развитие и прогрессирование рака простаты.

Было установлено, что существует различие в микробиоме в зависимости от типа опухолей простаты. У пациентов с РПЖ с суммой баллов по шкале Глисона 3–5 была обнаружена высокая частота бактерий родов *Cutibacterium*, *Pelomonas* и *Corynebacterium*. Кроме того, различия в бактериальных популяциях были отмечены как у пациентов с суммой баллов по шкале Глисона 3–5, так и у пациентов с суммой 1–2, что позволяет предположить, что разные бактериальные популяции могут быть связаны с злокачественными новообразованиями предстательной железы различной степени злокачественности (Kim et al., 2024).

Группой исследователей в результате метагеномного анализа формалин-фиксированных образцов тканей простаты при РПЖ и ДГПЖ было обнаружено наличие представителей филумов *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*. Образцы также проверялись на наличие вирусов, и среди них были выявлены онкогенные, такие как вирус папилломы человека типов 16 и 18 (ВПЧ 16 и 18) и цитомегаловирус (ЦМВ) 1 типа. Было установлено, что сумма баллов по шкале Глисона ниже в образцах, положительных на полиомавирусы, ВПЧ 16, а также вирус герпеса,

ассоциированного с саркомой Капоши (СК), или вируса герпеса человека 8-го типа (ВГЧ-8) (Banerjee et al., 2019).

Кроме того, у пациентов с высокими значениями шкалы Глисона выявлены *Anaerococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptoniphilus* spp., *Porphyromonas* spp. и *Fenollaria* spp. (Hurst et al., 2022). Стоит отметить, что многие из этих бактерий ассоциируются и с другими типами рака (Hurst et al., 2024).

В результате бактериологического исследования образцов мочи на хромогенных средах были выделены микроорганизмы, связанные с хроническими заболеваниями, такими как простатит и рак простаты: *Clavispora lusitaniae*, *Candida albicans*, *C. orthopsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *Lodderomyces longisporus*, *Meyerozyma guilliermondii* и *Malassezia globosa* (Heras-Cañas et al., 2015).

Исследования показали связь между инфекциями мочеполового тракта и риском развития рака простаты, что позволяет предположить, что возбудители инфекций, передающиеся половым путем (ИППП), в том числе *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* и *Chlamydia trachomatis*, могут создавать микросреду, способствующую прогрессированию рака. В результате анализа биопсии у пациентов с РПЖ и ДГПЖ обнаружена значительная разница в частоте инфицирования *Mycoplasma genitalium*. Установлено, что наличие *M. genitalium* в микроокружении опухоли у пациентов с ИППП способствует увеличению пролиферации клеток и их антиапоптотической активности (Miyake et al., 2019).

В результате исследования образцов ткани простаты у пациентов с РПЖ и у здоровых лиц была выделена *P. acnes* в 60% и 26% случаев соответственно. При совместном культивировании штаммов *P. acnes* с клетками простаты линии PNT1A была выявлена повышенная пролиферация клеток и секреция цитокинов в инфицированных клетках (Davidsson et al., 2016).

По данным литературы, *P. acnes* (*Cutibacterium acnes*) является одной из самых распространенных бактерий, выделенных из ткани простаты; она также

встречается в полости рта, кишечном тракте и на конъюнктиве (Davidsson et al., 2017). Однако мультилокусное последовательное типирование (MLST) показало, что изоляты *C. acnes*, выделенные из простаты, отличаются от штаммов, обитающих на коже (Mak et al., 2012). Кроме того, обнаружено, что данная бактерия стимулирует синтез воспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8, участвующих в развитии различных типов рака, включая РПЖ (Davidsson et al., 2016).

### 1.3.1. Возможные пути попадания микроорганизмов в простату

Основным источником микроорганизмов, колонизирующих предстательную железу, является внешняя среда. Патогены проникают через уретру в мочевыводящие пути, после чего, под воздействием различных факторов, мигрируют в ткани простаты, приводя к их инфицированию.

Согласно данным литературы, существует несколько основных путей попадания микроорганизмов в простату (рис. 1):

1. Возбудители кожных инфекций - *P. acnes*, *Staphylococcus spp*, попадают в мочеиспускательный канал при несоблюдении правил личной гигиены.

2. Возбудитель инфекций мочевыводящих путей (ИМП) и самая распространенная бактерия в предстательной железе - *Escherichia coli*, попадает в результате транслокации из ЖКТ в кровь и другие органы (Wolochow et al., 1966). При снижении иммунитета в организме человека *E. coli* способна проникать в уретру и затем колонизироваться в простате, вызывая воспалительный процесс. Ряд видов *E. coli* обладают способностью проникать в эпителиальные клетки кишечника, прикрепляться к ним, а также выживать в макрофагах, которые в свою очередь могут переносить бактерии в лимфатические узлы, системный кровоток или даже в отдаленные органы, вызывая воспаление. Данные литературы свидетельствуют о влиянии микрофлоры мочевыводящих путей и кишечника на микрофлору простаты (Cossart et al., 2004; Капер et al., 2004; Poole et al., 2017).

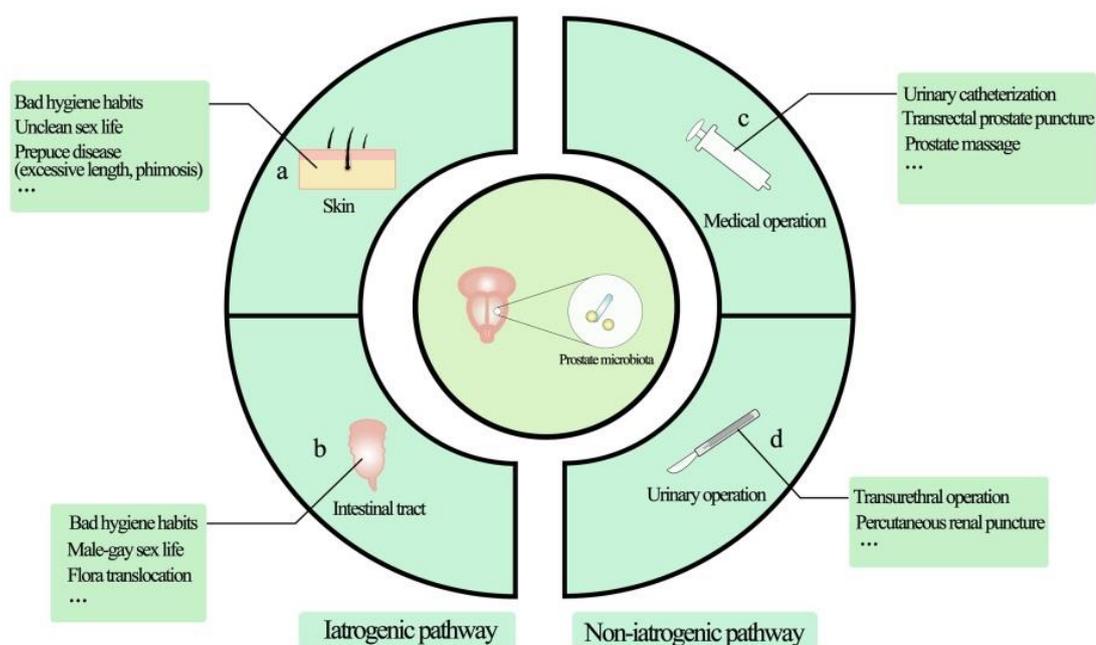


Рисунок 1 – Возможные пути попадания микроорганизмов в простату (Che et al., 2021)

3. Микроорганизмы из внешней среды попадают в уретру через расходные материалы при нестандартных медицинских процедурах. Использование уретрального катетера или уретрального стента является существенным фактором риска ИМП, а частота связанной с ним бактериурии может увеличиваться на 3–8% каждый день (Hooton et al., 2019). Исследования показали, что бактерии, попадающие в мочевыводящие пути, могут быть колонизированы бактериями в отдаленных органах через катетеры и указывают на образование биопленок на слизистых оболочках органов, таких как простата (Morris et al., 1999; Pelling et al., 2019). Хотя исследования показали, что наиболее распространенным микроорганизмом катетер-ассоциированной инфекции является *E. coli*, часто обнаруживается, что некоторые лекарственно-устойчивые бактерии также могут проникать в мочеполовой тракт через катетер (Dybowski et al., 2018). Бактериальные биопленки демонстрируют повышенную устойчивость как к антибактериальной терапии, так и к защитным механизмам иммунной системы хозяина. Более того, биопленки представляют собой сложные

мультикомпонентные структуры, состоящие не только из микробных клеток, но и из разнообразных биологических макромолекул - белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), пептидогликана, липидов и фосфолипидов. Такой комплексный состав обеспечивает формирование многофакторных патогенетических механизмов, способствующих инвазии в клетки и ткани организма-хозяина (Lawal et al., 2021; Yu et al., 2021). Катетер-ассоциированные микроорганизмы способны преодолевать защитные барьеры организма-хозяина. Посредством различных патогенетических механизмов они модулируют иммунный ответ, провоцируют бактериальные инфекции и способствуют развитию персистирующего хронического воспаления.

4. Микроорганизмы мочевыводящих путей, попадают в уретру при хирургических операциях.

Следует отметить, что не все микроорганизмы способны колонизировать предстательную железу после проникновения в мочевыводящие пути, поскольку организм человека обладает комплексом защитных механизмов, предотвращающих бактериальную инвазию (McLellan et al., 2016). При свободной проходимости мочевыводящих путей моча обеспечивает механическое вымывание большинства бактерий (Cox et al., 1991). В конце фазы мочеиспускания простатический секрет, выделяемый в заднюю уретру, проявляет выраженное бактерицидное действие, что, вероятно, связано с высокой концентрацией ионов цинка в простатической жидкости. Доказана бактерицидная активность простатической жидкости в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов *in vitro* (Fair et al., 1976; Krieger et al., 1982). Кроме того, слизистая оболочка мочевыводящих путей обладает собственной антимикробной защитой, реализуемой через секрецию органических кислот, иммуноглобулинов (IgG, IgA) и фагоцитарную активность (Fowler et al., 1991). В нормальных условиях моча обладает выраженными антибактериальными свойствами, обусловленными низким уровнем pH, высокой концентрацией мочевины и органических кислот (Ueda et al., 2020). Колонизация бактерий возможна лишь

при наличии следующих факторов: обструкции мочевых путей, травматических повреждений, анатомических аномалий или снижения иммунной защиты.

### **1.3.2. Связь развития рака простаты с микробиотой других органов**

Микробиом человека играет ключевую роль в поддержании гомеостаза организма. Современные исследования демонстрируют его ассоциацию с широким спектром патологических состояний, включая метаболические (ожирение), воспалительные (болезни кишечника, псориаз), гастроэзофагеальные (рефлюкс-эзофагит) и онкологические заболевания (колоректальный рак, карцинома простаты) (Porter et al., 2018; Javier-DesLoges et al., 2022). Согласно современным концепциям, микробиота урогенитального тракта, кишечника и ротовой полости может модулировать воспалительные процессы и канцерогенез в предстательной железе (Wheeler et al., 2019).

Микробиом кишечника способен влиять на предстательную железу, включая развитие рака простаты (Golombos, 2018) (рис. 2). В частности, исследования демонстрируют, что коррекция кишечной микробиоты может уменьшать симптомы доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Тем не менее, взаимосвязь между микробиомом кишечника, толстой кишки и простаты остаётся малоизученной (Dong, 2022). Кроме того, установлено, что кишечный дисбиоз, включая индуцированный антибиотиками, способен провоцировать транслокацию патогенов, потенциально ведущую к хроническому воспалению и стимуляции онкогенеза (Reed, 2019). Предполагается, что это воздействие на предстательную железу опосредовано метаболитами кишечной микробиоты. В частности, кишечные бактерии, способные метаболизировать эстрогены, так называемый эстроболом, существенно влияют на уровень циркулирующих эстрогенов, что в свою очередь, может модулировать риск развития эстроген-зависимых злокачественных новообразований, в том числе РПЖ (Baker, 2017; Ohadian Moghadam, 2021). Исследования подтверждают наличие значимых различий в

составе кишечной микробиоты между онкологическими пациентами и здоровыми индивидуумами.

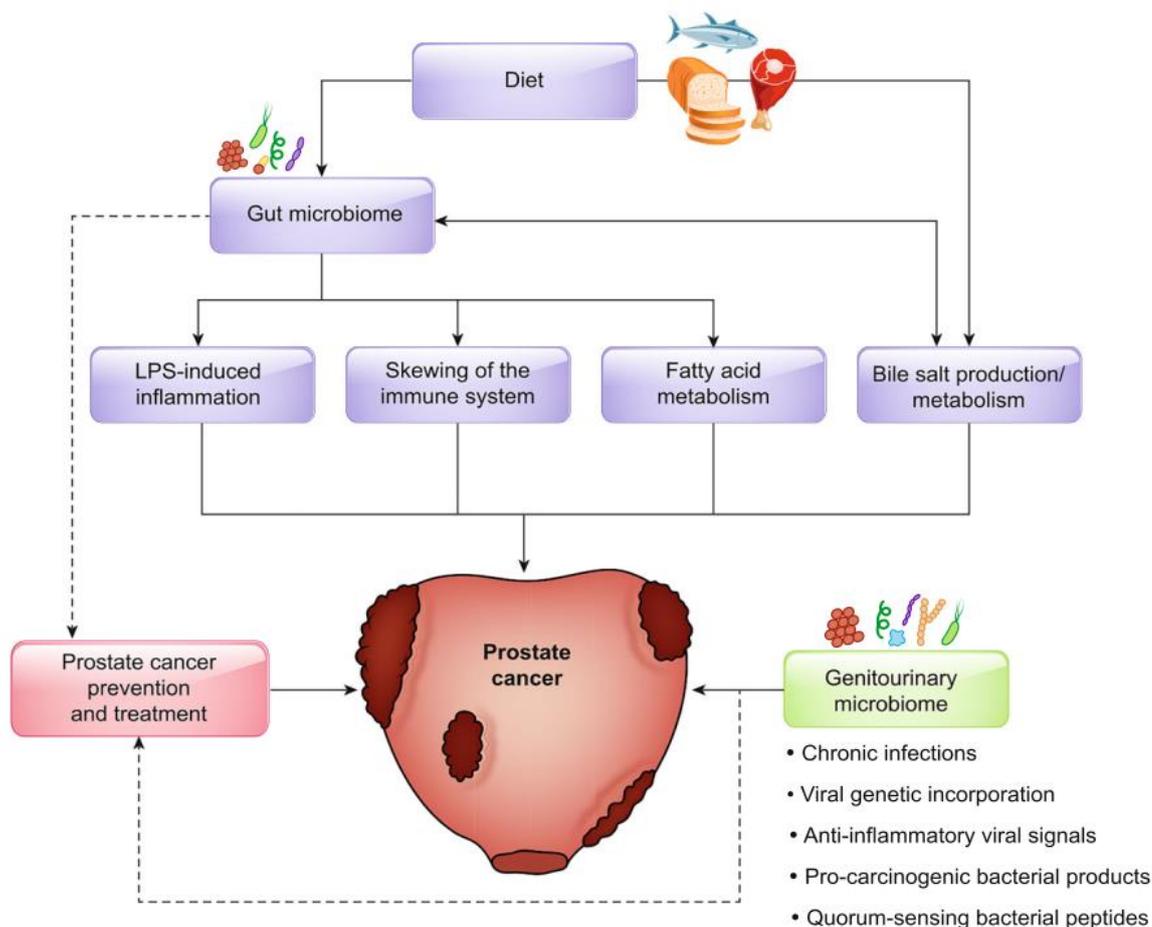


Рисунок 2 – Взаимодействие между кишечным и мочеполовым микробиомом и раком простаты (Wheeler et al., 2019)

Исследования выявили специфические различия в микробном составе между пациентами с раком простаты и контрольной группой. В частности, у больных был обнаружен *Bacteroides massiliensis*, тогда как у здоровых пациентов преобладали *Faecalibacterium prausnitzii* и *Eubacterium* spp. (Golombos, 2018). Сравнительный анализ кишечной микробиоты онкологических пациентов и здоровых лиц позволяет не только выявить различия в микробных профилях, но и пролить свет на потенциальную роль микробиома в патогенезе РПЖ.

