

В.Ф. Чехун¹
Н.Ю. Лук'янова¹
Ю.В. Швець²

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології

ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна

²ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Ключові слова: мікробіота, пухлинні захворювання, хіміотерапія, імунотерапія, взаємодія мікробіоти та пухлини.

ВПЛИВ МІКРОБІОТИ НА РОЗВИТОК ПУХЛИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛЮДИНИ

Упредставленому огляді проаналізовано та узагальнено сучасні наукові дані щодо ключових механізмів, за якими мікробіота бактеріального походження впливає на пухлинний процес та ефективність протипухлинної терапії. Сучасні технології досліджень геному дозволили реалізувати науковий проєкт Human Microbiome Project (2008–2013). Завдяки цьому проєкту було отримано уточнені дані щодо кількості та різноманіття складу мікробіоти організму людини. Також стало відомо, що ряд захворювань людини, включаючи запальні стани кишечника, метаболічні, алергічні та аутоімунні хвороби, серцево-судинні захворювання, нейродегенеративні хвороби та психічні розлади, а також онкологічні процеси, асоційовані з певним видовим складом мікробіоти кишечника. Наведено сучасні дані щодо механізмів, за якими бактерії певних видів сприяють утворенню чи гальмують розвиток пухлин людини та експериментальних тварин. Крім того, доведено, що метаболічна активність мікробіоти впливає на ефективність хіміо-, радіо- та імунотерапії при злоякісному рості. Оцінка стану мікробіоти надає важливу інформацію щодо прогнозування агресивності перебігу пухлинного процесу та чутливості пухлини до терапії. Оскільки дієта є ключовим фактором впливу на склад та функції мікробіоти, розробка індивідуальних програм дієтичного харчування онкологічних хворих є одним з пріоритетних напрямків сучасних клінічних спостережень.

Спалах інфекції COVID-19 вкотре продемонстрував людству, наскільки важливу роль відіграють мікроорганізми в житті кожної людини і суспільства в цілому. Ще Антоні ван Левенгук у XVII–XVIII ст. вперше дослідив, що організм людини є своєрідною екосистемою, заселеною безліччю різноманітних «анімаль-кульок». Проте реальну кількість і різноманіття бактерій — представників мікробіоти організму людини, було важко оцінити протягом тривалого часу. У 2008 р. за ініціативи Національних інститутів охорони здоров'я (National Institutes of Health — NIH), США, було започатковано дослідницький проєкт Human Microbiome Project (HMP) з метою визначення кількісного і якісного складу мікробіоти організму людини. Цей проєкт тривав 6 років, у ньому брали участь десятки наукових мікробіологічних лабораторій і сотні вчених. Основною його метою було дослідити нормофлору здорової людини «західної популяції». Для дослідження відібрано до 300 добровольців віком 18–40 років з відсутністю серйозних захворювань. Досліджували мікробіоту 5 основних біотопів: ротової порожнини, носових ходів, шкіри, кишечника та уrogenітального тракту [1, 2].

У зазначеному проєкті, окрім традиційних підходів мікробіологічних досліджень, було використано сучасні генетичні технології, що базуються на визначенні послідовностей гена *16sRNA* та секвенуванні геному всіх бактерій загалом (метагеномний підхід) [3, 4].

Ген *16sRNA* наявний в усіх бактеріях та археях і має 9 високоваріабельних ділянок (VI–V9), що дозволяє відрізнити різні таксономічні групи мікроорганізмів.

Завдяки HMP було визначено, що різноманіття всіх бактерій в організмі людини налічує приблизно 2200 (а точніше, за даними на сьогодні, — 2172) видів, які загалом належать до 12 різних філумів. Найбільше представлені 5 основних філумів бактерій: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria та Fusobacteria (рис. 1) [3, 5].

Найбільш різноманітним за складом бактерій біотопом є ротова порожнина. Тільки у складі зубної бляшки нараховують приблизно 1000 видів бактерій. Найбільш густонаселений біотоп — товстий кишечник, проте різноманіття бактерій тут значно менше, ніж у ротовій порожнині, оскільки умови проживання більш одноманітні, жорстко анаеробні. Загалом за кількістю в організмі людини переважають анаероби. Досліджено, що співвідношення клітин бактерій до еукаріотичних клітин організму людини становить 1,3:1. Отже, загальна кількість бактерій в організмі людини не набагато більша, ніж кількість власних клітин [6]. Мікробіота становить приблизно 1–3% маси тіла людини.

