

*Азатян А.С.,*

*студент*

*2 курс, Лечебный факультет*

*ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ*

*Россия, г. Москва*

*Гасымов А.Х.,*

*студент*

*3 курс, Лечебный факультет*

*ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ*

*Россия, г. Москва*

*Дмитриев О.В.,*

*студент*

*2 курс, Лечебный факультет*

*ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ*

*Россия, г. Москва*

*Золотцев А.А.,*

*студент*

*2 курс, Лечебный факультет*

*ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ*

*Россия, г. Москва*

## **РОЛЬ МИКРОБИОМА МОЧИ В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

*Аннотация: На протяжении многих лет считалось, что моча обладает свойством стерильности, однако применение микробиологических и молекулярных методов, в том числе, один из самых надежных - секвенирование 16S рибосомальной РНК (16S рРНК), позволило опровергнуть*

парадигму и сформировать представление о наличии микробиома мочи. Микробиом мочи непосредственно связан с рядом урологических заболеваний, включая интерстициальный цистит, ургентное недержание мочи, нейрогенную дисфункцию мочевого пузыря. Также в последнее время были проведены работы по установлению корреляции между физиологической ролью микробиома мочи и уротелиальном канцерогенезе, гендерных различиях в заболеваемости раком мочевого пузыря и реакции на лечение. Этот вопрос интересен тем, что рак мочевого пузыря занимает 10-е место в мире по распространенности, и с уверенностью можно сказать о том, что микробиом мочи может стать биомаркером, который будет полезен для стратификации пациентов, оценки терапевтического подхода, а также в прогнозировании ответа на внутривезикулярную терапию.

**Ключевые слова:** Рак мочевого пузыря, микробиом мочи, цистэктомия, БЦЖ-терапия, ТУР мочевого пузыря.

**Annotation:** For many years, urine was thought to be sterile, but the application of microbiological and molecular techniques, including one of the most reliable, 16S ribosomal RNA (16S rRNA) sequencing, has challenged the paradigm and allowed the concept of a urine microbiome to be established. The urinary microbiome is directly linked to a number of urological diseases including interstitial cystitis, urge urinary incontinence, and neurogenic bladder dysfunction. There has also been recent work on the correlation between the physiological role of the urinary microbiome and urothelial carcinogenesis, gender differences in bladder cancer incidence and response to treatment. This issue is interesting because bladder cancer is the 10th most common cancer worldwide, and it is safe to say that the urinary microbiome could be a biomarker that would be useful in stratifying patients, evaluating the therapeutic approach, and in predicting response to intravesical therapy.

**Keywords:** Bladder cancer, urinary microbiome, cystectomy, BCG therapy, TURBT

## Введение

Рак мочевого пузыря занимает 10-е место среди наиболее распространенных злокачественных новообразований в мире. По оценкам, в 2022 году возникло 81 180 новых случаев и 17 100 смертей [1]. Примерно у 75 % пациентов с раком мочевого пузыря заболевание ограничивается слизистой или подслизистой оболочкой (немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря НМИРМП), а у 25 % - мышечно-инвазивный рак (МИРМП). Пациенты с НМИРМП подразделяются на различные группы риска (низкий, промежуточный, высокий и, в последнее время, наивысший риск) в зависимости от риска рецидива и прогрессирования, который зависит от стадии, степени, количества, размера, наличия карциномы *in situ* и предшествующих рецидивов. При НМИРМП пациентам обычно проводят трансуретральную резекцию опухоли мочевого пузыря (ТУРБТ). Пациентам с повышенным риском рецидива и прогрессирования назначается адъювантная внутрипузырная терапия (химиотерапия или иммунотерапия с помощью *Bacillus Calmette Guerin – BCG*) [2]. Тем не менее, через 5 лет почти у 50 % пациентов в конечном итоге возникает рецидив заболевания, а у 10-30 % может развиваться МИРМП [3].

Как было ранее указано, представление о стерильности мочи сменилось на формирование системы микробиома мочи. Так, основные факторы, прямо или косвенно влияющие на микробиом: пол, инфекции, курение, диета, антибиотикотерапия и многие другие. Хотя в большинстве исследований, описывающих микробиом мочи, основное внимание уделялось бактериям, было также описано присутствие грибков, вирусов и архей. Недавнее исследование показало наличие в моче грибкового сообщества, такого как *Dothiodesmyces*, *Saccharomyces*, *Eurotiomycetes*, *Exobasidiomycetes* и *Microbotryomycetes* [4]. *Candida spp.* была обнаружена в катетеризированных образцах мочи здоровых людей [5]. Вирусное сообщество в мочевыводящих

путях состоит в основном из бактериофагов, хотя описаны и некоторые эукариотические вирусы [6].