Развитие РПЖ ассоциировано с хроническими инфекциями мочевыводящих путей, включая хронический простатит и синдром

хронической тазовой боли. Современные исследования опровергли представление о стерильности мочи, выявив значительное микробное разнообразие в её составе. Эти данные позволяют предположить важную роль микробиома мочи в патогенезе злокачественных новообразований простаты (D'Antonio, 2022). В частности, Shrestha и соавторы (2018) провели комплексное исследование микробного состава мочи, анализируя его взаимосвязь с воспалительными процессами в простате, наличием онкопатологии, а также степенью злокачественности и гистологическим типом опухоли. Результаты исследования продемонстрировали повышенную концентрацию бактерий, ассоциированных с мочеполовыми инфекциями, у пациентов с раком предстательной железы. Среди идентифицированных микроорганизмов были обнаружены *Streptococcus anginosus*, *Anaerococcus lactolyticus*, *Anaerococcus obesiensis*, *Actinobaculum schaalii*, *Varibaculum cambriense* и *Propionimicrobium lymphophilum*. Кроме того, микробиомный анализ выявил существенные дисбиотические изменения у пациентов с РПЖ: достоверное увеличение относительной численности *Bacteroidetes*, *Alphaproteobacteria*, *Firmicutes*, *Lachnospiraceae*, *Propionicimonas*, *Sphingomonas* и *Ochrobactrum* при одновременном снижении содержания *Eubacterium* и *Defluviicoccus* по сравнению с группой пациентов с ДГПЖ (Shrestha et al., 2018). Примечательно, что в микробиоте мочи онкологических пациентов также наблюдалось статистически значимое уменьшение количества *E. coli* (Nickel, 2016). Согласно данным Alanee и соавт. (2019), микробиом мочи пациентов с РПЖ характеризовался повышенной численностью представителей родов *Veillonella*, *Streptococcus* и *Bacteroides*, тогда как содержание *Faecalibacterium*, *Lactobacilli* и *Acinetobacter* было существенно снижено по сравнению с группой пациентов с ДГПЖ (Alanee, et al., 2019).

Существует гипотеза о возможном влиянии орального микробиома на отдаленные органы, включая предстательную железу. В исследовании Estemalik (2017) была обнаружена потенциальная корреляция между составом

микробиоты ротовой полости и простатической жидкости у пациентов с сочетанной патологией - заболеваниями простаты и пародонта. В ходе исследования методом ОТ-ПЦР были проанализированы образцы поддесневого зубного налета и простатического секрета у пациентов с хроническим простатитом или ДГПЖ. Исследование было направлено на выявление пародонтопатогенных микроорганизмов: *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *E. coli*. Полученные данные позволяют предположить возможный механизм транслокации оральных микроорганизмов в предстательную железу на фоне воспалительных процессов пародонта. Однако для подтверждения этой гипотезы и установления точных патогенетических механизмов требуются дополнительные исследования. Обнаружено, что все пациенты имели хронический пародонтит как минимум легкой степени, при этом у 70,8% обследованных в простатической жидкости присутствовали одна или несколько оральных бактерий, включая *T. denticola*, которая обнаруживалась у 50% пациентов как в поддесневой ткани, так и в секрете предстательной железы (Estemalik et al., 2017).

В ходе исследования пациентов с хроническим простатитом и пародонтитом была выявлена значимая корреляция между степенью воспаления пародонта и уровнем простатического специфического антигена (ПСА). Особый интерес представляет *P. gingivalis* – пародонтопатоген, продуцирующий Arg-gingipain, который не только разрушает соединительную ткань, но и, связываясь с эритроцитами, способен диссеминировать по организму, проникая в эпителиальные клетки (Dorn et al., 1998; Joshi et al., 2010). Более того, *P. gingivalis* демонстрирует уникальную способность уклоняться от иммунного ответа. Клинические наблюдения подтверждают, что пациенты с сочетанной патологией (пародонтит + простатит) имеют достоверно более высокие показатели ПСА по сравнению с лицами, страдающими только одним из этих заболеваний (Chughtai et al., 2011).

#### **1.4. Материалы и методы для изучения микробиома простаты**

При исследовании микробиома предстательной железы в качестве биологического материала применяют:

1. Тканевые образцы (свежие, криоконсервированные или фиксированные формалином с последующей парафиновой заливкой).
2. Биологические жидкости (моча, простатический секрет).
3. Интраоперационный материал.
4. Ректальные мазки.

Биопсия простаты, являющаяся золотым стандартом диагностики рака предстательной железы (Садченко и др., 2013), представляет собой важный метод забора материала для изучения простатического микробиома. В современной клинической практике преимущественно применяются два подхода:

1. Трансректальная биопсия - выполняется через прямую кишку с использованием ультразвукового наведения

Техника выполнения:

- 1) В ректальный канал вводится пункционный адаптер.
- 2) Через адаптер продвигается биопсийная игла, заряженная в автоматический биопсийный пистолет.
- 3) Под УЗ-контролем игла позиционируется в целевой зоне (подозрительный участок или стандартные зоны забора).
- 4) Осуществляется забор тканевого столбика.
- 5) Биоптаты фиксируют в пробирке с раствором формалина и направляют на гистологическое исследование (Артамонова и др., 2022).

2. Трансперинеальная биопсия - выполняется через промежность, обеспечивает доступ к передним отделам железы, считается менее инвазивной в отношении кишечной микробиоты (Power et al., 2022).

Хотя трансперинеальная биопсия была разработана ранее трансректальной методики, она остается менее распространенной в клинической практике в связи с более высокой инвазивностью процедуры

(Iremashvili et al., 2013). Важно подчеркнуть, что современные стандарты выполнения биопсии простаты существенно изменились: если ранее трансректальное исследование проводилось без анестезии, то в настоящее время обе методики выполняются под парапростатической нервной блокадой (Galfano et al., 2007).

Ключевые факторы, влияющие на достоверность исследования микробиома простаты:

1. Критические параметры исследования:

- 1) тип биологического материала (ткань, секрет, моча).
- 2) методика забора образцов.
- 3) способ идентификации микроорганизмов.

2. Основные источники контаминации:

- 1) при трансректальном доступе: кишечная микробиота
- 2) при трансуретральном: уретральная флора
- 3) при трансперинеальном: микроорганизмы кожи

Особую проблему представляет анализ тканей после радикальной простатэктомии у пациентов с предшествующими биопсиями (Brüggemann et al., 2020).

3. Методы минимизации контаминации:

1) Тщательная антисептическая обработка: трансректальный доступ (Jones et al., 2016), трансуретральный доступ (Roberts et al., 2017).

2) Использование защитных чехлов для игл.

3) Контрольные заборы стерильного материала.

4. Оптимизация протокола забора:

1) Необходимость множественных биоптатов ( $\geq 6$  образцов) в связи с неравномерным распределением микроорганизмов в ткани простаты (Sfanos et al., 2008).

2) Предпочтительность использования криоконсервированных образцов.

3) Комбинация различных методов идентификации (ПЦР, NGS, культуральные методы).

Основные протоколы забора биоматериала для изучения микробиома простаты:

1. Забор секрета простаты:

1) После простатэктомии: получают путем ручного сжатия свежей ткани в течение 20 минут.

2) Прижизненный забор: собирают через массаж простаты (аналогично сбору семенной жидкости).

2. Консервация: немедленная заморозка на сухом льду при  $-80^{\circ}\text{C}$  (Hurts et al., 2022).

3. Забор мочи после массажа:

1) Собирают первую порцию мочи после массажа простаты.

2) Помещают в стерильные транспортные пробирки.

3) Поддерживают температуру  $4^{\circ}\text{C}$  при транспортировке.

4. Техника взятия ректальных мазков:

1) Выполняют стерильными зондами-тампонами.

2) Кончик тампона помещают в фосфатно-солевой буферный раствор.

3) Обрабатывают в течение 2 часов после забора (Alanee et al., 2019).

4. Забор интраоперационной ткани:

1) Проводят в строгих асептических условиях.

2) Образцы берут сразу после удаления органа.

3) Забирают множественные образцы из разных зон (Hochreiter et al., 2000).

Критические методологические аспекты:

1) Все процедуры должен выполнять обученный персонал.

2) Время до обработки должно быть минимальным (<30 минут для оптимальных результатов).

3) Обязателен контроль контаминации для каждой партии образцов.

4) Для молекулярных исследований необходимо фиксировать время ишемии.

До проведения микробиологического посева и экстракции нуклеиновых кислот каждый тип клинического материала проходит пробоподготовку:

1. Обработка свежих тканей

1) Заморозка: немедленная фиксация в жидком азоте с последующим хранением при  $-80^{\circ}\text{C}$  (Al-Marhoon et al., 2015).

2) Гомогенизация:

- Замороженные образцы измельчают в криогенных условиях.
- Используют лизирующий буфер с  $\beta$ -меркаптоэтанолом для ингибирования нуклеаз (Yow et al., 2017).

2. Обработка парафинизированных образцов

1) Депарафинизация:

- Последовательная обработка ксилолом и градуированными спиртами.
- Регидратация в фосфатно-солевом буфере (PBS) (Saadat et al., 2020).

2) Экстракция ДНК:

- Оптимизированные протоколы для деградированных образцов.
- Устранение ПЦР-ингибиторов (продукты депарафинизации).

#### **1.4.1. Микробиологические методы идентификации микроорганизмов**

До конца 20 века микробиологический метод являлся «золотым стандартом» для выделения и идентификации микроорганизмов из клинических образцов (Franco-Duarte et al., 2019).

Для комплексного анализа используют специализированные питательные среды:

1) среда Эндо - для факультативных анаэробов.

2) хромогенный агар HiCrome - для селекции: энтерококков, дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

3) желточно-солевой агар - для дифференциации стафилококков.

4) обогащенный кровяной агар (Мюллера-Хинтон + 10% бараньи эритроциты).

Для выявления анаэробной микрофлоры применяют специализированные среды:

1) среда Блаукрокка

2) агар Мюллера-Хинтона

3) среда Шедлера (агар и бульон)

4) желчно-эскулиновый агар - для идентификации бактероидов (Набока и др., 2013).

Выделенные культуры анализируют по комплексу характеристик:

1) Морфология колоний.

2) Тинкториальные свойства (окраска по Граму).

3) Культуральные особенности (характер роста).

4) Биохимическая активность (тест-системы).

Микробиологический анализ биоптатов, полученных трансректальным способом у 29 пациентов с РПЖ и 39 пациентов с ДГПЖ, выявил бактериальную колонизацию в 100% случаев ДГПЖ и 96,6% случаев РПЖ при культивировании на селективных средах для аэробных и неклостридиальных анаэробных микроорганизмов. В обеих группах пациентов преобладали представители следующих родов: *Peptococcus*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Bacteroides* и *Peptostreptococcus* (Коган и др., 2011).

В конце 1980-х годов в микробиологическую практику вошла MALDI-TOF масс-спектрометрия, дополнившая традиционные культуральные методы. Эта технология нашла применение для:

1) точной идентификации микроорганизмов;

2) дифференциации штаммов;

3) мониторинга патогенов в пищевых и водных образцах;

4) определения профилей антибиотикорезистентности;

Ключевое преимущество метода заключается в анализе рибосомальных белков, позволяющем: установить видовую принадлежность микроорганизма, получить уникальный протеомный профиль (фингерпринт) для отдельных штаммов. Как демонстрируют исследования (Singhal et al., 2015), такой подход значительно расширил возможности изучения штаммоспецифичных характеристик и внутривидового разнообразия. Технология MALDI-TOF масс-спектрометрии включает последовательные этапы: нанесение чистой микробной культуры на стальную мишень с последующим покрытием матричным раствором (например,  $\alpha$ -циано-4-гидроксициннамовой кислотой в смеси ацетонитрила и трифторуксусной кислоты), высушивание образца, лазерную ионизацию и анализ полученных масс-спектров, обеспечивающих уникальный протеомный профиль микроорганизма (Patel, 2013). Масс-спектр, формирующийся благодаря анализу соотношения массы к заряду ( $m/z$ ) пептидов, создает уникальный временной профиль пролета, служащий молекулярным «отпечатком пальца». Этот профиль масс-спектра представляет собой видоспецифическую характеристику микроорганизмов (Sandrin et al., 2013).

В ходе исследования микробиоты мочи у 88 пациентов с раком простаты, получавших лучевую терапию (с сопутствующей гормональной терапией или без нее), культуральный анализ на специализированных средах (Колумбийский кровяной агар, CHROMagar, CLED Agar и др.) с последующей MALDI-TOF идентификацией выявил преобладание *Staphylococcus* spp. (51,6%), а также *Micrococcus* spp. (9,1%), *Enterococcus* spp. (7,6%) и других грамположительных микроорганизмов (Złoch et al., 2024).

В исследовании мочи после массажа 18 пациентов (РСА3-тест) данный метод выявил облигатные анаэробы у 5 пациентов (27,8%) и микроаэрофильные микроорганизмы у 4 пациентов (22,2%), тогда как в контрольной группе ( $n=10$ ) анаэробная флора отсутствовала (Bhudia et al., 2017).

#### **1.4.2. Молекулярно-генетические методы идентификации микроорганизмов: ПЦР, секвенирование**

Развитие молекулярно-биологических подходов позволило детектировать некультивируемые и трудно культивируемые микроорганизмы, в то время как традиционные микробиологические методы остаются востребованными преимущественно для диагностики быстрорастущих аэробных бактерий.

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), внедренный в микробиологическую практику с 1985 года, основан на циклической амплификации специфических участков ДНК с использованием комплементарных праймеров, что обеспечивает высокую видовую специфичность за счет применения универсальных бактериальных и грибковых праймеров (Franco-Duarte et al., 2019). Высокая специфичность ПЦР-диагностики особенно ценна в случаях, когда традиционные культуральные методы не позволяют выявить возбудителя. Наиболее распространенный подход - амплификация гена 16S рРНК - несмотря на свою широкую применяемость, имеет ограничения, связанные с возможными ошибками при подборе праймеров к вариабельным участкам (Brüggemann et al., 2020). Анализ простатических образцов от 140 пациентов показал достоверно более высокую частоту обнаружения бактериальной ДНК (48,9%) при воспалительных процессах по сравнению с контрольной группой (Xie et al., 2006).

Современная микробиология активно использует как ПЦР с видоспецифичными праймерами, так и секвенирование консервативных геномных участков. Внедрение в 2011 году технологий NGS (Liu et al., 2012; Vørsting et al., 2015) значительно расширило возможности изучения микроорганизмов, включая анализ их экологических взаимодействий и нишевой специализации. Так, сравнительный анализ 170 тканевых образцов от 30 пациентов с раком простаты показал, что культуральный метод выявляет

значительно меньше бактериальных видов по сравнению с секвенированием 16S рРНК. При этом исследование не обнаружило достоверной связи между определенными бактериями и гистологическими признаками воспаления (Sfanos, 2008), что указывает на необходимость дальнейшего изучения доминирующих видов микробиоты.

