

УДК 616.65-002

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ БАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРОСТАТИТОМ.

Яковец Е.А.¹, Шрайнер Е.В.^{1,2,3}

¹Новосибирский государственный университет (НГУ), Россия, Новосибирская область, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

²ООО «Клиника семейного здоровья» (630090, пр-т ак Коптюга 13)

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН) (630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8)

Хронический рецидивирующий бактериальный простатит – остается в настоящее время весьма распространенным, недостаточно изученным и плохо поддающимся лечению заболеванием. До 80% случаев заболевание выявляют в возрасте 18-50 лет, т.е. в период наибольшей рабочей и репродуктивной активности. Очевидно, что не только медицинское, но и социальное значение имеет данная проблема. Поэтому требуется повышение эффективности диагностики и лечения хронического простатита. Постоянно обсуждаются новые факторы риска, которые могут влиять на развитие и течение данного заболевания. С учетом постоянного развития медицинских технологий подвергаются пересмотру алгоритмы обследования пациентов, целесообразность использования новейших лабораторных методик, необходимых для успешной верификации диагноза и дальнейшего лечения.

Цель исследования: оценить роль кишечного микробиома у пациентов с хроническим бактериальным простатитом.

Материалы и методы: в период с 2021 по 2022 год проводилось обследование и лечение пациентов с хроническим простатитом, у которых было выявлено нарушение микробиоты кишечника.

Результаты и их обсуждение: в данном исследовании мы использовали секвенирование гена 16S рРНК для исследования микробиоты кишечника у пациентов с хроническим рецидивирующим бактериальным простатитом. Данное исследование характеризует микробиоту кишечника и показывает, что определенные роды анаэробных бактерий обладают прогностическим потенциалом. Также мы выполнили посев эякулята пациентов для определения роста чужеродной микрофлоры и определения ее чувствительности к антибактериальным препаратам. По данным результатов наших исследований было выявлено, что у пациентов, страдающих хроническим рецидивирующим бактериальным простатитом, нарушено разнообразие микробиоты кишечника, а в посевах эякулята получены микроорганизмы кишечной микрофлоры.

Заключение: Хронический рецидивирующий бактериальный простатит протекает с фазами ремиссий и обострений. Важную роль в развитии частых рецидивов играет нарушение разнообразия микробиоты кишечника. В настоящее время для изучения разнообразия кишечной микробиоты существует технология метагеномного ДНК-секвенирования, с помощью которой возможно узнать, какие микроорганизмы присутствуют в кишечнике и какую патогенетическую роль играют в развитии воспалительных заболеваний предстательной железы. Таким образом, по данным результатов исследования можно разработать алгоритм ведения и лечения пациентов для снижения количества рецидивов хронического бактериального простатита.

Ключевые слова: хронический простатит, микробиом кишечника, инфекция мочевыводящих путей

UDC 616.65-002

STUDYING THE ROLE OF THE INTESTINAL MICROBIOME IN PATIENTS WITH CHRONIC BACTERIAL PROSTATITIS

Yakovets E.A.¹, Shrainer E.V.^{1,2,3}

¹ *Novosibirsk State University, 630090, Novosibirsk region, Novosibirsk city, Pirogov street, 2*

² *PC «Family Health Clinic» (630090, Ak Koptyuga Ave. 13)*

³ *Federal State Budgetary Institution of Science Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICBFM SB RAS) (630090, Novosibirsk, Ak. Lavrentiev Ave., 8)*

Chronic recurrent bacterial prostatitis is currently a very common, understudied and difficult to treat disease. Up to 80% of cases, the disease is detected at the age of 18-50 years, i.e. during the period of greatest working and reproductive activity. Obviously, this problem has not only medical, but also social significance. Therefore, it is required to increase the efficiency of diagnosis and treatment of chronic prostatitis. New risk factors that may influence the development and course of this disease are constantly being discussed. Taking into account the constant development of medical technologies, the algorithms for examining patients are being revised, as well as the expediency of using the latest laboratory techniques necessary for successful verification of the diagnosis and further treatment.