Как упоминалось ранее, амплификация и секвенирование гена 16S рРНК позволили описать наличие микробного сообщества мочи у здоровых людей, а также дисбактериоза, связанного с заболеваниями. Как и другая микробиота человека, микробиом мочи может модулировать местные иммунные и воспалительные реакции при различных урологических заболеваниях [7]. Это может оказывать глубокое влияние на течение заболеваний, в основе которых лежит воспаление. Микробиом мочи был связан с рядом урологических заболеваний, включая интерстициальный цистит, ургентное недержание мочи, нейрогенную дисфункцию мочевого пузыря и другие. В последнее время появилось много сообщений о роли микробиома мочи в уротелиальном канцерогенезе, в том числе о гендерных различиях в заболеваемости раком мочевого пузыря.

Взаимосвязь между микроорганизмами и канцерогенезом хорошо изучена для нескольких видов рака, включая *Helicobacter pylori* и рак желудка, вирус папилломы человека и рак шейки матки/полости, вирус Эпштейна Барр с лимфомой Беркитта, кишечную палочку и колоректальный рак и другие [8]. Показано, что общие сдвиги в составе микробиома человека, как качественные, так и количественные, вызывают изменение гомеостаза организма и приводят к канцерогенезу [9].

В силу недостаточного количества лабораторных данных, нет возможности точно определить критерии видового разнообразия микробиоты мочи. На основе крупных наблюдений, можно предположить, что это могут быть микроорганизмы, обитающие в моче, микроорганизмы, прикрепленные к поверхности уротелия или опухоли, создающие биопленку, или внутриклеточные микроорганизмы, или, возможно, взаимодействие между несколькими группами.

Микробиом обычно описывается в терминах альфа-, бета-разнообразия и относительного изобилия. Альфа-разнообразие относится к разнообразию микробных популяций в образце и оценивается с помощью индексов разнообразия Observed, Chao, Shannon, Simpson и Ace. Бета-разнообразие относится к различиям между микробными популяциями в разных образцах и обычно оценивается с помощью показателя несходства Брея-Кертиса в паре с классическим многомерным шкалированием. Относительное дифференциальное множество изменяет соотношения между определенными микробными группами в сообществе, которые могут иметь большее значение для патогенеза рака мочевого пузыря.

В связи с этим мы провели обзор современной литературы, посвященной связи между микробиомом мочи и раком мочевого пузыря, и попытались обобщить и критически оценить имеющиеся на сегодняшний день данные. Мы также описали ограничения текущей литературы и кратко описали будущие направления.

Целью данной статьи является обзор современных исследований, посвященных связи между микробиомом мочи и раком мочевого пузыря как в экспериментальных, так и в клинических ситуациях для установления возможного видового состава и оценки ее корреляции с раком мочевого пузыря.

### **Роль микробиоты в процессах воспаления и малигнизации**

Физиологические процессы, вызываемые микробиотой, влияют на различные ключевые аспекты, включая биодоступность биологически активных веществ (либо путем синтеза, либо путем поглощения), поглощение питательных веществ, развитие иммунной системы и вытеснение патогенов, изменения в которых были связаны с развитием различных заболеваний, включая рак. Хроническое воспаление может быть обусловлено защитными механизмами организма против микробной инфекции или клеточным повреждением в ответ на стрессовые факторы. Однако накопленные данные

свидетельствуют о том, что хроническое воспаление может играть критическую роль в развитии различных злокачественных новообразований, включая рак мочевого пузыря [10]. Микробный дисбиоз (нарушение микробного состава и разнообразия) и изменение численности бактерий, модулирующих воспаление, могут модулировать воспалительное микроокружение в мочевом пузыре, что приводит к возникновению и прогрессированию таких патологий, как рак, а также влияет на возможности лечения рака [11].