NGS-анализ 20 образцов свежемороженой ткани простаты выявил доминирование *Escherichia*, *Ralstonia* и *Pseudomonas* (>1%), а также *S. acnes* (1,1%) (Yow, 2017). Исследование показало повышенное содержание *Staphylococcus* в опухолевой ткани и *Streptococcus* в нормальной ткани. Наличие *Streptococcus* spp. в неопухолевой ткани может указывать на нормальный микробиом здоровой ткани предстательной железы, однако интерпретация этих данных осложняется тем, что данные бактерии наиболее распространены среди представителей кожной микрофлоры и часто являются загрязнителями лабораторных исследований (Cavarretta, 2017; Javier-DesLoges, 2022).

NGS-анализ 16S рРНК в ректальных мазках 30 пациентов после трансректальной биопсии не выявил статистически значимых изменений микробиоты (Alanee et al., 2019), однако малый размер выборки требует дальнейших исследований для подтверждения этих данных.

Используя разработанный на основе GenBank микрочип PathoChip, Banerjee и коллеги (2019) выявили патогенный микробиом в 50 образцах после простатэктомии, обнаружив *Helicobacteri pylori* в >90% случаев РПЖ и доказав интеграцию его цитотоксического гена *CagA* в опухолевую ДНК, что предполагает возможную роль в канцерогенезе (Banerjee et al., 2019).

Метод NGS-секвенирования 16S и 18S рДНК в биоптатах простаты 12 пациентов с аденокарциномой выявил присутствие необычных микроорганизмов, включая арбускулярные микоризные грибы *Glomeromycetes* (*Funneliformis mosseae* и *Diversispora versiformis*), а также потенциально новые, неидентифицированные виды грибов класса *Glomeromycetes*, что предполагает их возможную роль в развитии рака простаты (Fry et al.,

2022). Кроме того, в некоторых образцах были идентифицированы микроорганизмы, принадлежащие к родам *Perkinsus*, *Hydrurus*, *Diversispora* и *Funneliformis*.

Анализ опухолевых и прилегающих тканей простаты методом пиросеквенирования показал доминирование бактерий родов *Propionibacterium* и *Staphylococcus* (Cavarretta et al., 2017). Метагеномный анализ 65 образцов опухолевой и здоровой ткани простаты выявил четыре ключевых бактериальных рода (*Escherichia*, *Propionibacterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*), формирующих ядро микробиома простаты (Feng et al., 2019). Однако высокая чувствительность NGS-методов требует строгого контроля за контаминацией человеческой ДНК в образцах, включая использование имитационного секвенирования для выявления ложноположительных результатов (Brüggemann et al., 2020).

Совместное использование сразу нескольких методов позволяет получить более полную информацию о составе микробиома. Комбинация культуральных и молекулярных методов (культивирование в обогащенной среде, ПЦР и секвенирование 16S рРНК) позволила выявить бактериальную колонизацию в 56% случаев рака простаты, с преобладанием *S. acnes* (35% пациентов) (Cohen et al., 2005). Комбинация культивирования на обогащенном агаре для бруцелл (5% овечьей крови + витамин К1/гемин) и полногеномного секвенирования привела к открытию четырех новых бактериальных видов (*Fenollaria sporofastidiosus*, *Peptoniphilus rachelemmaiella*, *Varibaculum prostatecancerukia* и *Porphyromonas bobii*), потенциально связанных с развитием рака простаты (Hurst et al., 2022). Анализ 402 биоптатов, полученных при трансуретральной резекции простаты, методом ПЦР и секвенирования 16S рРНК выявил преобладание *S. acnes* (23%) и *E. coli* (12%), а также других бактериальных видов, включая *Pseudomonas*, *Actinomyces* и *Corynebacterium* (Alexeyev et al., 2006).

## 1.5. Лабораторная диагностика и лечение рака простаты

Диагностика и определение стадии РПЖ основывается на комплексном подходе, включающем клиническое обследование, инструментальную диагностику, лабораторные анализы и гистопатологическую верификацию.

1. Для комплексной диагностики необходимо:

1) Тщательное изучение жалоб и анамнеза (включая семейную историю онкозаболеваний).

2) Молекулярно-генетический анализ на герминальные мутации в генах репарации ДНК (BRCA1/2, ATM, PALB2 и др.) у пациентов с отягощенным семейным анамнезом или ранним началом заболевания.

1. Алгоритм диагностики включает:

1) Сбор клиничко-анамнестических данных.

2) Генетическое тестирование (гены BRCA, ATM и др.) при наличии показаний.

3) Исследование генов системы MMR у пациентов с подозрением на наследственный неполипозный колоректальный рак.

2. Обследование пациентов требует:

1) Детальной оценки жалоб и семейного анамнеза

2) Целевого генетического тестирования (гены HRR при семейных случаях РПЖ/рака груди/яичников, гены MMR при синдроме Линча)

При обнаружении генетических аномалий пациенту показано комплексное обследование, включающее: измерение ПСА, пальцевое ректальное исследование, мультипараметрическую МРТ таза с контрастом, а также биопсию простаты под визуализационным контролем с последующим гистологическим анализом.

Окончательное подтверждение диагноза возможно только при гистологическом исследовании биопсийного материала, полученного при пункции предстательной железы. ТРУЗИ служит основным методом визуального контроля, позволяя точно брать образцы из подозрительных участков, хотя в некоторых случаях может применяться и МРТ. Стандартная

биопсия простаты предполагает забор множественных образцов (обычно 12 и более) в виде тканевых столбиков размером 1-2×17-20 мм. При обнаружении аденокарциномы каждый образец оценивают по шкале Глисона, определяют процент опухолевого поражения и выявляют признаки инвазии (перинеуральную и капсулярную). При диагностике простатической интраэпителиальной неоплазии (ПИН) обязательно указывают степень диспластических изменений (высокая или низкая степень). В случае необходимости может быть назначена повторная биопсия через 3-6 месяцев для динамического наблюдения (Носов и др., 2023).

Мужчинам с симптомами нарушения мочеиспускания, всем пациентам старше 50 лет, а также мужчинам старше 45 лет с отягощенным семейным анамнезом для оценки риска РПЖ, выбора диагностической стратегии и тактики лечения рекомендуется определение уровня общего ПСА (Thompson et al., 2004; Ilie et al., 2013; Albright et al., 2015; Loeb et al., 2015; Hamoen et al., 2015; Carlsson et al., 2017).

ПСА представляет собой сериновую протеазу калликреинового типа, вырабатываемую эпителием предстательной железы. Будучи органоспецифическим, но не специфичным для рака маркером, его уровень в крови может повышаться не только при злокачественных опухолях простаты, но и при доброкачественной гиперплазии и воспалительных процессах в органе (табл. 1, 2).

Значительное повышение уровня ПСА может наблюдаться в течение нескольких недель после острой задержки мочеиспускания, биопсии предстательной железы и оперативных вмешательств (таких как трансуретральная резекция или аденомэктомия), что требует обязательного учета при интерпретации результатов анализа.

Стандартным референсным значением ПСА считается 2,5 нг/мл, при этом существуют возрастные нормы: 2,5 нг/мл для 40-49 лет, 3,5 нг/мл для 50-59 лет, 4,5 нг/мл для 60-69 лет и 6,5 нг/мл для 70-79 лет (Crawford et al., 1992). У пациентов, принимающих финастерид, нормальный уровень ПСА

снижается до 2 нг/мл (Oesterling et al., 1993). Важно отметить, что не существует абсолютно безопасного значения ПСА, полностью исключающего риск РПЖ - даже при уровне  $\leq 4$  нг/мл сохраняется вероятность заболевания (Edwards et al., 2002) (табл. 1).

Таблица 1. Частота выявления РПЖ при биопсии в зависимости от уровня ПСА

ПСА, нг/мл	Риск РПЖ	Риск верификации умеренно- или низкодифференцированной опухоли (Глисон $\geq 7$ )
0,0-0,05	6,6	0,8
0,6-1,0	10,1	1,0
1,1-2,0	17,0	2,0
2,1-3,0	23,9	4,6
3,1-4,0	26,9	6,7

Диапазон ПСА 2,5-10 нг/мл в большинстве случаев (75%) свидетельствует о ДГПЖ, тогда как значения выше 10 нг/мл с высокой вероятностью указывают на РПЖ (Thompson et al., 2004). Однако важно учитывать, что даже при умеренно повышенном ПСА (3-4 нг/мл) у 13,2% мужчин 50-66 лет может быть выявлен клинически значимый рак простаты (Catalona et al., 1994).

Согласно данным масштабного исследования 2006 года с участием 9459 мужчин, общепринятый порог ПСА 4 нг/мл оказался неоптимальным. Введение возрастных норм (табл. 2) (Lodding et al., 1998) и снижение порога до 2,5 нг/мл для пациентов старше 60 лет увеличивает выявляемость РПЖ, но также ведет к избыточным биопсиям и обнаружению клинически незначимых форм рака.

Таблица 2. Средние значения ПСА на основании результатов исследования РСРТ

Возраст, лет	Средние значения ПСА, нг/мл
4,-49	0,7
50-59	0,9
60-70	1,4

### 1.5.1. Микробиом простаты как биомаркер рака предстательной железы

Несмотря на широкое применение ПСА в диагностике рака простаты, его недостатки подчеркивают важность разработки альтернативных биомаркеров (Louie et al., 2015). Перспективным направлением является исследование микробиологических маркеров (Hamada et al., 2019), в частности эндогенных ретровирусов (HERV), чья повышенная экспрессия ассоциирована с опухолевыми клетками. Особый интерес представляет HERV-K Gag как потенциальный диагностический и прогностический маркер (Rezaei et al., 2021; Steiner et al., 2021). Отдельное внимание заслуживают неинвазивные методы анализа биожидкостей.

МикроРНК микроорганизмов в моче, образующейся при прохождении через простату и смешивающейся с простатической жидкостью, представляют перспективный неинвазивный биомаркер для диагностики рака простаты. Исследования подтвердили диагностическое превосходство вирусных микроРНК (HSV1-miR-H18 и HSV2-miRH9-5p) над ПСА в сложных диагностических случаях (Yun et al., 2015). Кроме того, инновационные технологии с использованием рекомбинантных вирусов позволяют детектировать циркулирующие опухолевые клетки, что открывает новые возможности для раннего выявления метастазов и персонализированного лечения (Hwang et al., 2016).

### 1.5.2. Бактериальная иммунотерапия рака простаты

Микробиомная диагностика представляет собой перспективное направление в современной медицине, предлагая альтернативу традиционным биомаркерам с их ограниченной диагностической точностью. Человеческий микробиом, функционируя как высокочувствительная биологическая система мониторинга, способен отражать малейшие патологические изменения в организме, что открывает новые возможности для ранней и точной диагностики. Клинически значимым примером служит идентификация специфических микробных сигнатур кишечника, позволяющих с высокой точностью диагностировать цирроз печени у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, что подтверждает непосредственное участие микробиоты в патогенезе данного заболевания (Oh et al., 2020).

Современные исследования демонстрируют, что анализ микробных сообществ позволяет не только диагностировать заболевания на доклинической стадии, но и прогнозировать их развитие, основываясь на выявлении специфических микробиомных паттернов, ассоциированных с различными патологическими состояниями.

Методы микробиомной диагностики, такие как анализ микрофлоры полости рта для классификации галитоза (Foo et al., 2021), открывают новые возможности в медицине. Хотя исследования микробиомных биомаркеров пока немногочисленны, перспективным направлением представляется изучение микробного состава простатической ткани и секрета для ранней диагностики и прогнозирования агрессивности рака простаты.

Опухолевое микроокружение характеризуется провоспалительным и иммуносупрессивным статусом, обусловленным активностью раково-ассоциированных фибробластов и повышенной секрецией TGF- $\beta$ , подавляющего NK-клетки и лимфоциты (Flavell et al., 2010; Monteran et al., 2019). Исследования микробной метаболомики показывают, что микроорганизмы и их метаболиты способны модулировать иммунный ответ, воздействуя на иммунные клетки. Особый интерес представляют простат-

специфические микробы, повышающие иммуногенность опухоли и чувствительность к иммунотерапии (Anker et al., 2018), что подчеркивает перспективность микробной иммунотерапии.

### **1.5.3. Влияние экзо- и эндотоксинов на прогрессирование рака предстательной железы**

Исследования показывают, что бактериальные токсины могут играть роль в развитии и прогрессировании рака простаты. Например, липополисахарид (ЛПС), входящий в состав клеточной стенки *E. coli* и *Neisseria gonorrhoeae*, способствует повышению инвазивности опухоли (Jain et al., 2019). Механизм действия токсинов связан с активацией ключевых сигнальных путей: они стимулируют сверхэкспрессию генов, контролирующую пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток; влияют на IL-6/STAT3, АКТ/GSK-3 $\beta$  и  $\beta$ -катениновые пути, что способствует эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП) в клетках простаты (Tian et al., 2021). Таким образом, бактериальные токсины могут опосредованно усиливать злокачественную трансформацию, делая опухоль более агрессивной.

Бактериальные экзотоксины также могут влиять на прогрессирование онкологических заболеваний. Например, цитотоксический некротизирующий фактор (CNF) активирует сигнальный путь Cdc42-PAK1, способствуя более агрессивному течению рака (Guo et al., 2017). Интересно, что некоторые бактериальные токсины демонстрируют противоопухолевую активность. В частности,  $\alpha$ -токсины (Zhang et al., 2017) и энтеротоксины (Abedi et al., 2020; Maeda et al., 2012; Walther et al., 2012) способны индуцировать апоптоз раковых клеток через различные молекулярные механизмы. Исследования демонстрируют, что энтеротоксин *Staphylococcus aureus* индуцирует апоптоз в клеточной линии PC3 посредством активации экспрессии длинных некодирующих РНК - Gas5, PCA3 и NEAT1 (Safarpour-Dehkordi et al., 2020). Ботулинический токсин типа А, продуцируемый *Clostridium botulinum*

проникает в клетки через SV2-рецептор, стимулирует фосфорилирование фосфолипазы A2 (PLA2) и оказывает антипролиферативное действие на клетки рака простаты (Proietti et al., 2012). Современные исследования подтверждают терапевтический потенциал бактериальных токсинов в лечении злокачественных новообразований. Однако для их успешного клинического применения требуется более глубокое понимание молекулярных механизмов действия. Перспективные направления дальнейших исследований включают: детальную характеристику сигнальных путей, вовлеченных в противоопухолевую активность токсинов, разработку таргетных методов доставки, а также оптимизацию терапевтических стратегий с учетом профиля безопасности (Che et al., 2021).

Анализ современных данных позволяет сделать вывод о значительном влиянии микробиома опухолевого микроокружения на ключевые аспекты канцерогенеза, включая, инициацию онкогенеза, процессы инвазивного роста, формирование метастазов и развитие биохимического рецидива. Особый интерес представляют микробные метаболиты (Che et al., 2021), которые модулируют пролиферативную активность опухолевых клеток, регулируют воспалительные реакции организма-хозяина, а также участвуют в перестройке микроокружения опухоли.

Существующие исследования микробиоты при раке простаты остаются ограниченными, что подчеркивает необходимость выявления ключевых микроорганизмов, ассоциированных с прогрессированием и метастазированием, разработки микробных биомаркеров для раннего прогнозирования. Перспективным направлением является микробная таргетная терапия, способная преодолевать ограничения традиционного лечения и модулировать опухолевое микроокружение. Приоритетными направлениями для дальнейших исследований являются: углубленный анализ микробиома простаты, расшифровка молекулярных механизмов микробно-опухолевого взаимодействия.