Objective: to evaluate the role of the intestinal microbiome in patients with chronic bacterial prostatitis.

Materials and methods: in the period from 2021 to 2022, patients with chronic prostatitis who had a violation of the intestinal microbiota were examined and treated.

RESULTS: In this study, we used 16S rRNA gene sequencing to study the gut microbiota in patients with chronic relapsing bacterial prostatitis. This study characterizes the gut microbiota and shows that certain genera of anaerobic bacteria have predictive potential. We also performed seeding of patients' ejaculate to determine the growth of alien microflora and determine its sensitivity to antibacterial drugs. According to the results of our studies, it was found that in patients suffering from chronic recurrent bacterial prostatitis, the diversity of the intestinal microbiota was disturbed, and microorganisms of the intestinal microflora were obtained in the sowing of the ejaculate.

Conclusion: Chronic recurrent bacterial prostatitis occurs with phases of remissions and exacerbations. An important role in the development of frequent relapses is played by a violation of the diversity of the intestinal microbiota. Currently, to study the diversity of the intestinal microbiota, there is a technology of metagenomic DNA sequencing, with which it is possible to find out which microorganisms are present in the intestine and what pathogenetic role they play in the development of inflammatory diseases of the prostate gland. Thus, according to the results of the study, it is possible to develop an algorithm for the management and treatment of patients to reduce the number of relapses of chronic bacterial prostatitis.

Keywords: chronic prostatitis, gut microbiome, urinary tract infection.

Введение

Простатит представляет собой группу клинических синдромов, которые были классифицированы Национальным институтом здравоохранения США (NIH) на несколько отдельных состояний, а именно: острый бактериальный простатит (категория I), хронический бактериальный простатит (категория II), хронический простатит/синдром хронической тазовой боли, воспалительный тип (категория IIIA) и невоспалительный тип (категория IIIB), а также бессимптомный воспалительный простатит (категория IV) [1,2]. Хронический бактериальный простатит характеризуется хроническими рецидивирующими урогенитальными симптомами с признаками инфекций предстательной железы, вызванных одним и тем же микроорганизмом, длящихся не менее 3 месяцев [3].

Наиболее частыми этиологическими агентами хронического бактериального простатита являются грамотрицательные палочки. *Escherichia coli* вызывает от 75% до 80% случаев. Другие часто встречающиеся патогены включают виды *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae* (например, *Proteus mirabilis*, виды *Klebsiella*) и неферментирующие грамотрицательные бациллы (например, *Pseudomonas aeruginosa*). Некоторые микроорганизмы, в том числе стафилококки, стрептококки, виды *Corynebacterium*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* и *Neisseria gonorrhoeae*, связаны с хроническим бактериальным простатитом, но независимо от того, представляют ли они истинные патогены или непатогены, которые обнаруживаются в пробы мочи из-за присутствия в мочевой флоре остаются предметом дискуссий. Среди этих организмов стафилококки и стрептококки получили более широкое признание в качестве патогенов. Потенциальная причинная роль видов *Chlamydia* и *gonorrhea* подтверждается исследованиями, которые обнаружили, что инфекции, передающиеся половым путем, вызываемые этими видами, могут инфицировать предстательную железу некоторых мужчин, вызывая повышение уровня простат-специфического антигена [4].

Несовершенная диагностика, неадекватная антибактериальная терапия, иногда самолечение хронического бактериального простатита, повышения уровня устойчивости к противомикробным препаратам и неспособности антибактериальных препаратов полностью элиминировать патогенные и условно-патогенные микроорганизмы способствуют развитию частых рецидивов хронического бактериального простатита с длительным упорным течением и снижением качества жизни мужчин [4].