Возможные механизмы, связанные с хроническим воспалением во время инициации/прогрессирования рака мочевого пузыря, могут включать устойчивое воспалительное микроокружение мочевого пузыря из-за микробного дисбиоза. Транслокация бактерий может усиливаться из-за изменений в микробиоме и защитных силах хозяина, что приведет к усилению воспаления. Воспаление может поддерживаться и регулироваться патоген-ассоциированными молекулярными паттернами микроорганизмов (PAMPs), которые активируют Toll-подобные рецепторы (TLRs) во многих типах клеток, чтобы в конечном итоге активировать несколько сигнальных путей, связанных с процессом канцерогенеза мочевого пузыря. Эти пути, связанные с воспалением, включают Янус-активируемую киназу (JAK)-STAT3, NF-κB и фосфоинозитид-3 киназу (PI3K)-Akt-маммалиновую мишень рапамицина (mTOR). Кроме того, микробиом может напрямую опосредовать генотоксические эффекты, выделяя различные бактериальные генотоксины. Во время усиления воспалительного процесса реактивные виды кислорода (ROS) и реактивные виды азота, выделяемые воспалительными клетками, а также сероводород (H<sub>2</sub>S) из микробиоты, также могут быть генотоксичными. Кроме того, метаболизм микробиома может влиять на генотоксины, такие как ацетальдегид, пищевые нитрозамины и другие канцерогены, метаболизм гормонов, таких как эстроген и тестостерон, и метаболизм желчных кислот, что в конечном итоге может усилить провоспалительное микроокружение

мочевого пузыря и привести к еще большему повреждению. В итоге канцерогенез сосуществует с генотоксичностью и воспалением [12]. Например, El-Mosalamy и др. пришли к выводу, что инфекция *E. coli* может играть роль в развитии рака мочевого пузыря через активацию пути NF-κB, что приводит к ингибированию апоптоза и усилению воспаления [13]. Далее Guo и др. показали, что уропатогенная кишечная палочка вызывает прогрессирование рака мочевого пузыря, усиливая ангиогенез опухоли мочевого пузыря через экспрессию цитотоксического некротизирующего фактора 1, индуцированного эндотелиальным фактором роста. Этот феномен наблюдался и при других видах рака, не связанных с мочевым пузырем. Например, такие организмы, как *Streptococcus gallolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* и *Fusobacterium nucleatum*, могут участвовать в патогенезе колоректального рака, вызывая воспаление и повреждение ДНК.

#### **Оценка разнообразия микробиоты у здоровых и больных пациентов**

Если оценивать степень биоразнообразия, то в своей работе Hussein et al. не обнаружили значительных изменений в альфа-разнообразии, но зафиксировали явную разницу в бета-разнообразии на уровне рода: в работе есть сообщения о более высокой численности *Actinomyces*, *Achromobacter*, *Brevibacterium* и *Brucella* в образцах мочи пациентов с раком мочевого пузыря/ В исследовании Wu P. et al. отмечали другие уропатогены, которые чаще встречались у пациентов с раком мочевого пузыря, включали *Klebsiella*, *Escherichia-Shigella* и *Pseudomonas*.

С другой стороны, Oresta et al. обнаружили значительно более высокий индекс равномерности альфа-разнообразия у пациентов с раком мочевого пузыря, но не обнаружили значительной разницы в бета-разнообразии. Moynihan et al., а также Vucevic Popovic et al. не обнаружили существенной разницы в альфа- и бета-разнообразии. Таким образом, необходимы либо более обширные оценки в группе, либо можно обратиться непосредственно к

видовому разнообразию. Так, при стратификации в зависимости от типа образца в средней порции мочи больных раком мочевого пузыря чаще встречались *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Actinomyces* а также высокое обилие филаментов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. С другой стороны, *Firmicutes*, *Lactobacillus* и *Veillonella* были выше в средней порции мочи контрольной группы. *Deinosoccus-Thermus* был выше при раке мочевого пузыря в одном исследовании и выше в контроле в другом.

Если рассматривать исследования, в которых использовалась катетеризированная моча, то относительная численность *Veillonella* была выше в группе больных раком мочевого пузыря. С другой стороны, при рассмотрении исследований, в которых использовался анализ образцов тканей, *Lactobacillus* были более многочисленны в контрольных группах [14]

### **Оценка микробиоты уретры**

Как было отмечено, в образцах уретральной и катетеризированной мочи наблюдаются видовые и родовые различия. Так, при изучении различий между образцами мочи, полученными при цистоскопии, и мочой, взятой из мочевого пузыря, было показано, что у мужчин имеются различия в бета-разнообразии, а у женщин - нет, что объясняется большей длиной уретры у мужчин [15]. Oresta et al. исследовали различия между уретральной и катетеризированной мочой для определения микробиома уретры. Например, они обнаружили, что *Fusobacterium* были уникальны для образцов, взятых из уретры. Авторы также предположили, что уретральная моча подвержена загрязнению условно-патогенными микроорганизмами, такими как *Streptococcus*, *Corynebacterium* и *Enterococcus*. Несмотря на то, что уретральная моча остается наиболее удобным способом получения образцов как у пациентов, так и у обычных людей, она подвержена контаминации микробиотой уретры или влагалища.