Таким образом, микробиом простаты служит потенциальным биомаркером агрессивного течения рака предстательной железы.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты исследования и материалы

Материалом для исследования явились мазки опухолевой ткани предстательной железы, полученные в результате радикальной простатэктомии у 65 пациентов в возрасте 51-74 года с диагнозом рак предстательной железы. Клинический материал был получен из ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (Клиника БГМУ).

### 2.2. Методы исследования

#### 2.2.1. Методика бактериологического исследования мазков опухолевой ткани предстательной железы

После получения мазков опухолевой ткани предстательной железы, зонды помещали в пробирки с тиогликолевой средой и инкубировали в течение 24 ч в шейкер-инкубаторе. Бактериологический посев отобранного материала проводили на питательные среды: 5% кровяной агар (ФБУН ГНЦ МПБ, Оболенск), агар Эндо (НПО «Микроген», Уфа), желточно-солевой агар (ФБУН ГНЦ МПБ, Оболенск) и Сабуро (ФБУН ГНЦ МПБ, Оболенск).

При посеве на 5% кровяной агар и агар Эндо инкубацию проводили в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч; на желточно-солевой агар при 37°C – 48 ч; для посевов на агар Сабуро инкубировали до 4-х суток при 28°C.

#### 2.2.2. Приготовление элективных питательных сред

1) Среда Эндо (для выделения энтеробактерий)

Таблица 3. Состав среды Эндо

Ингредиенты	Вес, грамм/литр
Питательный агар сухой	26,5
ЭКДА	1,22

Ингредиенты	Вес, грамм/литр
Фуксин основной	0,23
Сахар молочный	10,7
Динатрия фосфат	0,48
Натрия сульфат безводный	0,83
Натрия карбонат	0,03

Ход приготовления питательной среды:

Среду в количестве 20 г тщательно размешивали в 500 мл дистиллированной воды, кипятили 3 мин до полного расплавления агара, фильтровали через ватно-марлевый фильтр и снова доводили до кипения, затем охлаждали до температуры 45–50 °С, перемешивали и, соблюдая правила асептики, разливали в стерильные чашки Петри слоем 3–4 мм. После застывания среды чашки подсушивали при температуре 37 °С в течение 40–60 мин.



Рисунок 3 – Питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (агар Эндо)

2) Питательная среда № 2 ГРМ (Сабуро)

Таблица 4. Состав питательной среды № 2 ГРМ (Сабуро)

Ингредиенты	Вес, грамм/литр
Панкреатический гидролизат рыбной муки	10,0
Панкреатический гидролизат казеина	10,0
Дрожжевой экстракт	2,0
Натрия фосфат однозамещенный	2,0
Д-глюкоза	40,0
Агар	10,0±3,0

Ход приготовления питательной среды:

37,0 г среды размешивали в 500 мл дистиллированной воды, кипятили 2 мин до полного расплавления агара, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, разливали в стерильные флаконы и стерилизовали автоклавированием при температуре 121°C в течение 15 мин. Среду охлаждали до температуры 45-50°C, разливали в стерильные чашки Петри и после застывания подсушивали в течение 40±5 минут.

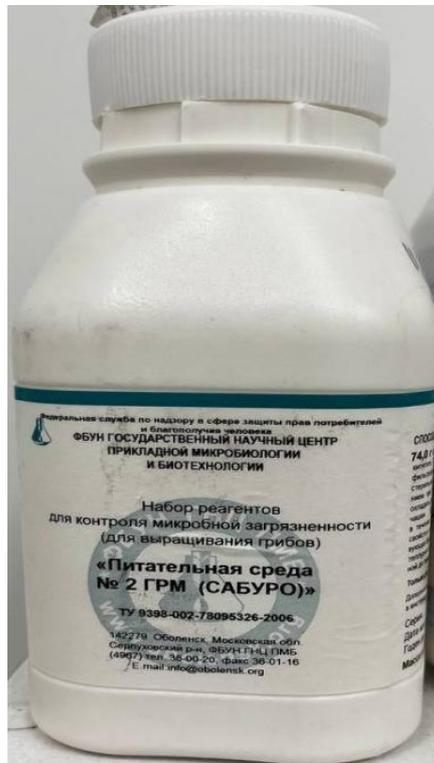


Рисунок 4 – Питательная среда №2 ГРМ (САБУРО)

3) 5% кровяной агар

Таблица 5. Состав 5% кровяного агара

<b>Ингредиенты</b>	<b>Вес, грамм/литр</b>
Основа сухая (ГМФ-основа)	15,0
Натрий хлористый	8,0
Агар бактериологический	10,0±3,0
Дефибринированная баранья кровь	

Ход приготовления питательной среды:

36 г ГМФ-агара размешивали в 1 л дистиллированной воды, кипятили 2 мин до полного расплавления агара. Фильтровали через ватно-марлевый фильтр, разлили в стеклянные флаконы и стерилизовали автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 минут. Охлаждали до 45–50°С и добавляли в стерильных условиях 5–10% стерильной дефибринированной крови, избегая образования пузырей.

4) Желточно-солевой агар

Таблица 6. Состав желточно-солевого агара

<b>Ингредиенты</b>	<b>Вес, грамм/литр</b>
Агар бактериологический	35,0±1,8
Натрия хлорид	75
Натрий углекислый	0,15
Динатрия фосфат обезвоженный	0,5

Ход приготовления питательной среды:

Для приготовления взвешивали 108 г сухой среды и размешивали её в 1 литре дистиллированной воды. Далее кипятили до полного расплавления, затем стерилизовали автоклавированием при давлении 1,1 атм. и температуре 121 °С в течение 15 минут. Далее среду остужали, затем разливали в чашки Петри до уровня примерно 4–5 миллиметров.

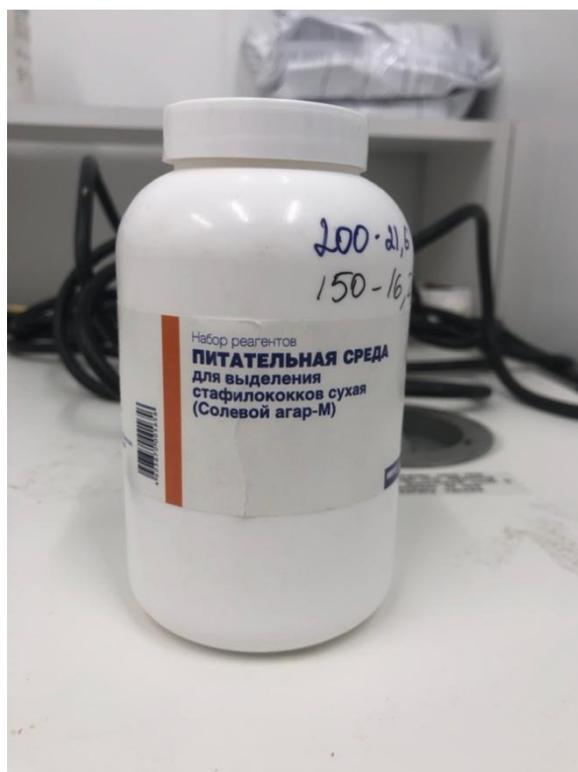


Рисунок 5 – Питательная среда для выделения стафилококков сухая (Солевой агар-М)

### **2.2.3. Выделение чистых культур микроорганизмов**

Выросшие колонии бактерий снимали стерильной петлей с чашки Петри и тщательно растирали в первом секторе чашки, после чего петлю прожигали и снова проводили петлей по 1 сектору, перенося материал на 2 сектор, далее проделывали те же действия с 3 и 4 секторами. Инкубация проводилась в термостате при 37°C в течение 18-48 ч. Посев на агар Сабуро проводился другим методом: тремя проколами в толщу среды. Инкубирование – до 4-х суток при 28°C.

### **2.2.4. MALDI-TOF масс-спектрометрия**

Идентификация микроорганизмов проводилась при помощи автоматизированного масс-спектрометра Autof MS 2600 (рис. 6).

Устройство масс-спектрометра:

1. Система ввода исследуемого образца.

2. Источник ионизации с ускорителем для ионов.
3. Анализатор масс (для разделения ионов  $m/z$ ).
4. Детектор.
5. Устройство для регистрации.



Рисунок 6 – принцип работы на Autof MS 2600

Во избежание столкновения ионов с другими атомами или молекулами, анализ происходит в вакууме.

Для идентификации образец колонии наносили на многократную металлическую пластину, после чего туда же добавляли матрицу в объеме 0,11 мкл. Состав матрицы может меняться в зависимости от анализируемых биомолекул и типа используемого лазера. Наиболее часто используемые матрицы — это  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричная кислота и 2,4-гидрокси-фенилбензойная кислота. Затем пластину помещали непосредственно в прибор, там на матрицу с неизвестным микроорганизмом начинают действовать импульсы лазера. Матрица превращает энергию лазера в энергию возбуждения и помогает в ионизации рибосомальных белков бактерий. Происходит ионизация, после чего ионы в электромагнитном поле с разной скоростью поднимаются по пролетной трубе до масс-анализатора, где разделяются по соотношению масса/заряд. Чем меньше масса иона, тем медленнее скорость его пролета. Нейтральные ионы удаляются вакуумом, затем разделенные ионы перемещаются в зону детектора. Вычисляется скорость перемещения ионов до детектора и отношение массы к заряду для ионов. В результате строятся спектры масс анализируемых образцов, которые

сравниваются с уже известными спектрами, находящимися в базе (Lavigne, 2013; Croxatto, 2012).

### **2.2.5. Статистический анализ**

Результаты сравнительного анализа бактериологического посева и степени злокачественности опухоли представлены в виде гистограмм со средними значениями выборки. Барами обозначали стандартную ошибку среднего ( $M \pm SEM$ ). Достоверность различий во всех экспериментах оценивали при помощи U-критерия Манна-Уитни ( $p < 0.05$ ).

Результаты обработаны с использованием стандартных пакетов программы Microsoft Excel 2010.

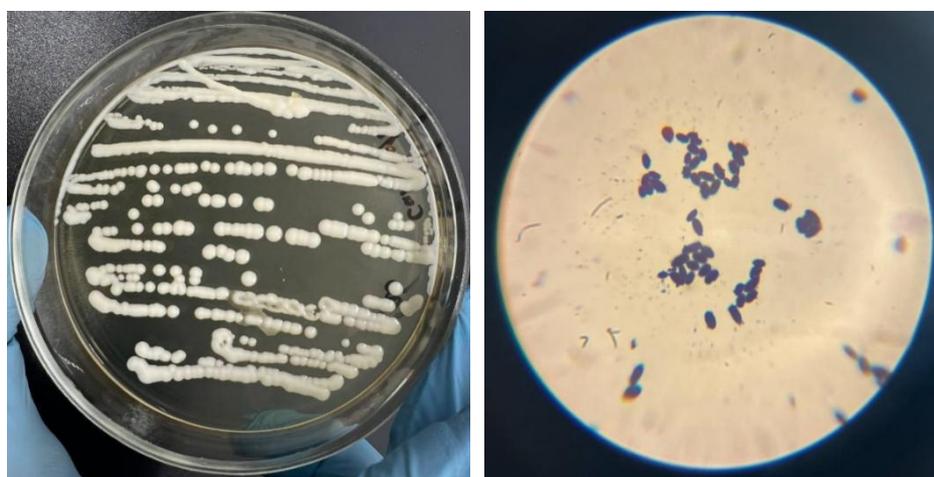
### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

#### 3.1. Выделение и идентификация микроорганизмов в мазках опухолевой ткани предстательной железы

В результате проведенного бактериологического исследования у 24 образцов опухолевой ткани (36,9%) на питательных средах был выявлен рост, а в остальных случаях (73,1%) роста микроорганизмов обнаружено не было, что возможно, обусловлено, наличием труднокультивируемых видов.

##### 3.1.1. Результаты MALDI-TOF масс-спектрометрии

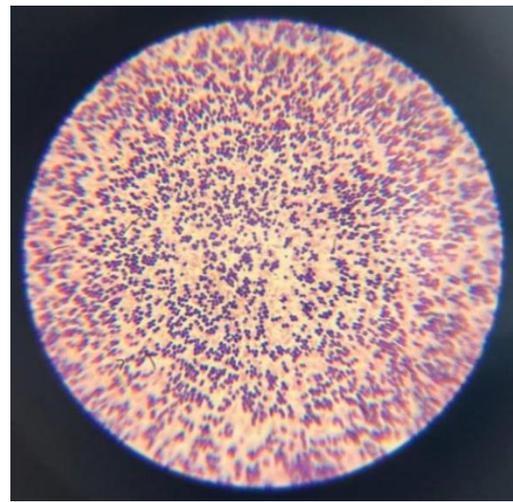
Для получения чистых культур с целью их идентификации проводили вторичные пересевы выросших микроорганизмов, при этом инкубация проводилась по той же схеме, что и при первичных посевах. Выросшие колонии микроорганизмов затем окрашивали по Граму для определения их групповой принадлежности (рис. 7, 8, 9).



А

Б

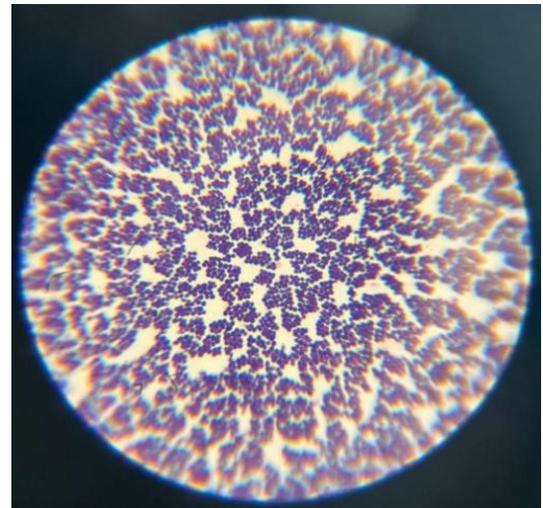
Рисунок 7 – Исследование морфологических и культуральных свойств штаммов *C. albicans*: А – рост колоний *C. albicans* на агаре Сабуро; Б – *C. albicans* под световым микроскопом, окраска по Граму (увеличение 15x90)



А

Б

Рисунок 8 – Исследование морфологических и культуральных свойств штаммов *Staphylococcus haemolyticus*: А – рост колоний *S. haemolyticus* на кровяном агаре; Б – *S. haemolyticus* под световым микроскопом, окраска по Граму (увеличение 15х90)



А

Б

Рисунок 9 – Исследование морфологических и культуральных свойств штаммов *S. epidermidis*: А – рост колоний *S. epidermidis* на кровяном агаре; Б – *S. epidermidis* под световым микроскопом, окраска по Граму (увеличение 15х90)

Чистые культуры использовали для MALDI-TOF масс-спектрометрии, которая позволяет не только идентифицировать микроорганизм по роду и виду, но и, в ряде случаев, получать уникальные профили рибосомальных белков (фингерпринт) для каждого из исследуемых штаммов (рис. 10, 11).