Для хронического бактериального простатита характерны рецидивирующие/периодические дизурические симптомы (учащенное мочеиспускание, императивные позывы и никтурия, недержание мочи, задержка мочи). Также мужчины могут испытывать боль или дискомфорт в промежности, нижней части живота, яичках, половом члене, иногда сексуальную дисфункцию (дизоргазмию и гематоспермию). Одни и те же микроорганизмы неоднократно выделяются в моче мужчин с хроническим бактериальным простатитом при ее бактериальном исследовании, иногда даже при бессимптомном течении болезни [5].

Существует метод исследования четырёх- или двухстаканной пробы мочи. Этот метод до сих пор считается «золотым стандартом» диагностики инфекции предстательной железы. Четырёхстаканная проба является стандартом диагностики хронического бактериального простатита. Двухстаканная проба до и после массажа предстательной железы является достаточно точным и простым методом скрининга бактерий. Для диагностики хронического бактериального простатита эякулят обладает более высокой чувствительностью по сравнению с секретом предстательной железы. Таким образом, целесообразно проводить посев спермы, что приведет к улучшению диагностики пациентов, страдающих хроническим бактериальным простатитом [6]. Так как

несвоевременная диагностика может привести к таким осложнениям, как доброкачественная гиперплазия предстательной железы, а также рак предстательной железы [7].

Основной причиной возникновения хронического бактериального простатита является *Escherichia coli*, которая сопровождается различными видами других микроорганизмов, таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и виды *Serratia*. У сексуально активных людей следует рассматривать как возможную причину простатита *Neisseria gonorrhoea* и *Chlamydia trachomatis*. Виды *Styptococcus*, *Salmonella* и *Candida* являются возможными причинами у людей с вирусом иммунодефицита человека [8].

Основой патогенеза бактериального простатита является инфильтрация патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в паренхиму предстательной железы. Обычно бактериальный простатит возникает вследствие пиелонефрита, цистита, уретрита, орхоэпидидимита, то есть является вторичным. Первичный бактериальный простатит развивается в следствии прямой инсеминации при хирургическом лечении, либо при биопсии простаты. Инфекция проникает в простату гематогенным или лимфогенным путями. Предполагается, что в патогенезе хронического бактериального простатита участвуют бактерии, образующие биопленки. Эта гипотеза основана на наблюдениях, что бактерии могут сохраняться в предстательной железе в течение длительного периода времени, высокий процент случаев не поддается лечению антибиотиками, и даже при успешном лечении, судя по отрицательным микробиологическим тестам, симптомы могут остаться. Бактериальные биопленки являются условием хронизации воспалительного процесса [9].

Микробиота кишечника человека описывает бактерии, археи, грибы и простейшие. Кишечная микробиота влияет на многие физиологические функции, такие как когнитивные способности, кроветворение, воспаление и обмен веществ. В слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта имеется пять основных типов бактерий: *Bacteroides*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Firmicutes*. Наиболее распространенными анаэробами являются *Bacteroides*, *Eubacteria*, *Bifidobacteria*, *Peptostreptococci*, *Clostridia* и *Ruminococci* [10].

Человек и микробиота кишечника находятся в сложных сбалансированных отношениях, которые носят симбиотический характер. Кишечная микробиота насчитывает от 10^{13} до 10^{14} микроорганизмов, которые играют большую роль в метаболизме гликанов, аминокислот и ксенобиотиков. Состав кишечной микробиоты зависит от различных внешних и внутренних факторов хозяина, таких как колонизация микроорганизмами при рождении, диета, курение, употребление алкоголя и наличие различных заболеваний. Это двунаправленная связь, о чем свидетельствует микробиота, в свою очередь воздействующая на хозяина: кишечные микроорганизмы отвечают за развитие иммунной системы и способствуют дифференцировке регуляторных Т-клеток, которые участвуют в противовоспалительных процессах [10].