## **Оценка ткани карциномы мочевого пузыря как среды для микробиоты**

Помимо использования мочи в качестве среды для выделения и изучения микробиома авторы изучали раковую ткань. Liu et al. показали, что ткань рака мочевого пузыря имела значительно меньшее микробное богатство с точки зрения альфа- и бета-разнообразия, а Mansour et al. не обнаружили различий в разнообразии по сравнению с контрольной группой. На уровне родов в двух из этих исследований было отмечено увеличение количества *Lactobacillus* в контрольных группах. В группе больных раком мочевого пузыря было больше представителей многих филогенетически близких групп родов, причем ни одно из исследований не совпадало с другим, что приводит к суждению о несостоятельности использования тканей карциномы как объективного селективного материала для выделения и определения видового распределения.

### **Дискуссия**

Известно, что рак мочевого пузыря оказывает значительное влияние на продолжительность жизни больных, при чем нельзя точно сказать об этиологии канцерогенеза. С другой стороны, можно сказать об ощутимом влиянии микробиоты на малигнизацию эпителия мочевого пузыря. Комменсальные бактерии, обитающие на слизистых оболочках, взаимодействуют с иммунной системой, формируя физиологический защитный барьер [16]. В качестве примера приведем генотоксин колибактин *E. coli*, приводящий к нарушению структуры ДНК при колоректальном раке [17].

Как было указано, микробиота мочи участвует в развитии и регуляции контактов уротелия, тем самым оказывая влияние на поддержание гомеостаза мочевыводящих путей. В качестве ростового и селективного фактора можно указать токсины, образующиеся при курении и накапливающиеся в ходе профессиональной деятельности, подвергаются фильтрации и временно накапливаются в мочевом пузыре, где они оказывают влияние на микрофлору

мочи. Так, Nadler и др. доказали, что у когорты больных, имевших контакт с профессиональным токсическим оборудованием в тканях мочевого пузыря обнаружены бактериальные биопленки с равномерным видовым распределением. Концепция онкогенного потенциала дисбиотических биопленок микробиома была изучена при колоректальном раке. Мы считаем, что эта концепция может быть экстраполирована и на рак мочевого пузыря [18].

Не оставили без внимания и роль бактериальных инфекций урогенитального тракта в развитии рака мочевого пузыря на эпидемиологическом уровне. Однако на данный момент времени полученные данные противоречивы. Одни исследования показывают, что частота рака мочевого пузыря увеличивается при частых инфекциях мочевыводящих путей. Другие работы отмечают снижение риска развития рака мочевого пузыря у женщин при повторных инфекциях [19]. Систематический обзор последних статей не выявил связи между раком мочевого пузыря и инфекциями мочевыводящих путей. Однако взаимосвязанная роль бактерий и рака мочевого пузыря существует уже давно. Так аттенуированная вакцина БЦЖ используется для лечения НМИРМП уже несколько десятилетий, вероятно, вызывая противоопухолевый иммунологический ответ, направленный на уничтожение раковых клеток, хотя точные механизмы остаются малоизученными. Более того, было доказано, что прием пробиотиков снижает вероятность рецидива после радикальной цистэктомии, что подтверждает концепцию влияния микробиологической среды на раковые клетки.

Различия в микробиоме мочи мужчин и женщин могут объяснить разницу в распространенности рака мочевого пузыря. *Lactobacillus* в микробиоме мочеполовой системы женщин, может объяснить неравномерное распространение заболеваемости раком мочевого пузыря за счет уменьшения воспаления, как было предложено ранее [20].

Поэтому отмечается эффект от ферментированных молочных продуктов могут снижать риск развития рака мочевого пузыря, что может быть связано с действием лактобактерий. Было показано, что пробиотики *Lactobacillus* могут снижать частоту рецидивов НМИРМП.