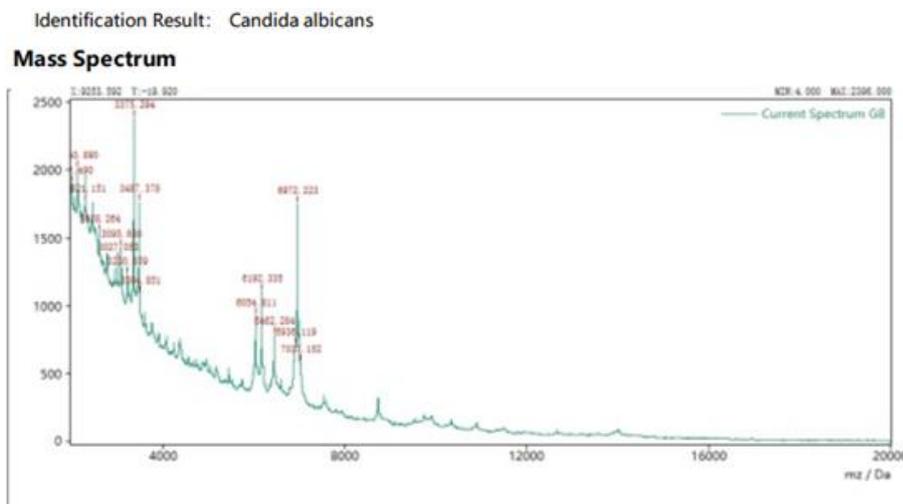


Рисунок 10 – Результат масс-спектрометрии чистой культуры *C. albicans*

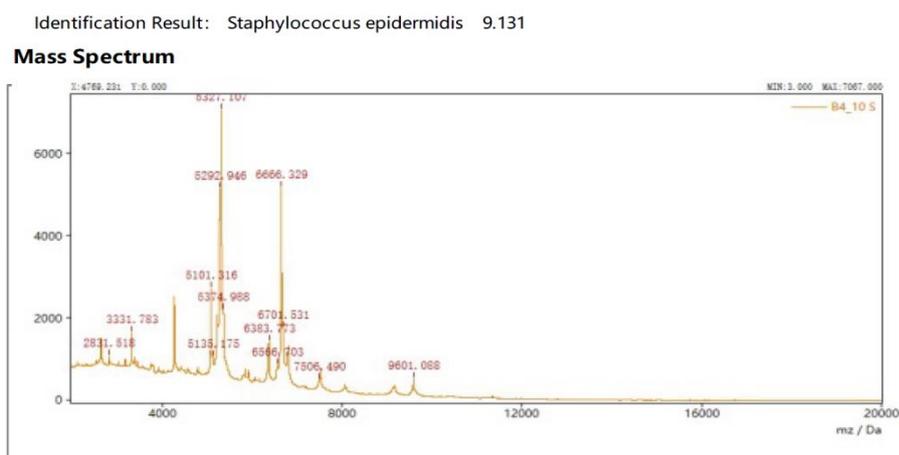


Рисунок 11 – Результат масс-спектрометрии чистой культуры *S. epidermidis*

Таким образом, образцах с положительным ростом микроорганизмов были идентифицированы: *Klebsiella pneumoniae* - 20% от общего количества выявленных микроорганизмов, *S. epidermidis* - 16,7%, *E. coli* - 16,7%, *S. haemolyticus* - 10%, *Staphylococcus hominis* - 10%, *C. albicans* - 10%, *Staphylococcus saprophyticus* - 6,7%, *Bacillus safensis* - 3,3%, *Neurospora crassa* - 3,3%, *Neurospora sitophila* - 3,3% (рис. 12).

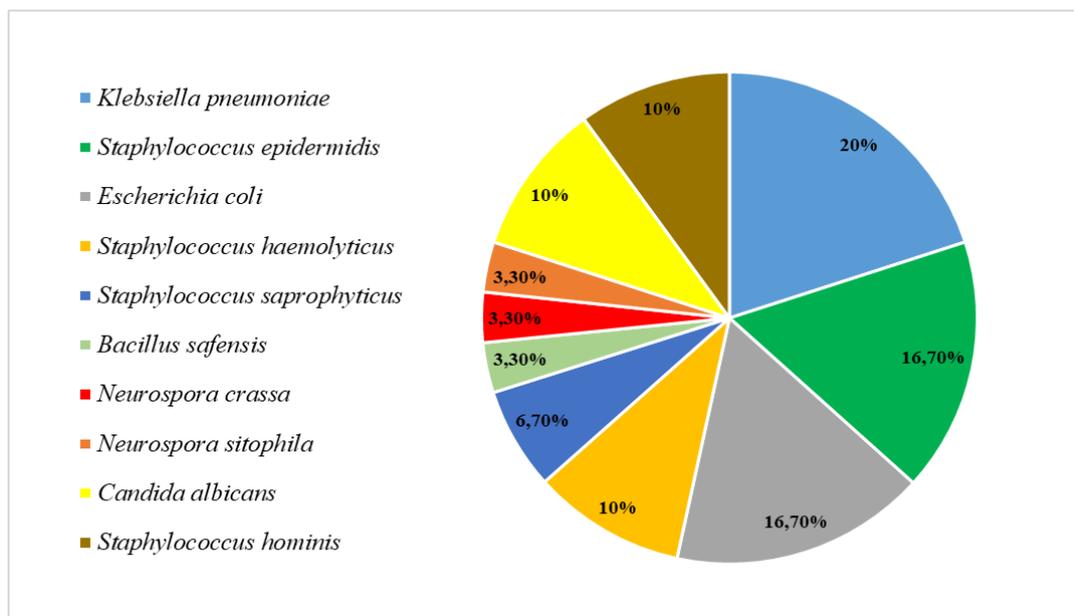


Рисунок 12 – Частота встречаемости микроорганизмов, выявленных из опухоли простаты, %

Известно, что мужской мочеполовой тракт обычно колонизируется бактериями рода *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Finegoldia*, *Peptoniphilus*, *Anaerococcus* и *Lactobacillus* (Gonçalves, 2023). Присутствие в опухоли простаты видов *E. coli*, *S. haemolyticus* и *S. hominis* подтверждается и литературными данными (Коган и др., 2011) Полученные результаты могут быть обусловлены способностью данных микроорганизмов колонизировать предстательную железу в результате бактериальной транслокации через мочеиспускательный канал (Che et al., 2021).

Фэн и др. (Feng, et al., 2019) проанализировали образцы опухолевой ткани простаты 65 пациентов с раком предстательной железы, перенесших радикальную простатэктомию, в которых доминирующими были бактерии рода *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Acinetobacter* и *Cutibacterium*. По данным литературы, наличие в опухоли вида *C. albicans*, возможно, связано с развитием хронических заболеваний предстательной железы – простатита и рака простаты (Heras-Cañas et al., 2015).

### 3.2. Изучение влияния инфекций мочевыводящих путей на развитие рака предстательной железы

Обнаруженные в мазках опухолевой ткани предстательной железы виды *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. albicans*, а также представители рода *Staphylococcus*, наиболее часто ассоциируются как возбудители бактериального простатита (рис. 13), что подтверждается исследованиями (Туник и др., 2017).

Помимо этого, у пациентов с диагнозом хронический бактериальный простатит могут обнаруживаться неклостридиальные анаэробные бактерии, а также коринеформные бактерии (Коган и др., 2011)

Возбудитель	Частота выделения
<i>Escherichia coli</i>	62,05%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,1%
<i>Proteus mirabilis</i>	5,21%
<i>Staphylococcus</i> spp.	4,39%
<i>Enterococcus</i> spp.	4,39%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,72%
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,61%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,98%
<i>Morganella morganii</i>	0,81%
<i>Candida</i> spp.	0,88%
<i>Acinetobacter</i> spp.	0,64%
<i>Citrobacter</i> spp.	0,64%
Другие	2,58%

Рисунок 13 – Возбудители неспецифических мочеполовых инфекций

Обнаружение в моче и в секрете простаты разных видов микроорганизмов указывает на то, что предстательная железа подвергается воздействию бактерий. Современные данные указывают на роль микробиома в создании воспалительной среды простаты, которая может способствовать развитию и прогрессированию рака предстательной железы. (Sfanos et al., 2018).

В анамнезе у большинства больных раком предстательной железы выявлялся хронический простатит, что может свидетельствовать о влиянии хронического воспаления на развитие рака. В микросреде воспаленной предстательной железы часто наблюдаются воспалительные клетки, что приводит к пролиферативной воспалительной атрофии. Воспаление может стимулировать канцерогенез через окислительный стресс и генерацию активных форм кислорода, которые вызывают мутагенез, что в конечном итоге может привести к неопластичности клетки. Исследования *in vivo*, выявили, что воспаление предстательной железы приводит к перепрограммированию эпителиальных клеток, что является одним из факторов канцерогенеза. Морфологические исследования подтверждают, что простатит ведет к клеточной деструкции (Wittschieber et al., 2010), обусловленный разрушением эпителиальной ткани, ядерным полиморфизмом эпителиальных клеток и гиперхромностью. (Кручина-Богданов, Журавель, 2022)

### **3.3. Сравнительный анализ результатов бактериологического исследования с гистологическим заключением пациентов с РПЖ**

Для оценки степени злокачественности рака предстательной железы применяются несколько критериев, наиболее важными из которых являются шкала Глисона и степень дифференцировки опухоли (Grade).

Агрессивность по шкале Глисона оценивается от 2 до 10 баллов, чем выше балл, тем более агрессивная опухоль с худшим прогнозом. Шкала Глисона включает оценку двух наиболее распространенных опухолевых компонентов, взятых на биопсию и сумму их баллов. Опухоли с суммой Глисона  $\leq 6$  считаются низкоагрессивными, 7 - умеренно агрессивными, от 8-10 - высокоагрессивными.

Степень дифференцировки опухоли оценивает, насколько клетки опухоли похожи на нормальные клетки предстательной железы. Высокодифференцированные опухоли - Grade 1, обычно растут медленно, и имеют схожую гистологическую картину с нормальными эпителиальными

клетками предстательной железы, а низкодифференцированные Grade 4 - обладают высокой агрессивностью, имеют признаки эпителиально-мезенхимального перехода и могут метастазировать.

Был проведен сравнительный анализ гистологического заключения, основанного на шкале Глисона и степени дифференцировки опухоли, с результатами бактериологического исследования исследуемых пациентов. Для выявления значимой корреляции, учитывали виды микроорганизмов, которые встречались в 3-х и более случаях. Таким образом под оценку попали образцы с выявленными микроорганизмами следующих видов: *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *C. albicans*.

Обнаружено, что наличие в опухолевых образцах ткани предстательной железы *K. pneumoniae* связано, как с более высокой первой оценкой - 4,2 балла, так и второй - 4,4 балла по шкале Глисона, чем в образцах, в которых рост не был выявлен - 3,3 и 3,5 баллов соответственно (рис. 14).

Также наличие *K. pneumoniae* коррелирует со степенью дифференцировки опухоли. Опухоли, в которых присутствовал данный вид микроорганизмов характеризовались более низкой дифференциацией клеток по Grade - 2.7, оценка противоположного результата составила 1,8.

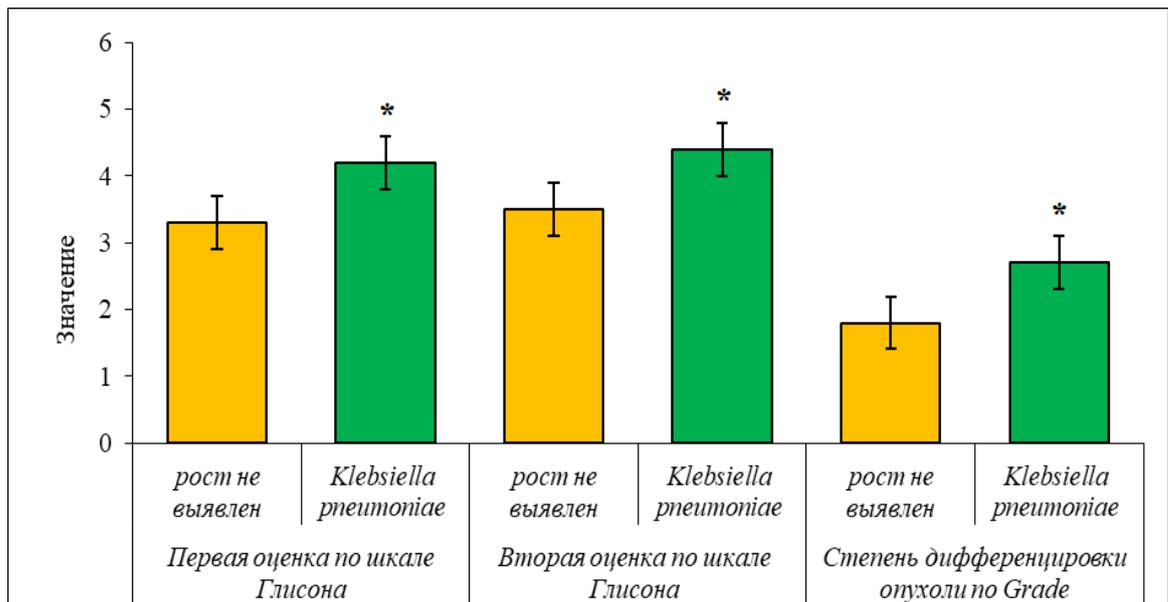


Рисунок 14 – Зависимость степени злокачественности опухоли предстательной железы от присутствия в образцах *K. pneumoniae*

В результате сравнения мазков с выявленным *S. epidermidis*, в которых первая оценка получила 3,1 балла, вторая - 3,6 балла, а степень дифференцировки опухоли составила 1,3 и образцов с отсутствующим ростом микроорганизмов не обнаружено статистически значимой корреляции (рис. 15).

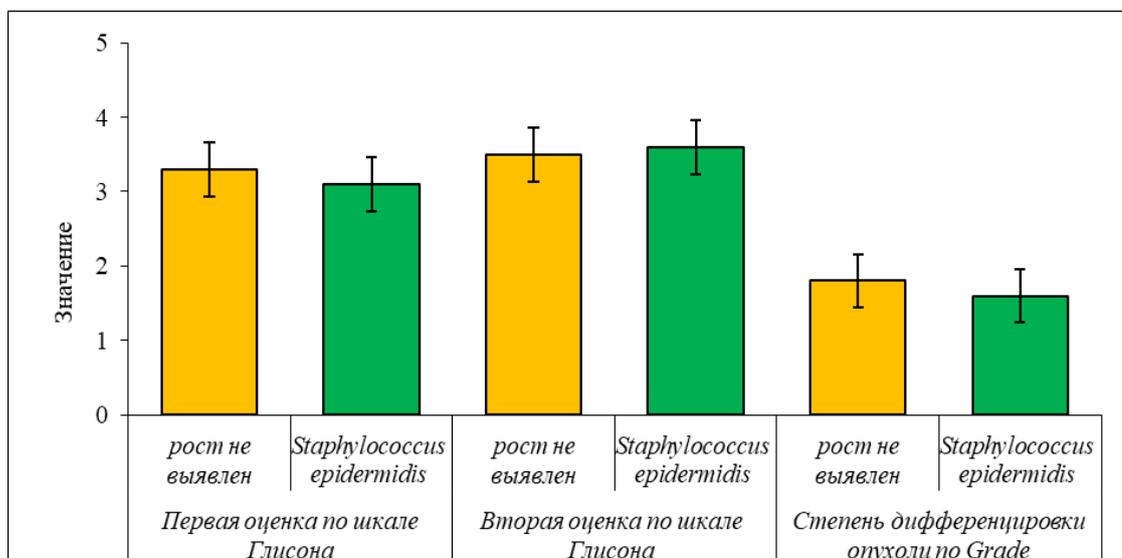


Рисунок 15 – Зависимость степени злокачественности опухоли предстательной железы от присутствия в образцах *S. epidermidis*

Опухоли, в которых была идентифицирована *E. coli*, получили в среднем 4,2 балла наиболее распространенного паттерна раковых клеток по шкале Глисона, второй показатель составил 4,3 балла, а степень градации новообразования составила 2,6 по сравнению с образцами, в которых роста микроорганизмов не было выявлено (рис. 16).