Необхідно розуміти, що протягом мільйонів років коеволюції бактерії мікробіоти максимально пристосувалися до життя в організмі людини, а організм, у свою чергу, пристосовувався до мікробіоти. У цьому сенсі необхідно визнати, що представни-

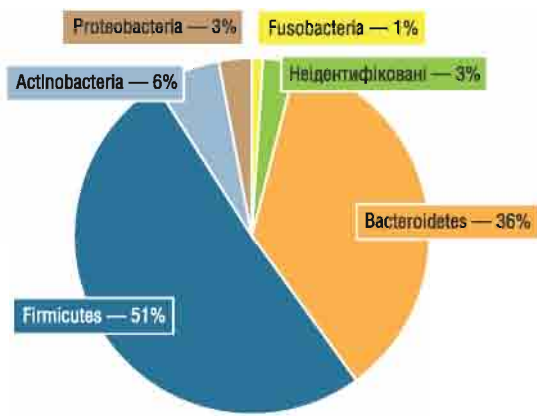


Рис. 1. Таксономічний розподіл представників мікробіоти організму людини

ки видів багатоклітинних організмів еволюціонують як цілі екосистеми, заселені мікроорганізмами. Так, було запропоновано термін «голобіонт», що визначає макроорганізм з усіма мікроорганізмами, що його населяють.

Мікробіота організму людини, особливо мікробіота кишечника, чинить суттєвий вплив на кілька ключових фізіологічних функцій і систем, які регулюють гомеостаз макроорганізму: імунну, нервову та систему метаболізму. Ці ефекти реалізуються через прямі міжклітинні контакти та за рахунок утворення метаболітів, які прямо продукуються бактеріями, або бактерії їх утворюють з макромолекул мікрооточення. Виявлено приблизно 300 таких метаболітів, багато з яких мають ефект сигнальних молекул, що діють локально та на відстані, впливаючи на різні фізіологічні процеси макроорганізму. 50% усіх метаболітів плазми крові людини мають бактеріальне походження. Саме через це мікробіоту кишечника називають окремим ендокринним органом. Тому будь-яке порушення нормальної взаємодії між мікробіотою та організмом людини асоційоване з певними патологічними станами.

Сучасні дослідження ще більше розширили список захворювань, додавши до нього нейродегенеративні хвороби та психічні розлади [7–11]. Зараз активно досліджується зв'язок між мікробіотою і розвитком онкологічних захворювань людини. У ході вивчення цього питання вчені головним чином фокусуються на дослідженні мікробіоти кишечника та ротової порожнини, які є найбільш численними і різноманітними та чинять суттєвий вплив на весь організм в цілому. Також досліджують безпосереднє мікрооточення пухлини, яке в більшості випадків містить мікроорганізми. Останнім часом стало відомо, що пухлини людини у своєму мікрооточенні містять цілі асоціації бактерій певних видів. Ці асоціації за своїм складом відрізняються від таких у здоровій тканині і здійснюють безпосередній вплив на канцерогенез. Наприклад, показано, що пухлинні захворювання ротової порожнини, легені, кишечника, вагіни людини асоційовані з мікробіоценозами відповідних органів [12, 13].

Мікробіота кишечника людини реагує на хіміо-, радіо-, гормональну та імунотерапію і змінюється під час/після лікування. Ці зміни можуть підсилити чи ослаблювати ефект проведеної терапії. Взаємодія між пухлиною і мікробіотою є складною, багатофакторною і обопільною. Пухлинний процес, який прогресує, впливає на мікробіоту, адже розвиток пухлини відбувається на фоні імуносупресії та загальних змін метаболізму організму людини. Крім того, ріст пухлини супроводжується інвазією та метастазуванням, що також може призводити до інвазії бактерій, які містяться у тканині пухлини. На сьогодні ще точно не відомо, що відбувається раніше: пухлинний процес і асоційовані з ним зміни мікробіоти, чи, навпаки, зміни мікробіоти індукують розвиток пухлин.