Кишечная микробиота связана не только с локальными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, такими как воспалительные заболевания кишечника и колоректальный рак, но также и с системными заболеваниями, такими как заболевания печени или неврологические заболевания. Представители кишечной микробиоты, присутствующие в моче или тканях, находящихся в непосредственном контакте с предстательной железой, влияют на ее местное воспаление, гипертрофию и канцерогенез [11]. Как говорилось выше, основной причиной развития хронического рецидивирующего бактериального простатита является *Escherichia coli*, которая сопровождается различными видами других

микроорганизмов, таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и виды *Serratia*, то есть представителями кишечной микробиоты.

Микробиота кишечника может влиять на развитие воспалительных процессов в предстательной железе, а также на проводимое лечение. Это может происходить как за счет прямого воздействия микроорганизмов, так и за счет косвенных механизмов, включающих иммунную модуляцию, метаболические изменения и прямое повреждение эпителия предстательной железы. Снижение профиля разнообразия кишечной микробиоты может привести к чрезмерному росту патогенных и условно-патогенных бактерий, которые могут проникать в мочевыделительную систему и способствовать воспалению предстательной железы [11].

В настоящее время существует технология метагеномного ДНК-секвенирования, которая позволяет посчитать сотни видов бактерий кишечника, в том числе и некультивируемых. Данный метод является “золотым стандартом” для максимально полного анализа микробиоты кишечника. С помощью метагеномного ДНК-секвенирования можно узнать какие микроорганизмы и в каком процентном соотношении представлены в кишечнике, какие микроорганизмы влияют на здоровье и организм в целом, какую патогенетическую роль играют в развитии различных заболеваний, в том числе воспалительных заболеваний предстательной железы [12].

В последнее десятилетие произошла революция в технологии секвенирования, которая уже позволила понять многие концепции генетики и биологии генома. Исторически сложилось так, что геномное секвенирование использовалось в первую очередь в контексте ДНК опухоли для определения мутаций, таких как *BRCA*, или других соматических мутаций. В дополнение к этому секвенирование следующего поколения (NGS) было продемонстрировано в различных испытаниях фазы I и II, чтобы расширить знания о микробиоме желудочно-кишечного тракта. Этот профильный отчет NGS содержит информацию об обнаруженных комменсальных и патогенных бактериях ЖКТ, бактериальной нагрузке и обнаруженной устойчивости к различным антибиотикам [13].

Это может позволить проводить персонализированное лечение в зависимости от уникального микробного профиля пациента. На более широком уровне геномные данные могут пролить свет на гетерогенность микробных изменений воспалительного процесса, чтобы в конечном итоге получить доказательства между воспалением предстательной железы и микробиотой кишечника. Это может прояснить пути генеза воспаления предстательной железы и изменения этих путей с помощью индивидуально отличимых сигнатур микробиоты [13].

Материалы и методы исследования

В данной работе авторы изучили состояние микробиоты кишечника у пациентов с хроническим рецидивирующим простатитом. В исследовании участвовали 20 пациентов в возрасте от 18 до 45 лет, мужского пола с диагнозом хронический рецидивирующий бактериальный простатит и рецидивирующие инфекции мочевыводящих путей.

Пациентов, для участия в исследовании, отбирали по критериям включения: согласие на участие в исследовании, возможность выполнения протокола исследования и наличие рецидивирующей инфекции мочевыводящих путей, а также по критериям исключения: отказ пациента, обострение хронического бактериального простатита, прием антибактериальных препаратов.

Авторы провели всем пациентам общеклиническое исследование, ультразвуковое исследование предстательной железы, посев эякулята с определением чувствительности к

антибиотикам и изучение разнообразия микробиоты кишечника с помощью метагеномного ДНК-секвенирования гена 16S р-РНК.