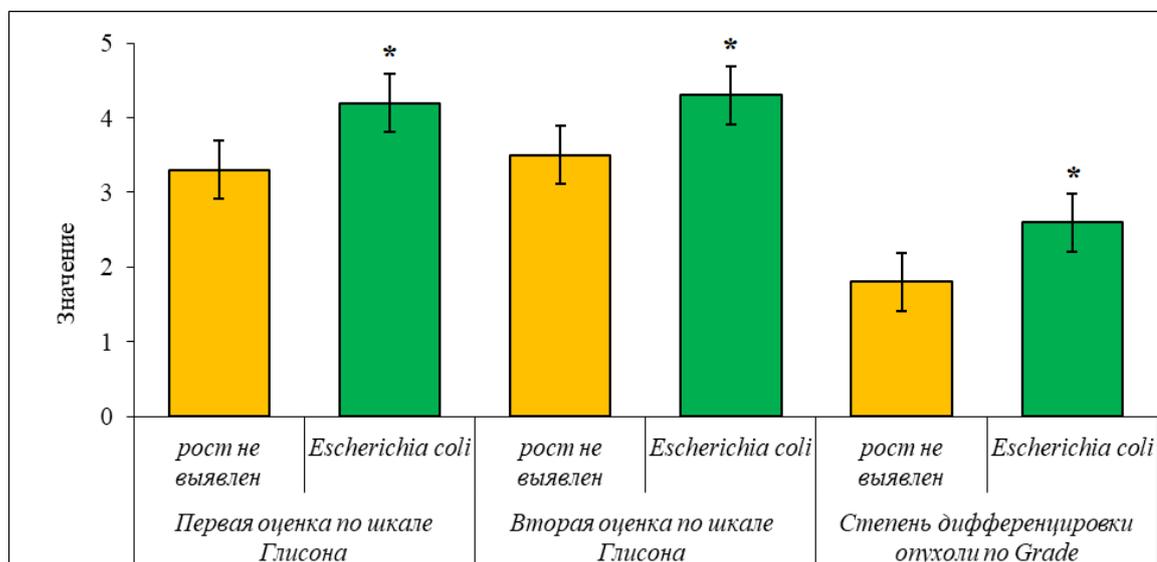


Рисунок 16 – Зависимость степени злокачественности опухоли предстательной железы от присутствия в образцах *E. coli*

Образцы, в которых был выявлен *S. haemolyticus*, получили следующие оценки патоморфологического заключения: первая оценка по шкале Глисона - 3,1 балла, вторая - 3,3 балла, а степень градации - 1,6. При сравнении с образцами, в которых рост не был обнаружен, результат оказался статистически незначимым (рис. 17).

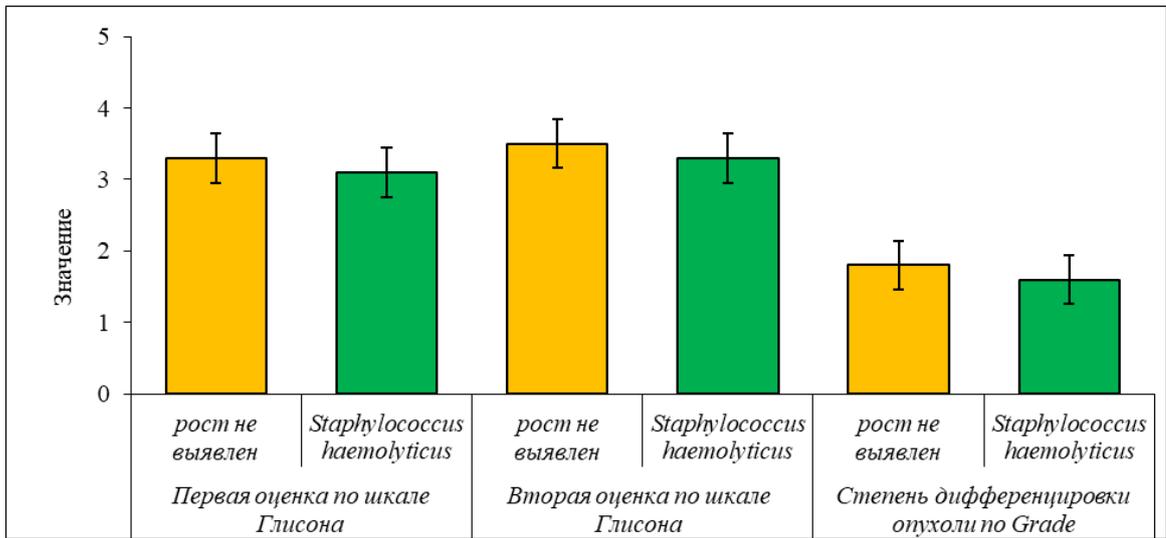


Рисунок 17 – Зависимость степени злокачественности опухоли предстательной железы от присутствия в образцах *S. haemolyticus*

Оценка степени злокачественности по шкале Глисона для опухолей, в которых присутствовал *S. hominis* составила 3,5 и 3,7 соответственно, при этом оценка степени дифференцировки составила 2,3 по Grade. Статистический анализ при этом не выявил значимой корреляции (рис. 18).

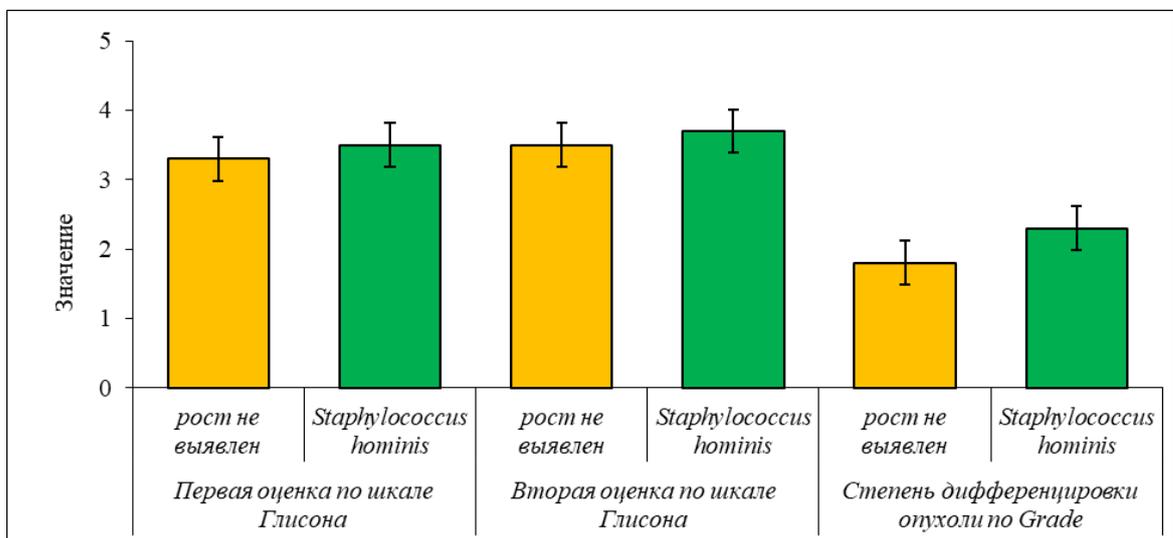


Рисунок 18 – Зависимость степени злокачественности опухоли предстательной железы от присутствия в образцах *S. hominis*

Образцы, в которых была выявлена *C. albicans*, получили следующие оценки в патоморфологическом заключении: первая оценка по шкале Глисона составила - 4,1 балла, что значительно выше, по сравнению с образцами, в которых роста микроорганизмов не обнаружено; вторая оценка - 3,9 балла; степень градации - 2,6, что является статистически значимым результатом (рис. 19).

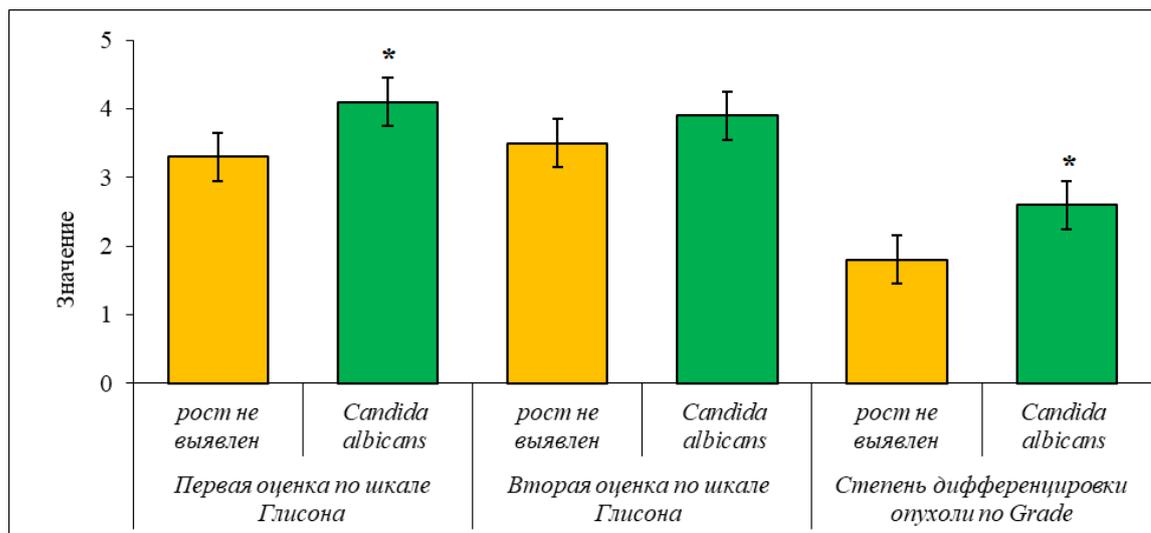


Рисунок 19 – Зависимость степени злокачественности опухоли предстательной железы от присутствия в образцах *C. albicans*

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты обосновывают целесообразность определения состава микробиоты опухоли предстательной железы для установления патогенетической роли микроорганизмов и их сообществ в формировании и прогрессировании рака предстательной железы. Кроме того, изучение механизмов влияния микроорганизмов на канцерогенез и иммунный ответ может быть полезным при организации профилактических мероприятий, а также при создании новых методов лечения.

Поскольку исследований, направленных на мониторинг микробного состава на разных стадиях прогрессирования рака проведено сравнительно мало, то актуальным представляется поиск мажорных групп микроорганизмов, непосредственно участвующих в прогрессировании и метастазировании рака для возможного предсказания/прогнозирования появления онкологических больных. Кроме того, ряд исследователей описывают использование микробной иммунотерапии и таргетной терапии, которые совместно способны компенсировать недостатки традиционного лечения рака. Поэтому исследования в данной области должны быть продолжены и нацелены на более углубленное изучение микрофлоры рака предстательной железы, а также молекулярных механизмов действия микроорганизмов на опухолевые клетки, что имеет важное значение для диагностики, лечения и прогнозирования рака простаты.

## ВЫВОДЫ

1. По данным литературы, наличие *P. acnes*, *H. pylori*, *E. coli*, а также других видов *Enterobacteriaceae*, может способствовать прогрессированию рака предстательной железы.

2. Для исследования были взяты мазки из опухолевой ткани, полученные интраоперационным путем у 65 пациентов в возрасте 51-74 года с диагнозом рак предстательной железы.

3. В результате бактериологического исследования мазков из опухолевой ткани были идентифицированы: *Klebsiella pneumoniae* - 20%, *Staphylococcus epidermidis* - 16,7%, *Escherichia coli* - 16,7%, *Staphylococcus haemolyticus* - 10%, *Staphylococcus hominis* - 10%, *Candida albicans* - 10%, *Staphylococcus saprophyticus* - 6,7%, *Bacillus safensis* - 3,3%, *Neurospora crassa* - 3,3% и *Neurospora sitophila* - 3,3%.

4. В результате сравнительного анализа результатов бактериологического исследования с гистологическим заключением у пациентов с раком предстательной железы обнаружено, что образцы, в которых выявлены *K. pneumoniae*, *E. coli* и *C. albicans* отличаются более высокой степенью злокачественности опухоли по шкале Глисона и степени дифференцировки (Grade).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артамонова Е.В., Ткаченко Е.В., Фрейер Ж., Чернядьева С.Н. Как достичь баланса между эффективностью лечения и качеством жизни пациента с метастатическим раком молочной железы. РМЖ. Медицинское обозрение. 2022. №6(6). С. 326-333.
2. Карпин А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 250 с.
3. Каприн А.Д., Алексеев Б.Я., Матвеев В.Б., Пушкарь Д.Ю., Говоров А.В., Горбань Н.А., Киричек А.А., Бирюков В.А., Волкова М.И., Гулидов И.А., Гуменецкая Ю.В., Крылов В.В., Карякин О.Б., Крашенинников А.А., Мардынский Ю.С., Ньюшко К.М., Захарова Т.И., Костин А.А., Хмелевский Е.В., Феденко А.А., Болотина Л.В., Фалалеева Н.А., Филоненко Е.В., Невольских А.А., Иванов С.А., Хайлова Ж.В., Геворкян Т.Г. Рак предстательной железы. Клинические рекомендации. Современная Онкология. 2021. № 23(2). С. 211–247.
4. Коган М.И., Набока Ю.Л., Васильева Л.И., Чибичян М.Б., Ильяш А.В., Васильев О.Н. Сравнительный анализ бактериальной популяции простаты при раке и доброкачественной гиперплазии простаты. Онкоурология. 2011. №7(3). С. 95-99.
5. Кручина-Богданов В.Д., Журавель В.В. Морфологические изменения предстательной железы при хроническом бактериальном простатите. FORCIPE. 2022; №S3.
6. Набока Ю.Л., Чибичян М.Б., Ильяш А.В. Микробная контаминация ткани предстательной железы при доброкачественной гиперплазии и раке предстательной железы. Вестник урологии. 2013. №1. С. 28-38.

7. Носов Д.А., Волкова М.И., Гладков О.А., Карабина Е.В., Крылов В.В., Матвеев В.Б. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака предстательной железы. Практические рекомендации RUSSCO, часть 1. Злокачественные опухоли. 2023. Т. 13. №3(2). С. 640-660.
8. Садченко А.В., Говоров А.В., Пушкарь Д.Ю., Васильев А.О. Сатурационная биопсия предстательной железы (обзор литературы). Онкоурология. 2013. №3. С. 70-75.
9. Туник Т.В., Иванова Е.И., Григорова Е.В., Воропаева Н.М., Вишневская В.А. Спектр представителей условно-патогенной микрофлоры, выделенной из секрета простаты при хроническом бактериальном простатите. Acta Biomedica Scientifica. 2017; №5-2:117.
10. Abedi S., Doosti A., Jami M.S. Impacts of the prostate stem cell antigen (PSCA) and Clostridium perfringens enterotoxin (CPE) on the apoptosis and cell cycle regulatory genes in PC3. Prep Biochem Biotechnol. 2020; 50:47-55.
11. Alane S., El-Zawahry A., Dynda D., Dabaja A., McVary K., Karr M., Braundmeier-Fleming A. A prospective study to examine the association of the urinary and fecal microbiota with prostate cancer diagnosis after transrectal biopsy of the prostate using 16sRNA gene analysis. Prostate. 2019; 79:81-87.
12. Alexeyev O., Bergh J., Marklund I., Thellenberg-Karlsson C., Wiklund F., Grönberg H., Bergh A., Elgh F. Association between the presence of bacterial 16S RNA in prostate specimens taken during transurethral resection of prostate and subsequent risk of prostate cancer (Sweden). Cancer Causes Control. 2006; 17(9):1127-1133.
13. Albright F., Stephenson R.A., Agarwal N., Teerlink C.C., Lowrance W.T., Farnham J.M., Albright L.A. Prostate cancer risk prediction based on complete prostate cancer family history. Prostate. 2015; 75:390.
14. Al-Marhoon M.S., Ouhtit A., Al-Abri A.O., Venkiteswaran K.P., Al-Busaidi Q., Mathew J., Al-Haddabi I., Shareef O., Aquil S., Rahman K., Al-Hashmi I., Gupta I., Ganguly S.S. Molecular evidence of helicobacter pylori infection in prostate tumors. Curr Urol. 2015; 8:138-143.