ВЛАСТИВОСТІ МІКРОБІОТИ ЩОДО ІНДУКЦІЇ ПУХЛИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛЮДИНИ

Отримано багато доказів, що умовно-патогенні представники нормофлори спричиняють розвиток пухлинних захворювань людини (таблиця) [13, 14]. У 1994 р. вперше Міжнародним агентством з дослідження раку (International Agency for Research on Cancer — IARC) було визнано, що *Helicobacter pylori* індукує розвиток гастриту та раку шлунку [15, 16]. Далі було показано, що *Chlamydia trachomatis* та *Neisseria gonorrhoeae* асоційовані з пухлинами уrogenітальної системи, інфікування *Chlamydia pneumoniae* та *Mycobacterium tuberculosis* пов'язане з пухлинами дихальних шляхів, а асоціація бактерій *H. pylori*, *Campylobacter jejuni* та *Chlamydia psittaci* сприяє розвитку лімфоми маргінальної зони селезінки [17].

Дія мікробіоти щодо індукування розвитку пухлин може бути прямою чи опосередкованою. Прямий механізм дії реалізується за рахунок безпосереднього впливу самих бактерій чи їх екзопродуктів на клітини епітелію слизових оболонок. До речі, пряма дія екзопродуктів бактерій може бути локальною чи системною. Локальний вплив реалізується безпосередньо в ділянці контакту бактерії зі слизовою оболонкою. Системна дія зумовлена активністю таких метаболітів нормофлори, що всмоктуються у кров і діють на відстані. Опосередкований механізм дії мікробіоти залучає також активність імунної системи. Бактерії ініціюють розвиток хронічного запалення, що є передумовою канцерогенезу. Аналізуючи властивості мікробіоти щодо індукції розвитку пухлин, C.S. Plottel та M.J. Blaser [16] описали три типи впливу: А, В та С (рис. 2).

До прямих механізмів (типу В) відносять порушення бактеріями ДНК та зміни сигнальних шляхів при пошкодженні ДНК (DNA Damage Response — DDR), а також сигнальних каскадів, що забезпечують такі фундаментальні фізіологічні функції клітини, як проліферація, диференціювання та апоптоз.

Певні штами представника нормофлори тонкого і товстого кишечника *Escherichia coli* продукують

Асоціація певних видів бактерій з пухлинними захворюваннями людини [13]

Тип пухлини	Асоційовані види бактерій	Механізм дії	
		прямий	непрямий
Аденокарцинома шлунка	<i>Helicobacter pylori</i>	Пошкодження ДНК, індуковане дією цитотоксинів (VacA чи CagA) – активація MAPK-сигнальних шляхів, активація β-катеніну, порушення p53	Розвиток хронічного запалення, утворення активних форм кисню (reactive oxygen species – ROS), імуносупресія
Рак підшлункової залози	<i>Helicobacter pylori</i>	Не досліджений	Гіпохлоргідрія, надмірний ріст бактерій, транспорт N-нітрозамінів у кровотік
Рак підшлункової залози	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Не досліджений	Запалення, зумовлене хронічним інфекційним процесом
Рак жовчного міхура	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi	Залежна від T3SS активація PI3K – AKT та MAPK сигналіну, епігенетичні зміни, AvrA-залежна активація β-катеніну	Запалення, зумовлене хронічним інфекційним процесом
Рак товстого кишечника	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Опосередкована залученням β-катеніну активація запалення та мітозу	Імуномодулювання
Рак товстого кишечника	Enterotoxigenic <i>Bacteroides fragilis</i>	Активація β-катеніну та сигналізації з залученням MAPK	Продукція ROS та реактивних форм азоту (reactive nitrogen species – RNS), які спричиняють пошкодження ДНК
Рак товстого кишечника	<i>Enterococcus faecalis</i>	Не досліджений	Продукція ROS, дія активованих макрофагів
Аденокарцинома легенів, дрібно-клітинна карцинома легенів	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Не досліджений	Не досліджений
Аденокарцинома лененів	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Не досліджений	Не досліджений
Карцинома шийки матки	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Порушення p53, модифікація клітинного метаболізму, активація MAPK-залежної сигналізації	Хронічне запалення, дія ROS
Рак яєчника	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Не досліджений	Запалення, зумовлене хронічним інфекційним процесом
Рак простати	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Зниження рівня p53, пошкодження ДНК	Не досліджений
Шкірні прояви лімфоми маргінальної зони	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Не досліджений	Неконтрольована імунна реакція
Карцинома стравоходу	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Гальмування апоптозу, маніпулювання циклінами та циклін-залежними кіназами	Запалення, зумовлене хронічним інфекційним процесом

токсин колібактин (colibactin), який індукує пошкодження ДНК клітин організму хазяїна. Дія цього токсину призводить до розвитку у клітинах епітелію кишечника генетичної нестабільності та підвищеного рівня мутацій.