Микробиом мочи формирует местное иммунное микроокружение мочевого пузыря и воздействует на врожденный и адаптивный иммунитет. Реакция на терапию БЦЖ у пациентов с НМБИК различна. Точный механизм действия БЦЖ не до конца изучен. Было предложено несколько механизмов, среди которых связывание БЦЖ и фибронектином с последующей индукцией ответа CD8<sup>+</sup> Т-киллеров и NK-киллеров. Вакцина также может вызывать сшивание между  $\alpha 5\beta 1$  интегринами с последующей остановкой клеточного цикла или генерацией активных форм кислорода. До сих пор неизвестно, как развивается резистентность к БЦЖ. Одно из предположений - влияние микробиома человека на взаимодействие с БЦЖ и уротелием, стимулирующее или блокирующее действие микобактерий БЦЖ. Некоторые бактерии могут связывать фибронектин, ослабляя воспаление слизистой оболочки посредством замедления пути NF- $\kappa$ B, тем самым либо они повышают или снижают эффективность БЦЖ [21]. Микрофлора мочи может регулировать ответ на иммунотерапию БЦЖ за счет конкурентного связывания с клеточными компонентами, такими как фибронектин и интегрин  $\alpha 5\beta 1$ , которые необходимы для работы БЦЖ. Таким образом, специфические комменсальные бактерии могут снижать эффективность БЦЖ и потенциально ослабить сильный цитотоксический ответ, необходимый для уничтожения опухолевых клеток [22]. Например, *Lactobacillus iners*, обнаруженный в микробиоме мочи обладает самым большим сродством к фибронектину. Это позволяет предположить, что *Lactobacillus* может взаимодействовать с БЦЖ, усиливая реакцию на терапию; однако для определения точного механизма, с помощью которого микробиом мочи может оказывать влияние на иммунотерапию БЦЖ, необходимо провести дополнительную работу.

Микробный профиль мочи может быть использован для прогнозирования ответа на внутривезикулярное введение БЦЖ, что поможет в стратификации на группы риска и, следовательно, позволит заблаговременно направлять пациентов, которым маловероятно поможет БЦЖ, на раннюю цистэктомию или, по крайней мере, рассматривать другие варианты лечения. Таким образом, изменяя состав микробиома мочи, например, используя пробиотические средства, можно увеличивать эффективность внутривезикулярного введения БЦЖ. В настоящее время проводится клиническое исследование (SILEMPTIRE) по изучению использования микробных профилей из мочевого пузыря и кала пациентов с НМИБК для прогнозирования ответа на терапию до введения БЦЖ. Sweis и др., характеризуя роль микробиома мочи пациентов с НМИБК, прошедших курс лечения БЦЖ, продемонстрировали, что обилие протеобактерий, таких как гаммапротеобактерии, ассоциируется с рецидивом, в то время как представители семейства Firmicutes, такие как Lactobacillales, были более многочисленны у пациентов без рецидивов. Следовательно, пробиотики могут оказаться благоприятными для лечения рака мочевого пузыря, т.к. исследования показали, что у когорты пациентов, употреблявших кисломолочные продукты и пробиотики, наблюдалось снижение заболеваемости и рецидивов рака мочевого пузыря.

### **Возможные проблемы определения видового разнообразия в микробиоте**

Изучение микробиома мочи затруднено из-за различий в размере выборки, включении пациентов женского пола, оценке разнообразия, методах выделения ДНК, библиотеках секвенирования и биоинформационных анализах. Кроме того, ни в одном из исследований не сообщалось о численности на уровне видов. Профилирование биоразнообразия микробиоты при раке мочевого пузыря все еще находится на начальной стадии. Научному сообществу еще предстоит преодолеть множество препятствий, чтобы лучше выяснить качественную роль микробиома при раке мочевого пузыря, а также

определить количественное содержание видов бактерий, ответственных за канцерогенез. Методы сбора образцов мочи также существенно влияют на изучение микробиома мочи. Образцы мочи могут быть собраны различными методами, включая сбор собранной естественным путём мочи, катетеризацию с помощью прерывистого или постоянного катетера или надлобковую аспирацию из мочевого пузыря. В некоторых исследованиях для анализа использовали образцы мочи, собранные естественным путем, в то время как в других исследованиях использовали катетеризированные образцы или образцы, полученные во время цистоскопии. В части работ изучались ткани на предмет микробного разнообразия. Хотя Mansour B. et al, сообщили, что микробиом мочи может адекватно представлять тканевую микробиоту, характерную для пациентов с раком мочевого пузыря, они обнаружили значительную разницу между тканевой средой и микробиомом катетеризированной мочи у пациентов женского пола, объясняя ее загрязнением флоры половых органов [23]. Oresta et al выявили значительные различия в количестве микроорганизмов при сборе мочи естественным путём и катетеризированной мочи. Авторы предполагают, что моча из среднего русла подвержена контаминации условно-патогенными таксонами, такими как *Streptococcus*, *Corynebacterium* и *Enterococcus*. Эти бактерии не отражают патофизиологию перекрестного взаимодействия между истинным микробиомом мочевого пузыря и выстилающим его уротелием. Еще одним сбивающим фактором, влияющим на микробиом мочи, является возраст. Curtiss и др. оценили микробиом 79 здоровых женщин, чтобы выявить изменения, связанные с возрастом и климактерическим статусом, и отметили более высокую частоту встречаемости *Lactobacillus* в микробиоме мочи пременопаузальных женщин по сравнению с постменопаузальными, и наоборот - *Mobiluncus*. Возможные механизмы такого неравенства могут включать снижение уровня эстрогенов в период менопаузы, что вызывает атрофию вульвовагинальной области, ухудшающую защиту от вторжения