15. Anker J.F., Naseem A.F., Mok H., Schaeffer A.J., Abdulkadir S.A., Thumbikat P. Multi-Faceted immunomodulatory and tissue-tropic clinical bacterial isolate potentiates prostate cancer immunotherapy. *Nat Commun.* 2018; 9:1591.
16. Baker J.M., Al-Nakkash L., Herbst-Kralovetz M.M. Estrogen-gut microbiome axis: Physiological and clinical implications. *Maturitas.* 2017; 103:45-53.
17. Banerjee S., Alwine J.C., Wei Z., Tian T., Shih N., Sperling C., Guzzo T., Feldman M.D., Robertson E.S. Microbiome signatures in prostate cancer. *Carcinogenesis.* 2019; 40:749-64.
18. Bhudia R., Ahmad A., Akpenyi O., Whiley A., Wilks M., Oliver T. Identification of low oxygen-tolerating bacteria in prostate secretions of cancer patients and discussion of possible aetiological significance. *Scientific reports.* 2017; 7(1):15164.
19. Borsting C., Morling N. Next generation sequencing and its applications in forensic genetics. *Forensic Science International. Genetics.* 2015; 18:78-89.
20. Brüggemann H., Al-Zeer M.A. Bacterial signatures and their inflammatory potentials associated with prostate cancer. *APMIS.* 2020; 128(2):80-91.
21. Carlsson S., Assel M., Ulmert D., Gerdtsson A., Hugosson J., Vickers A., Lilja H. Screening for prostate cancer starting at age 50-54 years. A population-based cohort study. *Eur Urol.* 2017; 71(1):46-52.
22. Catalona W.J., Richie J.P., Ahmann F.R., Hudson M.A., Scardino P.T., Flanigan R.C., DeKernion J.B., Ratliff T.L., Kavoussi L.R., Dalkin B.L., Waters W.B., MacFarlane M.T., Southwick P.C. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen (PSA) in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6630 men. *J Urol.* 1994; 151:1283-1290.
23. Cavarretta I, Ferrarese R, Cazzaniga W, Saita D, Lucianò R, Ceresola ER, et al. Cavarretta I, Ferrarese R., Cazzaniga W., Saita D., Lucianò R., Ceresola E.R., Locatelli I., Visconti L., Lavorgna G., Briganti A., Nebuloni M., Doglioni C.,

Clementi M., Montorsi F., Canducci F., Salonia A. The microbiome of the prostate tumor microenvironment. *Eur Urol.* 2017; 72:625-631.

24. Che B., Zhang W., Xu S., Yin J., He J., Huang T., Li W., Yu Y., Tang K. Prostate microbiota and prostate cancer: a new trend in treatment. *Frontiers in oncology.* 2021; 11:805459.

25. Chughtai B., Lee R., Te A., Kaplan S. Role of inflammation in benign prostatic hyperplasia. *Rev Urol.* 2011; 13:147-150.

26. Cohen R.J., Shannon B.A., McNeal J.E., Shannon T., Garrett K.L. *Propionibacterium acnes* associated with inflammation in radical prostatectomy specimens: a possible link to cancer evolution? *J Urol.* 2005; 173(6):1969-1974.

27. Cossart P., Sansonetti P.J. Bacterial Invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science.* 2004; 304:242-248.

28. Crawford E.D., Schutz M.J., Clejan S., Drago J., Resnick M.I., Chodak G.W., Gomella L.G., Austenfeld M., Stone N.N., Miles B.J. The effect of digital rectal examination on prostatespecific antigen levels. *JAMA.* 1992; 267:2227-2228.

29. Croxatto A., Prod'hom G., Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol. Rev.* 2012; 36:380–407.

30. D'Antonio D.L., Marchetti S., Pignatelli P., Piattelli A., Curia M.C. The oncobiome in gastroenteric and genitourinary cancers. *Int J Mol Sci.* 2022; 23:9664.

31. Davidsson S., Mölling P., Rider J.R., Unemo M., Karlsson M.G., Carlsson J., Andersson S.O., Elgh F., Söderquis B., Andrén O. Frequency and typing of *Propionibacterium acnes* in prostate tissue obtained from men with and without prostate cancer. *Infect Agent Cancer.* 2016; 11:26.

32. Davidsson S., Carlsson J., Mölling P., Gashi N., Andrén O., Andersson S.O., Brzuszkiewicz E., Poehlein A., Al-Zeer M.A., Brinkmann V., Scavenius C., Nazipi S., Söderquist B., Brüggemann H. Prevalence of Flp Pili-encoding plasmids in cutibacterium acnes isolates obtained from prostatic tissue. *Front Microbiol.* 2017; 8:2241.

33. Denis L., Morton M.S., Griffiths K. Diet and its preventive role in prostatic disease. *Eur Urol.* 1999; 35:377-387.
34. Dybowski B.A., Zapała P., Bres-Niewada E., Zapała Ł., Miązek-Zapała N., Poletajew S., Młynarczyk G., Radziszewski P. Catheter-associated bacterial flora in patients with benign prostatic hyperplasia: shift in antimicrobial susceptibility pattern. *BMC Infect Dis.* 2018; 18(1):590.
35. Dong W., Zheng J., Huang Y., Tan H., Yang S., Zhang Z., Liang X., Liu H., Zeng G., Xu H., Jiang X., Zhong W. Sodium butyrate treatment and fecal microbiota transplantation provide relief from ulcerative colitis-induced prostate enlargement. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12:1037279.
36. Dorn B.R., Leung K.L., Progulske-Fox A. Invasion of human oral epithelial cells by *Prevotella intermedia*. *Infect Immun.* 1998; 66:6054-6057.
37. Edwards J.E., Moore R.A. Finasteride in the treatment of clinical benign prostatic hyperplasia: A systematic review of randomized trials. *BMC Urol.* 2002; 2:14.
38. Estemalik J., Demko C., Bissada N.F., Joshi N., Bodner D., Shankar E., Gupta, S. Simultaneous detection of oral pathogens in subgingival plaque and prostatic fluid of men with periodontal and prostatic diseases. *J Periodontol.* 2017; 88:823-829.
39. Fair W.R., Couch J., Wehner N. Prostatic antibacterial factor. Identity and Significance. *Urology.* 1976; 7:169-177.
40. Feng Y., Ramnarine V.R., Bell R., Volik S., Davicioni E., Hayes V.M., Ren S., Collins C.C. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of human prostate microbiota from patients with prostate cancer. *BMC Genomics.* 2019; 20(1):146.
41. Flavell R.A., Sanjabi S., Wrzesinski S.H., Licona-Limon P. The polarization of immune cells in the tumour environment by tgf $\beta$ . *Nat Rev Immunol.* 2010; 10:554-567.

42. Foo L.H., Balan P., Pang L.M., Laine M.L., Seneviratne C.J. Role of the oral microbiome, metabolic pathways, and novel diagnostic tools in intra-oral halitosis: a comprehensive update. *Crit Rev Microbiol.* 2021; 47:359-375.
43. Fowler J.J. Secretory Immunity of the Prostate Gland. *Infection.* 1991; 19(3):131-137.
44. Franco-Duarte R., Černáková L., Kadam S., Kaushik K.S., Salehi B., Bevilacqua A., Corbo M.R., Antolak H., Dybka-Stępień K., Leszczewicz M., Relison Tintino S., Alexandrino de Souza V.C., Sharifi-Rad J., Coutinho H.D.M., Martins N., Rodrigues C.F. Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms-from past to present microorganisms. *Microorganisms.* 2019; 7(5):130.
45. Fry S.E., Kaye M., Missan D.S., Becker C., Shabilla M., Martinez D., Bossert E., Ellis J. Microbial community profiling by next-generation DNA sequencing of adenocarcinoma of the prostate with evidence of ochratoxin A producing fungi. *Exp Mol Pathol.* 2022; 128:104831.
46. Galfano A., Novara G., Iafrate M., Cosentino M., Cavalleri S., Artibani W., Ficarra V. Prostate biopsy: the transperineal approach. *EAU-EBU Update Series.* 2007; 5(6):241-249.
47. Golombos D.M., Ayangbesan A., O'Malley P., Lewicki P., Barlow L., Barbieri C.E., Chan C., DuLong C., Abu-Ali G., Huttenhower C., Scherr D.S. The role of gut microbiome in the pathogenesis of prostate cancer: a prospective, pilot study. *Urology.* 2018; 111:122-128.
48. Gonçalves M.F.M. Microbiota of urine, glans and prostate biopsies in patients with prostate cancer reveals a dysbiosis in the genitourinary system. *Cancers.* 2023; 15:1423.
49. Guo Y., Zhang Z., Wei H., Wang J., Lv J., Zhang K., Keller E.T., Yao Z., Wang Q. Cytotoxic necrotizing factor 1 promotes prostate cancer progression through activating the Cdc42-PAK1 axis. *J Pathol.* 2017; 243:208-219.

50. Hamada T., Nowak J.A., Milner D.J., Song M., Ogino S. Integration of microbiology, molecular pathology, and epidemiology: a new paradigm to explore the pathogenesis of microbiome-driven neoplasms. *J Pathol.* 2019; 247:615-628.
51. Hamoen E.H.J., de Rooij M., Witjes J.A., Barentsz J.O., Rovers M.M. Use of the prostate imaging reporting and data system (PI-RADS) for prostate cancer detection with multiparametric magnetic resonance imaging: a diagnostic meta-analysis. *Eur Urol.* 2015; 67(6):1112-1121.
52. Heras-Cañas V., Ros L., Sorlózano A., Gutiérrez-Soto B., Navarro-Marí J.M., Gutiérrez-Fernández J. Isolated yeast species in urine samples in a Spanish regional hospital. *Rev Argent Microbiol.* 2015; 47(4):331-334.
53. Hochreiter W.W., Duncan J.L., Schaeffer A.J. Evaluation of the bacterial flora of the prostate using a 16S rRNA gene based polymerase chain reaction. *J Urol.* 2000; 163:127-130.
54. Honda-Takinami R., Hata J., Matsuoka K., Hoshi S., Koguchi T., Sato Y., Akaihata H., Kataoka M., Ogawa S., Nishiyama K., Suzutani T., Kojima Y. Association between the presence of bacteria in prostate tissue and histopathology in biopsies from men not complaining of lower urinary tract symptoms. *Fukushima J Med Sci.* 2022; 68(3):161-167.
55. Hooton T.M., Bradley S.F., Cardenas D.D., Colgan R., Geerlings S.E., Rice J.C., Saint S., Schaeffer A.J., Tambayh P.A., Tenke P., Nicolle L.E., Infectious Diseases Society of America. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 international clinical practice guidelines from the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis.* 2010; 50:625-663.
56. Hurst R., Meader E., Gihawi A., Rallapalli G., Clark J., Kay G.L., Webb M., Manley K., Curley H., Walker H., Kumar R., Schmidt K., Crossman L., Eeles R.A., Wedge D.C., Lynch A.G., Massie C.E., CRUK-ICGC Prostate Group, Yazbek-Hanna M., Rochester M., Cooper C.S. Microbiomes of urine and the prostate are linked to human prostate cancer risk groups. *Eur Urol Oncol.* 2022; 5(4):412-419.

57. Hurst R., Brewer D.S., Gihawi A., Wain J., Cooper C.S. Cancer invasion and anaerobic bacteria: new insights into mechanisms. *J Med Microbiol.* 2024; 73(3):001817.
58. Hwang J.E., Joung J.Y., Shin S.P., Choi M.K., Kim J.E., Kim Y.H., Park W.S., Lee S.J., Lee K.H. Ad5/35e1apsese4: a novel approach to marking circulating prostate tumor cells with a replication competent adenovirus controlled by PSA/PSMA transcription regulatory elements. *Cancer Lett.* 2016; 372:57-64.
59. Ilic D., Neuberger M.M., Djulbegovic M., Dahm P. Screening for prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013; 1: CD004720.
60. Iremashvili V.V., Chepurov A.K., Émberton M., Vladimirov V.G., Zarinskaia S.A., Kobaladze K.M. *Vestnik khirurgii imeni I. I. Grekova.* 2011. 170(6): 103-106.
61. Jain S., Dash P., Minz A.P., Satpathi S., Samal A.G., Behera P.K., Satpathi P.S., Senapati S. Lipopolysaccharide (LPS) enhances prostate cancer metastasis potentially through NF- $\kappa$ B activation and recurrent dexamethasone administration fails to suppress it in vivo. *Prostate.* 2019; 79:168-182.
62. Javier-DesLoges J., McKay R.R., Swafford A.D., Sepich-Poore G.D., Knight R., Parsons J.K. The microbiome and prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2022; 25:159-164.
63. Jones T.A., Radtke J.P., Hadaschik B., Marks L.S. Optimizing safety and accuracy of prostate biopsy. *Curr Opin Urol.* 2016; 26(5):472-80.
64. Joshi N., Bissada N.F., Bodner D., MacLennan G.T., Narendran S., Jurevic R., Skillicorn R. Association between periodontal disease and prostate-specific antigen levels in chronic prostatitis patients. *J Periodontol.* 2010; 81:864-869.
65. Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L. Pathogenic Escherichia Coli. *Nat Rev Microbiol.* 2004; 2:123-140.
66. Kim J.H., Seo H., Kim S., Rahim M.A., Jo S, Barman I. Different prostatic tissue microbiomes between high- and low-grade prostate cancer pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(16):8943.

67. Krieger J.N., Rein M.F. Zinc sensitivity of *Trichomonas vaginalis*: in vitro studies and clinical implications. *J Infect Dis.* 1982; 146:341-345.
68. Lavigne J.P., Espinal P., Dunyach-Remy C. Mass spectrometry: a revolution in clinical microbiology? *Clin. Chem. Lab Med.* 2013; 51(2):257–270.
69. Lawal O.U., Barata M., Fraqueza M.J., Worning P., Bartels M.D., Goncalves L., Paixão P., Goncalves E., Toscano C., Empel J., Urbaś M., Domiinguez M.A., Westh H., de Lencastre H., Miragaia M. *Staphylococcus saprophyticus* from clinical and environmental origins have distinct biofilm composition. *Front Microbiol.* 2021; 12:663768.
70. Liu L., Li Y., Li S., Hu N., He Y., Pong R., Lin D., Lu L., Law M. Comparison of next-generation sequencing systems. *J Biomed Biotechnol.* 2012; 2012:251364.
71. Lodding P., Aus G., Bergdahl S., Frösing R., Lilja H., Pihl C.G., Hugosson J. Characteristics of screening detected prostate cancer in men 50 to 66 years old with 3 to 4 ng/ml prostate specific antigen. *J Urol.* 1998; 159:899-903.
72. Loeb S., Sanda M.G., Broyles D.L., Shin S.S., Bangma C.H., Wei J.T., Partin A.W., Klee G.G., Slawin K.M., Marks L.S., van Schaik R.H., Chan D.W., Sokoll L.J., Cruz A.B., Mizrahi I.A., Catalona W.J. The prostate health index selectively identifies clinically significant prostate cancer. *J Urol.* 2015; 193(4):1163-1169.
73. Louie K.S., Seigneurin A., Cathcart P., Sasieni P. Do prostate cancer risk models improve the predictive accuracy of PSA screening? A MetaAnalysis. *Ann Oncol.* 2015; 26:848-864.
74. Maeda T., Murata M., Chiba H., Takasawa A., Tanaka S., Kojima T., Masumori N., Tsukamoto T., Sawada N. Claudin-4-targeted therapy using *Clostridium perfringens* enterotoxin for prostate cancer. *Prostate.* 2012; 72:351-360.
75. Mak T.N., Fischer N., Laube B., Brinkmann V., Metruccio M.M., Sfanos K.S., Mollenkopf H.J., Meyer T.F., Brüggemann, H. *Propionibacterium acnes* host cell tropism contributes to vimentin-mediated invasion and induction of inflammation. *Cell Microbiol.* 2012; 14:1720-1733.