Інший цитолетальний токсин (Cytolethal Distending Toxin – CDT) продукують бактерії філуму Proteobacteria, що належать до видів *E. coli*, *Campilobacter jejuni*, *Helicobacter hepaticus*, *Shigella dysenteriae* та *Salmonella* Typhi. Цей токсин шляхом ретроградного транспорту через апарат Гольджі, ендоплазматичний ретикулум переноситься у ци-

тозоль і в ядро клітин, де він спричиняє подвійно-ниткові пошкодження ДНК (Double Strand Breaks). Цікаво, що одна із субодиниць токсину, CDT – В, структурно та функціонально подібна до ДНКаз I ссавців. Активність цього токсину призводить до зупинки клітинного циклу у G1-S-фазі у клітинах епітелію та ендотелію, у G1-S та G2-M-фазах у фібробластах та апоптозу в гематопоетичних клітинах. Отже, еволюційне значення цього токсину полягає у пошкодженні в першу чергу імунних клітин. Проте порушення ДНК в клітинах епітелію можуть далі призводити до їх злоякісної трансформації. Крім

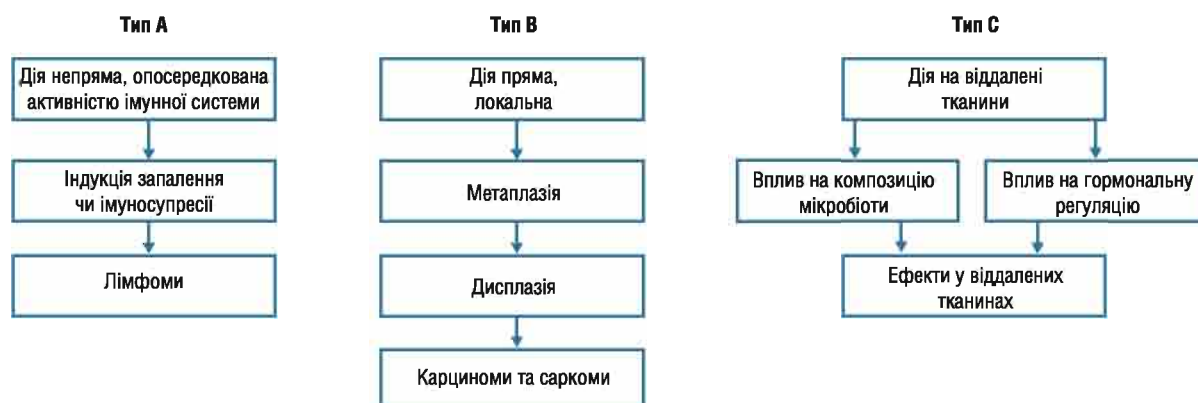


Рис. 2. Принципові типи впливу мікробіоти на розвиток пухлин у людини [16]

того, колибактин та CDT стимулюють розвиток запалення. Ці токсини індукують секрецію прозапальних цитокінів інтерлейкін (IL)-6 та IL-8 (залучення механізму впливу типу А) (див. рис. 2).

Деякі бактерії мають властивість змінювати активність білка p53, який називають «сторож геному» (guardian of the genome). Наприклад, внутрішньоклітинний патоген *Chlamidia trachomatis* індукує швидке внутрішньоклітинне руйнування p53. Системи секреції IV типу (Type IV Secretion System) *Helicobacter pylori* взаємодіють з інтегрином $\beta 1$, що призводить до активації фактора транскрипції NF- κB та підвищення рівня виживаності клітин. Токсин *H. pylori* CagA активує сигнальний каскад PI3K — АКТ — MDM2, який призводить до внутрішньоклітинної руйнації p53 (рис. 3).