Таким образом, у всех обследованных пациентов была ярко выражена клиническая картина хронического бактериального простатита в виде боли в промежности, боли при эякуляции, изменения цвета эякулята, нарушения мочеиспускания, нарушения половой функции (таблица 1). При посеве эякулята обнаружены бактерии кишечной микрофлоры (диаграмма 1). Были выявлены признаки нарушения состава микробиоты кишечника, а именно изменение биоразнообразия по Шеннону, увлечение количества патогенных и условно-патогенных бактерий, уменьшения количества полезных бактерий (таблица 3-8).

Таблица 1. Жалобы

Жалобы	Частота проявления, количество пациентов (%)
Боль в промежности, иррадиирующая в мошонку	80,0 %
Боль при эякуляции	30,0 %
Изменение цвета эякулята	20,0 %
Нарушение мочеиспускания (учащенное или затрудненное мочеиспускание, вялая струя мочи)	70,0 %
Ухудшение половой функции	20,0 %

Диаграмма 1. Частота встречаемости микроорганизмов в эякуляте обследуемых пациентов с хроническим рецидивирующим бактериальным простатитом по результатам бактериологического посева эякулята (%)

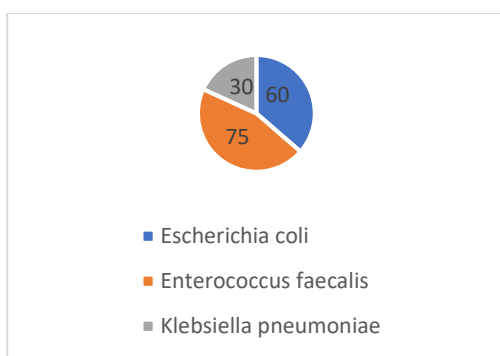


Таблица 3. Индекс биоразнообразия по Шеннону

	Среднее значение в популяции здоровых людей	Результат
Индекс Шеннона	3,1 – 4,2	2,1

Таблица 4. Патогенная нагрузка

	Среднее значение в популяции здоровых людей, %	Результат, %

Escherichia / Shigella	0,002 – 0,10	0,73
Klebsiella	0 – 0,03	0,1
Campylobacter	0 – 0,02	0,91
Enterobacter	0 – 0,02	0,3
Enterococcus	0 – 0,02	0,03
Staphylococcus	0 – 0,02	0,02

Таблица 5. Бутират-продуцирующие бактерии

	Среднее значение в популяции здоровых людей, %	Результат, %
Roseburia	0,5 – 3,5	0,29
Faecalibacterium	6,0 – 15,0	4,32
Coprococcus	0,05 – 3,5	0,03
Anaerostipes	0,1 – 1,0	0,1
Subdoligranulum	0,1 – 0,3	1,2
Butyrivibrio	0,1 – 1,5	0,02
Flavonifactor	0,01 – 0,1	0
Odoribacter	0,01 - 0,08	0,01

Таблица 6. Бактерии, производители ацетата и пропионата

	Среднее значение в популяции здоровых людей, %	Результат, %
Alistipes	0,5 – 3,0	5,1
Bacteroides	9,0 – 30,0	32,9
Dorea	0,2 – 1,0	1,2
Blautia	0,2 – 1,0	0,8
Phascolarctobacterium	0,05 – 3,0	3,1

Таблица 7. Бактерии, продуценты молочной кислоты

	Среднее значение в популяции здоровых людей, %	Результат, %
Bifidobacterium	0,1 – 1,5	0,12

Lactobacillus	<0,02	0,43
Lactococcus	<0,02	0,2

Таблица 8. Сульфат редуцирующие бактерии

	Среднее значение в популяции здоровых людей, %	Результат, %
Bilophila	0 – 0,3	0,92
Desulfovibrio	0 – 0,3	0,64

Заключение

Хронический рецидивирующий бактериальный простатит является актуальной проблемой в современной урологии и андрологии. Данное заболевание протекает с фазами ремиссий и обострений. Важную роль в развитии частых рецидивов играет нарушение разнообразия микробиоты кишечника, а именно увеличение количества патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и их контаминация в ткань предстательной железы.

