

Wprowadzenie

Radioterapia w obszarze miednicy wiąże się z występowaniem wczesnych i późnych powikłań ze strony pęcherza moczowego, takie jak częste, utrudnione lub bolesne oddawanie moczu, nietrzymanie moczu, częste oddawanie moczu w nocy, a nawet występowanie krwi w moczu, które znacząco mogą pogorszyć jakość życia pacjentów. Znane są radiobiologiczne mechanizmy powikłań, ale niewiele jest wiadomo na temat wpływu flory bakteryjnej układu moczowego na skutki uboczne po radioterapii. Ich rola w powstawaniu powikłań może być istotna, tak jak w przypadku przewodu pokarmowego, gdzie ostatnie badania sugerują, że obserwowane zmiany mikroflory są ważne zarówno w rozwoju jak i zapobieganiu powikłaniom ze strony przewodu pokarmowego po radioterapii. Do niedawna każdy wzrost bakterii wyhodowanych z moczu był uważany za inwazyjny. Nowe spojrzenie na kwestię składu i znaczenia mikrobiomu w moczu może przynieść zastosowanie zyskującej na popularności metody identyfikacji mikroorganizmów spektrometrii masowej MALDI TOF MS. Technika ta umożliwi szybką i precyzyjną identyfikację mikroorganizmów, chociaż wciąż brakuje prac na temat wykorzystania tej techniki w obrazowaniu mikrobiomu ludzkiego układu moczowego, zwłaszcza badań opisujących znaczenie mikrobiomu moczu na zmiany wywołane promieniowaniem.

Cel

Celem badania jest opracowanie technik MALDI/NALDITOF MS do spersonalizowanej diagnostyki medycznej, z największym naciskiem na opracowanie nowych protokołów przygotowania próbek do identyfikacji bakterii w moczu, a także badanie zakażeń, ich dynamiki i przebiegu u pacjentów napromienianych z powodu raka gruczołu krokowego. Szczególną uwagę należy zwrócić na zależność pomiędzy składem flory bakteryjnej, a powikłaniami po radioterapii. Dlatego planujemy monitorować florę bakteryjną w moczu pobieranym od pacjentów przed rozpoczęciem radioterapii i po radioterapii. Chcielibyśmy ustalić, czy istnieje związek między występowaniem skutków ubocznych promieniowania, a rodzajem flory przed leczeniem i jej zmianami u pacjentów napromieniowanych na obszar miednicy.

Materiały i metody

Do badania włączyć będą mężczyźni pierwotnie lub pooperacyjnie radykalnie napromieniani z powodu raka gruczołu krokowego. Planowanie leczenia i leczenie zostanie przeprowadzone w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowym Instytucie Badawczym, Oddział w Gliwicach zgodnie z obowiązującym protokołem. Kliniczne skutki uboczne radioterapii będą ocenione przy użyciu następujących kwestionariuszy QLQ 30, QLQ-PR25, EORTC/RTOG. Dwie próbki moczu i krew zostaną pobrane do badania przed implantacją złotego znacznika (znacznik jest wszczepiany do gruczołu krokowego w celu precyzyjnego napromieniania), w dniu rozpoczęcia radioterapii i ostatniego dnia radioterapii oraz podczas kontroli 1, 4 miesiące po radioterapii. Krew zostanie wykorzystana do badań laboratoryjnych, jedna próbka moczu zostanie wykorzystana do badania ogólnego i posiewu moczu, które są rutynowo przeprowadzane podczas radioterapii. Druga próbka moczu zostanie wysłana do Interdyscyplinarnego Centrum Nowoczesnych Technologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w celu przeprowadzenia identyfikacji mikroorganizmów w próbkach moczu pacjentów z wykorzystaniem MALDI/NALDITOF MS. Aby porównać i ocenić dokładność przeprowadzonej identyfikacji MALDI, wyizolowane bakterie zostaną również zidentyfikowane i przeanalizowane za pomocą referencyjnych testów biochemicznych za pomocą zautomatyzowanego systemu BD Phoenix M50™. Klasyfikacja wykrytych gatunków bakterii zostanie udowodniona przy użyciu sekwencjonowania 16S rDNA. Ocena obejmie udział poszczególnych grup mikroorganizmów na poziomie klasy, rzędu, rodziny, rodzaju i gatunku w zależności od pacjenta, oraz zmiany udziału poszczególnych grup mikroorganizmów pod wpływem radioterapii. Ponadto przeprowadzone zostanie porównanie wyników identyfikacji mikroorganizmów uzyskanych za pomocą różnych technik analizy składu mikrobiologicznego próbek i oceny ich przydatności w pracy klinicznej, a także wybór optymalnych warunków izolacji i hodowli mikroorganizmów występujących w drogach moczowych. W badaniach planuje się wykonać różne rodzaje analiz w tym zostanie wykorzystana wielowymiarowa analiza statystyczna w celu zbadania zmienności składu bakteryjnego pomiędzy pacjentami, a także zmian w czasie przeprowadzanej radioterapii.

Spodziewane korzyści lecznicze i poznawcze

Oznaczanie mikroflory z zebranego moczu za pomocą testów molekularnych i spektrometrycznych i powiązanie jej z występowaniem reakcji ze strony dróg moczowych może pozwolić na wybór pacjentów, u których istnieje większe prawdopodobieństwo wystąpienia powikłań po radioterapii. Ta grupa pacjentów powinna być dokładniej monitorowana podczas radiotherapii aby odpowiednio wcześniej rozpocząć leczenie. W przyszłości uzyskane informacje mogą umożliwić ocenę zastosowania prebiotyków i probiotyków w tej grupie pacjentów w celu przywrócenia korzystnej flory bakteryjnej przed leczeniem promieniami co może pomóc w zmniejszeniu ubocznych skutków radioterapii a zarazem poprawić komfort życia. Jeśli uda nam się wybrać tych pacjentów za pomocą testów molekularnych, zamierzamy skorelować wyniki z rutynowo wykonywanymi testami (badanie ogólne i posiew moczu) w celu ustalenia potencjalnych parametrów, które mogą pomóc w identyfikacji wysokiego ryzyka wystąpienia powikłań u pacjentów.