Облігатно-анаеробний грам-негативний представник мікрофлори ротової порожнини та кишечника *Fusobacterium nucleatum* також асоційований з певними типами запалення та онкологічних захворювань. Досліджено, що при розвитку таких патологічних станів, як синдром запаленого кишечника (Inflammatory Bowel Disease — IBD), апендицит, рак товстого кишечника, вміст цієї бактерії у мікробіоценозі значно перевищує такий у здорових людей [18, 19]. У мікробіоті хворих на рак товстого кишечника спостерігають підвищений вміст *F. nucleatum*. Показано, що наявність цієї бактерії в надмірній кількості навіть асоційована з певним молекулярним профілем пухлини (особливим типом CpG-метилування, мікросателітною нестабільністю, мутаціями у генах *BRAF*, *CHD7*, *CHD8* та *P53*). Збільшення кількості *F. nucleatum* у тканині пухлини корелює з метастазами пухлини у регіонарні лімфовузли. Одним із факторів патогенності *F. nucleatum* є адгезин FadA (*Fusobacterium adhesin A*), що взаємодіє з E-кадгерином. Бактерія *F. nucleatum* здатна інвазувати в клітини епітелію. Адгезія та інвазія цієї бактерії призводить до активації β -катенін-залежних шляхів передачі сигналу з подальшою

активацією сигнального шляху WNT та експресії генів *c-myc* та генів цикліну D1. Усі ці сигнальні події призводять до продукції клітинами прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-6, фактора некрозу пухлини α (Tumor necrosis factor α — TNF- α) та стимуляції проліферації клітин. Крім того, *F. nucleatum* індукує секрецію клітинами ферментів MMP-9 та MMP-13, що розщеплюють компоненти міжклітинного матриксу та сприяють інвазії та метастазуванню пухлинних клітин та бактерій. Крім того, *F. nucleatum* сприяє утворенню M2-макрофагів із залученням TLR4/IL-6/STAT3/*c-myc*—залежного сигнального шляху. Макрофаги з фенотипом M2 інфільтрують тканину пухлини і спричиняють її прогресію [18, 19]. *F. nucleatum* індукує апоптоз Т-клітин, а білок бактерії FIP (*F. nucleatum* Inhibitory Protein) спричиняє зупинку Т-клітин у G1-фазі клітинного циклу. Поверхневий білок *F. nucleatum* Fap2 гальмує активацію Т-клітин та природних кілерів (Natural killer — NK) шляхом взаємодії з інгібіторним рецептором TIGIT. Бактерія також спричиняє інфільтрацію тканини пухлини CD103⁺ дендритними клітинами (dendritic cells (DC)), які далі індукують утворення CD4⁺ регуляторних Т-клітин (regulatory T cells — Treg).

Наявність *F. nucleatum* у тканині пухлини товстого кишечника призводить до розвитку хронічного запального процесу (А-тип впливу) зі значним збільшенням кількості нейтрофілів (Tumor Associated Neutrophils — TAN) (див. рис. 3). Збільшена кількість TAN при раку товстого кишечника є ознакою поганого прогнозу. Отже, *F. nucleatum* задіює різноманітні механізми для індукції утворення пухлини та її подальшої прогресії. Канцерогенний ефект запалення зумовлений постійною стимуляцією проліферації клітин на фоні дії мутагенних факторів. Мутагенний ефект підсилюють реактивні похідні кисню, що продукуються у мікрооточенні пухлини активними нейтрофілами та макрофагами.

Грамнегативний облігатний представник мікробіоти кишечника *Bacteroides fragilis* може здій-