В настоящее время для изучения разнообразия кишечной микробиоты существует технология метагеномного ДНК-секвенирования, с помощью которой возможно узнать, какие микроорганизмы присутствуют в кишечнике и какую патогенетическую роль играют в развитии воспалительных заболеваний. Кроме того, внедрение метагеномного ДНК-секвенирования приведет к снижению потребления антибиотиков за счет выявления устойчивых к антибактериальным препаратам микроорганизмов, что может привести к предотвращению растущей резистентности бактерий к антибактериальным препаратам [13].

Данное исследование характеризует микробиом эякулята, что определенные роды бактерий обладают прогностическим потенциалом. Результаты нашего исследования свидетельствуют о важном значении бактерий кишечной микрофлоры, присутствующих в эякуляте, как потенциальных прогностических маркеров хронического простатита.

Список литературы:

1. Ибишев Х. С., Коган М. И., Магомедов Р. Г., Крайний П. А. Современный взгляд на патогенетические основы хронического рецидивирующего бактериального простатита // Эффективная фармакотерапия. 2017. № 42. С. 6-10.
2. Feoktistov V. A., Amantaeva M. A., Veisenberg T. V. Features of antibacterial therapy of chronic bacterial ptostatitis on the background of atypical uroinfection. // Евразийский союз ученых. 2021. No 3-2(84). P. 61-63.
3. Su Z. T., Zenilman J. M., Sfanos K. S., Herati A. S. Management of Chronic Bacterial Prostatitis. Current urology reports. 2020. Vol. 21. No. 7. P. 29.
4. 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. The Journal of urology. 2018. Vol. 199. No 1. P. 161–171.
5. Zaidi N., Thomas D., Chughtai B. Management of Chronic Prostatitis. Current urology reports. 2018. Vol. 19. No. 11. P. 88.

6. Сейдуманов М. Т., Абдиев Г. С., Каржаубаев Н. Б. К вопросу о бактериальном простатите // Вестник Казахского национального медицинского университета. 2017. № 3-2. С. 100-102.
7. Vestby L. K., Grønseth T., Simm R., Nesse L. L. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics (Basel)*. 2020. Vol. 9 No.2. P. 59.
8. Sha S., Ni L., Stefil M., Dixon M., Mouraviev V. The human gastrointestinal microbiota and prostate cancer development and treatment. *Investigative and clinical urology*. 2020. Vol. 61. No. 1. P. 43-50.
9. Matsushita M., Fujita K., Motooka D., Hatano K., Fukae S., Kawamura N., Tomiyama E., Hayashi Y., Banno E., Takao T., Takada S., Yachida S., Uemura H., Nakamura S., Nonomura N. The gut microbiota associated with high-Gleason prostate cancer. *Cancer science*. 2021. Vol. 112. No. 8. P. 3125-3135.
10. Church D. L., Cerutti L., Gürtler A., Griener T., Zelazny A., Emler S. Performance and Application of 16S rRNA Gene Cycle Sequencing for Routine Identification of Bacteria in the Clinical Microbiology Laboratory. *Clinical microbiology reviews*. 2020. Vol. 33. No. 4. P. 00053-19.
11. Boers S. A., Jansen R., Hays J. P. Understanding and overcoming the pitfalls and biases of next-generation sequencing (NGS) methods for use in the routine clinical microbiological diagnostic laboratory. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2019. Vol. 38. No. 6. P. 1059-1070.
12. Kulchavenya EV, Brijatuk EV, Kholto bin DP, A CG. Current approach to diagnosis of chronic prostatitis. *Urologiia*. 2021. No. 2. P. 32-39.
13. Khan F. U., Ihsan A. U., Khan H. U., Jana R., Wazir J., Khongorzul P., Waqar M., Zhou X. Comprehensive overview of prostatitis. *Biomed Pharmacother*. 2017. Vol. 94. P. 1064-1076.