патогенов и способствующую повышению риска развития инфекций мочевыводящих путей. Кроме того, неполное опорожнение мочевого пузыря после мочеиспускания также может повышать риск рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей, поскольку остаточная моча и сниженный поток мочи в отсутствие эстрогенов нарушают механическое очищение от бактерий, тем самым вызывая колонизацию мочевого пузыря патогенными микроорганизмами [24]. Такой механизм может объяснить обилие таких родов, как *Jonquetella*, *Parvimonas*, *Proteiniphilum* и *Saccharofermentans*, которые встречаются исключительно в микробиоме мочи пожилых людей [25]. Ито и др. показали, что штаммы уропатогенной кишечной палочки могут вторгаться в клетки уротелия, вызывая перераспределение актиновых микрофиламентов и развитие стручкообразных включений или биопленки, что может быть связано с рецидивирующими инфекциями мочевыводящих путей. До сих пор не ясно, как взаимодействие микробиома мочи с биопленками может отразиться на развитии рака мочевого пузыря. Помимо возраста, немодифицируемые факторы как пол и генетика могут оказывать влияние на врожденные иммунные реакции человека, что, в свою очередь, определяет тип бактериальной колонизации.

Во всех исследованиях для анализа использовалась амплификация с помощью секвенирования 16S рРНК, при этом субрегионы амплификации значительно различались. В большинстве исследований амплифицировались V3 и V4 или комбинация этих двух субрегионов. Исследования отличались разнообразием секвенирования и используемых технологий, в частности, в большинстве исследований использовались платформы секвенирования MISeq и HISeq, а также технологии QIIME и UPARSE. Кроме того, различались референсные базы данных (SILVA, Greengenes). Что касается оценки разнообразия, то для альфа-разнообразия использовались различные индексы разнообразия (ACE, Shannon, Simpson, Chao1), в то время как бета-разнообразие оценивалось в меньшем количестве исследований, а оценки

включали компонентный и координатный анализ, а также расстояния UniFrac среди исследований, посвященных различным методам сбора мочи. Это может отчасти объяснить широкий разброс таксонов, описанных в разных исследованиях.

Еще одно препятствие, о котором стоит упомянуть, — это вопрос о лучших контрольных пациентах. Имеющиеся данные не дают четкого представления о том, какие образцы являются идеальными контролями для сравнения. В некоторых исследованиях в качестве контроля использовалась нормальная слизистая оболочка мочевого пузыря от известных пациентов с раком мочевого пузыря. Такой подход может быть не идеальным по нескольким причинам. Во-первых, рак мочевого пузыря может быть мультифокальным, и поэтому аномалии слизистой оболочки могут присутствовать в нескольких областях мочевого пузыря даже без видимой опухоли. Во-вторых, в литературе по колоректальному раку было показано, что масштабы аномального микробиома выходят за пределы области, где находится рак. Даже при использовании контролей без рака ЖКТ существует ряд ограничений. Существует множество переменных, которые могут изменить микросреду мочевого пузыря; микробиом контрольных групп может быть нарушен под действием тех или иных факторов. Например, предыдущий прием антибиотиков способен внести в него значительные изменения, также как глюкозурия, другие факторы: пол, возраст, прием пробиотиков и т. д. Еще одним важным моментом является то, что микробиом может меняться с течением времени и под воздействием привычек человека (таких как алкоголизм, курение, определенные предпочтения в отношении источника питьевой воды и т. д.). Таким образом, одномоментная оценка микробиома может не отражать всего спектра, то есть необходимо проведение как минимум нескольких анализов. Таким образом, данные различных исследований остаются противоречивыми, а потенциальная роль

уропатогенов в развитии рака мочевого пузыря до сих пор недостаточно хорошо изучена.

### **Возможные решения по установлению микробиоты и перспективы ее моделирования**

Потенциальная польза микробиома мочи при раке мочевого пузыря многогранна. Микробиомы могут модулировать реакцию БЦЖ при НМИРМП, усиливая иммунный ответ БЦЖ или ослабляя его. В недавнем исследовании первой фазы ниволумаб/ипилилумаб при метастатическом РМП были добавлены микроорганизмы для повышения эффективности [26]. Еще одна возможность - стратифицировать пациентов для выбора оптимального терапевтического пути после резекции первичной опухоли, при этом микробиом опухоли будет являться индикатором химиочувствительности или чувствительности к иммунотерапии.