76. Masljakov V.V., Pavlova O.N., Cymbal A.A., Pronina E.A., Sutonov F.P. The state of the microflora of the prostate secretion in healthy individuals and in acute bacterial prostatitis. *Bulletin of the Russian Peoples' Friendship University. Series: Medicine.* 2021; 25(4):339-345.
77. Miyake M., Ohnishi K., Hori S., Nakano A., Nakano R., Yano H., Ohnishi S., Owari T., Morizawa Y., Itami Y., Nakai Y., Inoue T., Anai S., Torimoto K., Tanaka N., Fujii T., Furuya H., Rosser C.J., Fujimoto K. *Mycoplasma genitalium* Infection and chronic inflammation in human prostate cancer: detection using prostatectomy and needle biopsy specimens. *Cells.* (2019) 8(3):212. doi: 10.3390/cells8030212
78. McLellan L.K., Hunstad D.A. Urinary Tract Infection: Pathogenesis and Outlook. *Trends Mol Med.* 2016; 22:946-957.
79. Monteran L., Erez N. The dark side of fibroblasts: cancer-associated fibroblasts as mediators of immunosuppression in the tumor microenvironment. *Front Immunol.* 2019; 10:1835.
80. Morris N.S., Stickler D.J., McLean R.J. The development of bacterial biofilms on indwelling urethral catheters. *World J Urol.* 1999; 17:345-350.
81. Nickel J.C., Stephens A., Landis J.R., Mullins C., van Bokhoven A., Lucia M.S., Ehrlich G.D., MAPP Research Network. Assessment of the Lower Urinary Tract Microbiota during Symptom Flare in Women with Urologic Chronic Pelvic Pain Syndrome: A MAPP Network Study. *J Urol.* 2016; 195:356-362.
82. Oesterling J.E., Jacobsen S.J., Chute C.G., Guess H.A., Girman C.J., Panser L.A., Lieber M.M. Serum prostate specific antigen in a community based population of healthy men: establishment of age specific reference ranges. *JAMA.* 1993; 270:860-864.
83. Oh T.G., Kim S.M., Caussy C., Fu T., Guo J., Bassirian S., Singh S., Madamba E.V., Bettencourt R., Richards L., Yu R.T., Atkins A.R., Huan T., Brenner D.A., Sirlin C.B., Downes M., Evans R.M., Loomba R. A universal gut microbiome-derived signature predicts cirrhosis. *Cell Metab.* 2020; 32:901.

84. Ohadian Moghadam S., Momeni S.A. Human microbiome and prostate cancer development: current insights into the prevention and treatment. *Front Med.* 2021; 15:11-32.
85. Patel R. MALDI-TOF mass spectrometry: transformative proteomics for clinical microbiology. *Clin Chem.* 2013; 59(2):340-342.
86. Pelling H., Nzakizwanayo J., Milo S., Denham E.L., MacFarlane W.M., Bock L.J., Sutton J.M., Jones B.V. Bacterial Biofilm Formation on Indwelling Urethral Catheters. *Lett Appl Microbiol.* 2019; 68:277-293.
87. Pernar C.H., Ebot E.M., Wilson K.M., Mucci L.A. The epidemiology of prostate cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018; 8(12):a030361.
88. Poole N.M., Green S.I., Rajan A., Vela L.E., Zeng X.L., Estes M.K., Maresso A.W. Role for FimH in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* invasion and translocation through the intestinal epithelium. *Infect Immun.* 2017; 85:e00581-17.
89. Porter C.M., Shrestha E., Peiffer L.B., Sfanos K.S. The microbiome in prostate inflammation and prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2018; 21(3):345-354.
90. Power J., Murphy M., Hutchinson B., Murphy D., McNicholas M., O'Malley K., Murray J., Cronin C. Transperineal ultrasound-guided prostate biopsy: what the radiologist needs to know. *Insights Imaging.* 2022; 13(1):77.
91. Proietti S., Nardicchi V., Porena M., Giannantoni A. Attività della tossina botulinica A in linee cellulari di cancro prostatico. *Urologia.* 2012; 79:135-141.
92. Reed J.P., Devkota S., Figlin R.A. Gut microbiome, antibiotic use, and immunotherapy responsiveness in cancer. *Ann Transl Med.* 2019; 7:309.
93. Rezaei S.D., Hayward J.A., Norden S., Pedersen J., Mills J., Hearps A.C., Tachedjian G. HERV-K Gag RNA and protein levels are elevated in malignant regions of the prostate in males with prostate cancer. *Viruses.* 2021; 13(3):449.

94. 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.
95. Rizzo A., Santoni M., Mollica V., Fiorentino M., Brandi G., Massari F. Microbiota and prostate cancer. *Seminars in cancer biology.* 2022. 86(Pt 3):1058–1065.
96. Roberts M.J., Bennett H.Y., Harris P.N., Holmes M., Grummet J., Naber K., Wagenlehner F.M.E. Prostate biopsy-related infection: a systematic review of risk factors, prevention strategies, and management approaches. *Urology.* 2017; 104:11-21.
97. Saadat S., Karami P., Jafari M., Kholoujini M., Rikhtegaran Tehrani Z., Mohammadi Y., Alikhani M.Y. The silent presence of *Mycoplasma hominis* in patients with prostate cancer. *Pathog Dis.* 2020; 78(7):ftaa037.
98. Safarpour-Dehkordi M., Doosti A., Jami M.S. Impacts of the Staphylococcal Enterotoxin H on the Apoptosis and lncRNAs in PC3 and ACHN. *Mol Gen Microbiol Virol.* 2020; 35:180-188.
99. Sandrin T.R., Goldstein J.E., Schumaker S. MALDI TOF MS profiling of bacteria at the strain level: a review. *Mass spectrometry reviews.* 2013; 32(3): 188-217.
100. Sfanos K.S., Sauvageot J., Fedor H.L., Dick J.D., De Marzo A.M., Isaacs W.B. A molecular analysis of prokaryotic and viral DNA sequences in prostate tissue from patients with prostate cancer indicates the presence of multiple and diverse microorganisms. *Prostate.* 2008; 68(3):306-320.
101. Shrestha E., White J.R., Yu S.H., Kulac I., Ertunc O., De Marzo A.M., Yegnasubramanian S., Mangold L.A., Partin A.W., Sfanos K.S. Profiling the urinary microbiome in men with positive versus negative biopsies for prostate cancer. *J Urol.* 2018; 199:161-71.
102. Singhal N., Kumar M., Kanaujia P.K., Viridi J.S. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol.* 2015; 6:791.

103. Stanford J.L., Stephenson R.A., Coyle L.M., Cerhan J., Correa R., Eley J.W., Gilliland F., Hankey B., Kolonel L.N., Kosary C., Ross R., Severson R., West D. Prostate Cancer Trends 1973–1995. SEER Program, National Cancer Institute, NIH Pub.; 1999; 99:4543.
104. Steinberg G.D., Carter B.S., Beaty T.H., Childs B., Walsh P.C. Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate*. 1990; 17:337-437.
105. Steiner M.C., Marston J.L., Iniguez L.P., Bendall M.L., Chiappinelli K.B., Nixon D.F., Crandall K.A. Locus-Specific Characterization of Human Endogenous Retrovirus Expression in Prostate, Breast, and Colon Cancers. *Cancer Res*. 2021; 81:3449-3460.
106. Stewart R.W., Lizama S., Peairs K., Sateia H.F., Choi Y. Screening for prostate cancer. *Semin Oncol*. 2017; 44(1):47-56.
107. Tan D.S., Mok T.S., Rebbeck T.R. Cancer Genomics: diversity and disparity across ethnicity and geography. *J Clin Oncol*. 2016; 34:91-101.
108. Tian Q.X., Zhang Z.H., Ye Q.L., Xu S., Hong Q., Xing W.Y., Chen L., Yu D.X., Xu D.X., Xie D.D. Melatonin inhibits migration and invasion in lps-stimulated and -unstimulated prostate cancer cells through blocking multiple EMT-related pathways. *J Inflamm Res*. 2021; 14:2253-2265.
109. Thompson I.M., Pauler D.K., Goodman P.J., Tangen C.M., Lucia M.S., Parnes H.L., Minasian L.M., Ford L.G., Lippman S.M., Crawford E.D., Crowley J.J., Coltman C.A. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level  $\leq$  4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med*. 2004; 350:2239-2246.
110. Ueda N., Kondo M., Takezawa K., Kiuchi H., Sekii Y., Inagaki Y., Soda T., Fukuhara S., Fujita K., Uemura M., Imamur R., Miyagawa, Y., Nonomura N., Shimada S. Bladder urothelium converts bacterial lipopolysaccharide information into neural signaling via an ATP-mediated pathway to enhance the micturition reflex for rapid defense. *Sci Rep*. 2020; 10(1):21167.
111. Walther W., Petkov S., Kuvardina O.N., Aumann J., Kobelt D., Fichtner I., Lemm M., Piontek J., Blasig I. E., Stein U., Schlag P.M. Novel *Clostridium*

*perfringens* enterotoxin suicide gene therapy for selective treatment of claudin-3- and -4-overexpressing tumors. *Gene Ther.* 2012; 19:494-503.

112. Wheeler K.M., Liss M.A. The microbiome and prostate cancer risk. *Curr Urol Rep.* 2019; 20:66.

113. Wittschieber D., Schenkenberg S., Dietel M., Erbersdobler A. Die bedeutung der chronischer prostatitis fur die pathogenese des prostatakarzinoms. *Urologe A.* 2010; 49(8):947-951.

114. Wolochow H., Hildebrand G.J., Lamanna C. Translocation of microorganisms across the intestinal wall of the rat: effect of microbial size and concentration. *J Infect Dis.* 1966; 116:523-528.

115. Xie H., Huang H.C., Yang Y.R., Wu J.B., He Q.X., Zhu Q.J., et al. Detection of 16S ribosomal RNA gene of bacteria in prostate tissues of adults. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2006; 86(14):976-978.

116. Yow M.A., Tabrizi S.N., Severi G., Bolton D.M., Pedersen J., Australian Prostate Cancer BioResource, Giles G.G., Southey M.C. Characterisation of microbial communities within aggressive prostate cancer tissues. *Infect Agent Cancer.* 2017; 12:4.

117. Yu Y., Singh H., Tsitrin T., Bekele S., Lin H., Sikorski P, Moncera K.J., Torralba M.G., Morrow L., Wolcott R., Nelson K.E., Pieper R. Urethral catheter biofilms reveal plasticity in bacterial composition and metabolism and withstand host immune defenses in hypoxic environment. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8:667462.

118. Yun S.J., Jeong P., Kang H.W., Kim Y.H., Kim E.A., Yan C., Choi Y.K., Kim D., Kim J.M., Kim S.K., Kim S.Y., Kim S.T., Kim W.T., Lee O.J., Koh G.Y., Moon S.K., Kim I.Y., Kim J., Choi Y.H., Kim W.J. Urinary micrnas of prostate cancer: virus-encoded Hsv1-Mirh18 and Hsv2-MirH9-5p could be valuable diagnostic markers. *Int Neurourol J.* 2015; 19:74-84.

119. Zarei A., Javid H., Sanjarian S., Senemar S., Zarei H. Metagenomics studies for the diagnosis and treatment of prostate cancer. *The Prostate.* 2022; 82(3):289-297.

120. Zhang X., Hu X., Rao X. Apoptosis induced by *Staphylococcus aureus* toxins. *Microbiol Res.* 2017; 205:19-24.

121. Złoch M., Sibińska E., Monedeiro F., Miśta W., Arendowski A., Fijałkowski P., Pietrowska M., Mrochem-Kwarciak J., Jędrzejewska A., Telka E., Karoń K., Rabsztyn M., Pomastowski P., Gabryś D. Urine microbiome changes during and after radiotherapy for prostate cancer. *BioRxiv* this version posted. 2024; 04.15.589478.



**АНТИПЛАГИАТ**  
ОБНАРУЖЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ

## СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

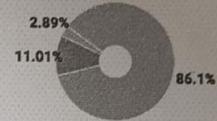
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ ANTIPLAGIAT.VUZ

Автор работы: Шаяхметов Рустам Ильгизович  
Самоцитирование  
рассчитано для: Шаяхметов Рустам Ильгизович  
Название работы: ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ  
Тип работы: Выпускная квалификационная работа  
Подразделение: ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ

### РЕЗУЛЬТАТЫ

СОВПАДЕНИЯ	11.01%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	86.1%
ЦИТИРОВАНИЯ	2.89%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 20.06.2025

### Структура документа:

Проверенные разделы: основная часть с.4-5, 9-20, 38-55, введение с.6-8, методы с.21-37, выводы с.56-57

### Модули поиска:

ИПС Адилет; СМИ России и СНГ; Переводные заимствования; СПС ГАРАНТ: аналитика; IEEE; Шаблонные фразы; Рувики; Цитирование; Публикации eLIBRARY; Патенты СССР, РФ, СНГ; Публикации РГБ; Коллекция НБУ; Диссертации НББ; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Кольцо вузов; Переводные заимствования IEEE; Перефразирования по коллекции IEEE; Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Публикации РГБ (переводы и перефразирования); Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Медицина; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Публикации eLIBRARY (переводы и...

Работу проверил: Халитова Рита Камилевна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

20.06.2025

ФГБОУ ВО БГМУ  
Минздрава России  
НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА  
Подпись проверяющего



Чтобы убедиться  
в подлинности справки, используйте QR-код,  
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование  
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.  
Предоставленная информация не подлежит использованию  
в коммерческих целях.

## ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

обучающегося Шаяхметова Рустама Ильгизовича группы БМ-201  
по теме: «Особенности микробиоты при раке предстательной железы».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований. Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология, направленность «Фундаментальная и прикладная микробиология».

Научный руководитель:  
к.б.н., доцент кафедры  
фундаментальной и  
прикладной микробиологии  
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России  
Дата 17.06.2025



Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ  
Минздрава России

Борцова Ю.Л.

## ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

обучающегося Шаяхметова Рустама Ильгизовича группы БМ-201  
по теме: «Особенности микробиоты при раке предстательной железы».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований. Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология, направленность «Фундаментальная и прикладная микробиология».

Рецензент:  
к.б.н., доцент кафедры фундаментальной  
и прикладной микробиологии  
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Дата 16.06.25

*М* Мочалов К.С.

Подпись:	<i>К.С. Мочалов</i>
Заверяю:	<i>Коч</i>
Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России	



## ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

обучающегося Шаяхметова Рустама Ильгизовича группы БМ-201  
по теме: «Особенности микробиоты при раке предстательной железы».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований. Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, практически отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистр по направлению подготовки 06.04.01. Биология, направленность «Фундаментальная и прикладная микробиология».

Рецензент:  
с.н.с. лаборатории прикладной  
микробиологии УИБ УФИЦ РАН, к.б.н.

Дата 17.01.2015



Ясаков Т.Р.