Будущие исследования также должны быть направлены на оценку состава микробиоты и ее влияния, которые в значительной степени ассоциируются с рецидивом и отсутствием рецидива после БЦЖ-терапии НМИРМП. Необходимо тщательно изучить иммунологию тех микробиот, которые ассоциируются с отсутствием рецидива после лечения, чтобы расшифровать, протестировать и, наконец, использовать механизмы повторной активации или модуляции противоопухолевого иммунитета для контроля и лечения опухоли мочевого пузыря. Эта стратегия была бы идеальной для выявления механизмов борьбы с раком мочевого пузыря с помощью микробиома мочи.

Микробиом, вероятно, модулирует иммунную систему организма и противоопухолевые свойства, которые могут влиять на прогрессирование и опухолеобразование рака мочевого пузыря. Поэтому микробиом можно использовать в качестве биомаркера, а также для лечения рака мочевого пузыря на разных стадиях заболевания. Более того, в связи со сложностью и неоднородностью полученных микробных данных в литературе требуется



единая методология отбора образцов, а также обработка и вычислительные методы для включения клинических, биологических и микробиологических переменных.

Также крайне важно изучить другие компоненты микробиома мочи, включая грибы и вирусы. Еще один критический момент - представляют ли изолированные таксоны от пациентов с раком мочевого пузыря реальные таксоны, связанные с раком мочевого пузыря, или же исчезновение защитных таксонов связано с началом заболевания? Взаимодействие с другими компонентами иммунной системы может добавить еще один уровень сложности к изучению микробиома мочи.

### Список использованной литературы

[1] Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71:209–249. doi: 10.3322/caac.21660.

[2] Cambier S., Sylvester R.J., Collette L., Gontero P., Brausi M.A., van Andel G., Kirkels W.J., Silva F.C., Oosterlinck W., Prescott S., et al. EORTC Nomograms and Risk Groups for Predicting Recurrence, Progression, and Disease-specific and Overall Survival in Non-Muscle-invasive Stage Ta-T1 Urothelial Bladder Cancer Patients Treated with 1-3 Years of Maintenance Bacillus Calmette-Guerin. *Eur. Urol.* 2016;69:60–69. doi: 10.1016/j.eururo.2015.06.045.

[3] Schrier B.P., Hollander M.P., van Rhijn B.W.G., Kiemeney L.A.L.M., Alfred Witjes J. Prognosis of Muscle-Invasive Bladder Cancer: Difference between Primary and Progressive Tumours and Implications for Therapy. *Eur. Urol.* 2004;45:292–296. doi: 10.1016/j.eururo.2003.10.006.

[4] Brubaker L., Wolfe A. The urinary microbiota: A paradigm shift for bladder disorders? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2016;28:407–412. doi: 10.1097/GCO.0000000000000298.

[5] Ackerman A.L., Underhill D.M. The mycobiome of the human urinary tract: Potential roles for fungi in urology. *Ann. Transl. Med.* 2017;5:31. doi: 10.21037/atm.2016.12.69.

[6] Santiago-Rodriguez T.M., Ly M., Bonilla N., Pride D.T. The human urine virome in association with urinary tract infections. *Front. Microbiol.* 2015;6:14. doi: 10.3389/fmicb.2015.00014.

[7] Jones-Freeman B., Chonwerawong M., Marcelino V.R., Deshpande A.V., Forster S.C., Starkey M.R. The microbiome and host mucosal interactions in urinary tract diseases. *Mucosal Immunol.* 2021;14:779–792. doi: 10.1038/s41385-020-00372-5.

[8] Moore P.S., Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat. Rev. Cancer.* 2010;10:878–889. doi: 10.1038/nrc2961.

[9] Bonnet M., Buc E., Sauvanet P., Darcha C., Dubois D., Pereira B., Déchelotte P., Bonnet R., Pezet D., Darfeuille-Michaud A. Colonization of the human gut by *E. coli* and colorectal cancer risk. *Clin. Cancer Res.* 2014;20:859–867. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1343.

[10] Gakis G. The role of inflammation in bladder cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014;816:183–196. doi: 10.1007/978-3-0348-0837-8\_8.

[11] Sadrekarimi H., Gardanova Z.R., Bakhshesh M., Ebrahimzadeh F., Yaseri A.F., Thangavelu L., Hasanpoor Z., Zadeh F.A., Kahrizi M.S. Emerging role of human microbiome in cancer development and response to therapy: Special focus on intestinal microflora. *J. Transl. Med.* 2022;20:301. doi: 10.1186/s12967-022-03492-7.

[12] Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: Back to Virchow? *Lancet.* 2001;357:539–545. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0.

[13] El-Mosalamy H., Salman T.M., Ashmawey A.M., Osama N. Role of chronic *E. coli* infection in the process of bladder cancer- an experimental study. *Infect. Agents Cancer*. 2012;7:19. doi: 10.1186/1750-9378-7-19.

[14] Hussein A.A., Elsayed A.S., Durrani M., Jing Z., Iqbal U., Gomez E.C., Singh P.K., Liu S., Smith G., Tang L., et al. Investigating the association between the urinary microbiome and bladder cancer: An exploratory study. *Urol. Oncol*. 2021;39:370.e9–370.e19. doi: 10.1016/j.urolonc.2020.12.011.

[15] Hourigan S.K., Zhu W., Wong W.S.W., Clemency N.C., Provenzano M., Vilboux T., Niederhuber J.E., Deeken J., Chung S., McDaniel-Wiley K., et al. Studying the urine microbiome in superficial bladder cancer: Samples obtained by midstream voiding versus cystoscopy. *BMC Urol*. 2020;20:5. doi: 10.1186/s12894-020-0576-z.

[16] Nadler N., Kvich L., Bjarnsholt T., Jensen J.B., Gögenur I., Azawi N. The discovery of bacterial biofilm in patients with muscle invasive bladder cancer. *APMIS*. 2021;129:265–270. doi: 10.1111/apm.13097.

[17] Garrett W.S. Cancer and the microbiota. *Science*. 2015;348:80–86. doi: 10.1126/science.aaa4972.

[18] Dejea C.M., Wick E.C., Hechenbleikner E.M., White J.R., Mark Welch J.L., Rossetti B.J., Peterson S.N., Snesrud E.C., Borisy G.G., Lazarev M., et al. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014;111:18321–18326. doi: 10.1073/pnas.1406199111.

[19] Jiang X., Castelao J.E., Groshen S., Cortessis V.K., Shibata D., Conti D.V., Yuan J.M., Pike M.C., Gago-Dominguez M. Urinary tract infections and reduced risk of bladder cancer in Los Angeles. *Br. J. Cancer*. 2009;100:834–839. doi: 10.1038/sj.bjc.6604889.

[20] Ohashi Y., Nakai S., Tsukamoto T., Masumori N., Akaza H., Miyanaga N., Kitamura T., Kawabe K., Kotake T., Kuroda M., et al. Habitual intake of lactic acid bacteria and risk reduction of bladder cancer. *Urol. Int*. 2002;68:273–280. doi: 10.1159/000058450.

[21] Whiteside S.A., Razvi H., Dave S., Reid G., Burton J.P. The microbiome of the urinary tract--a role beyond infection. *Nat. Rev. Urol.* 2015;12:81–90. doi: 10.1038/nrurol.2014.361.

[22] Seow S.W., Rahmat J.N., Mohamed A.A., Mahendran R., Lee Y.K., Bay B.H. Lactobacillus species is more cytotoxic to human bladder cancer cells than Mycobacterium Bovis (bacillus Calmette-Guerin) *J. Urol.* 2002;168:2236–2239. doi: 10.1016/S0022-5347(05)64362-5.

[23] Mansour B., Monyók Á., Makra N., Gajdács M., Vadnay I., Ligeti B., Juhász J., Szabó D., Ostorházi E. Bladder cancer-related microbiota: Examining differences in urine and tissue samples. *Sci. Rep.* 2020;10:11042. doi: 10.1038/s41598-020-67443-2.

[24] Luthje P., Hirschberg A.L., Brauner A. Estrogenic action on innate defense mechanisms in the urinary tract. *Maturitas.* 2014;77:32–36. doi: 10.1016/j.maturitas.2013.10.018.

[25] Lewis D.A., Brown R., Williams J., White P., Jacobson S.K., Marchesi J.R., Drake M.J. The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013;3:41. doi: 10.3389/fcimb.2013.00041.

[26] Dizman N., Meza L., Bergerot P., Alcantara M., Dorff T., Lyou Y., Frankel P., Cui Y., Mira V., Llamas M., et al. Nivolumab plus ipilimumab with or without live bacterial supplementation in metastatic renal cell carcinoma: A randomized phase 1 trial. *Nat. Med.* 2022;28:704–712. doi: 10.1038/s41591-022-01694-6.