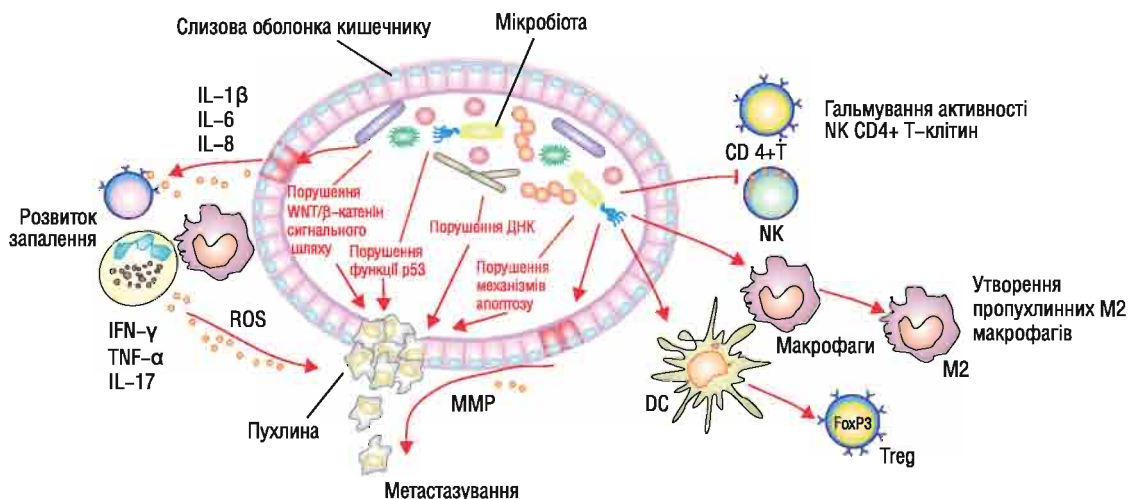


Рис. 3. Схематичне зображення механізмів канцерогенного впливу мікробіоти

снювати протилежно-спрямовані ефекти. Нетоксигенні штами бактерії взаємодіють з клітинами імунної системи кишечника таким чином, що індукують розвиток толерантності, зумовленої утворенням Treg. Це явище корисне в умовах здорового кишечника, адже підтримання толерантності до нормобіоти гальмує розвиток запальних процесів. Наприклад, при запальних захворюваннях кишечника (таких як IBD) у мікробіоті виявляють зменшення кількості *B. fragilis*. Ентеротоксигенні штами *B. fragilis* (Enterotoxigenic *B. fragilis*) продукують токсин-металопротеїназу (*B. fragilis* toxin — BFT). BFT взаємодіє з рецептором на поверхні епітеліальних клітин, що призводить до розщеплення E-кадгерину і вивільнення β-катеніну, що далі рухається в ядро і регулює транскрипцію. Залучення WNT-опосередкованого сигнального шляху за участю *B. fragilis*, призводить до злоякісної трансформації клітин (див. рис. 3) [20]. BFT також активує сигнальний шлях RAS — p38MAPK — AP1, який індукуює секрецію прозапальних цитокінів IL-8 та MCP1 клітинами епітелію товстого кишечника. Крім того, BFT має здатність гальмувати апоптоз епітеліоцитів шляхом активації внутрішньоклітинного інгібітора апоптозу cIAP2.

Представник мікробіоти ротової порожнини *Porphyromonas gingivalis* асоційований з розвитком гінгівітів, пародонтитів, ревматоїдного артриту, атеросклерозу, патології вагітності, а також пухлинних захворювань ротової порожнини та органів травлення (стравоходу, підшлункової залози та товстого кишечника). Досліджено, що *P. gingivalis* активує у клітинах антиапоптотичні сигнальні шляхи (Jak/Akt/Stat3), які контролюють мітохондріальний шлях розвитку апоптозу. У клітинах-мішенях відбувається збільшення кількості антиапоптотичних (Bcl-2) та зменшення проапоптотичних (Bad) білків, а також зниження активності каспази-9 [21]. Дія *P. gingivalis* призводить до зниження в клітинах рівня експресії p53. *P. gingivalis* продукує серинові протеази гінгівіни (gingipains), які розщеплюють неактивний проензим про-MMP-9 до його активної форми — MMP-9. Активність цього фермента сприяє інвазії пухлинних клітин (див. рис. 3) [21].

Внаслідок метаболічної активності представники мікробіоти кишечника утворюють з певних речовин організму людини субстанції, які мають канцерогенний ефект. Наприклад, бактерії клубової кишки (представники родів *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, а також *Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadtmanae*) містять ферменти — гідролази жовчних кислот, які здійснюють декон'югацію жирних кислот з утворенням вторинних жовчних кислот. Однією з таких речовин є деоксихолієва кислота (Deoxycholic Acid — DCA). Ця речовина депонується в кишечнику та печінці. У печінці DCA діє на клітини Іто, які починають продукувати прозапальні цитокіни. Дія хімічних канцерогенів на фоні хронічного запаль-

ного процесу призводить до розвитку гепатоцелюлярної карциноми [22]. Блокування утворення DCA бактеріями кишечника сприяло гальмуванню розвитку гепатоцелюлярної карциноми у мишей [22].

Прикладом зв'язку між композицією мікробіоти і розвитком пухлини за типом С є вплив бактерій на розвиток пухлин молочної залози людини. Цей вплив реалізується через залучення шляхів метаболізму естрогенів. Сукупність бактерій кишечника макроорганізму, продукти яких беруть участь у біохімічних перетвореннях естрогенів, називають естроболомом. В організмі людини виділяють три основні форми ендогенних естрогенів, що утворюються внаслідок метаболічних перетворень С21-холестеролу. Естрадіол (E2) утворюється в період репродуктивної фази життя, естрон (E1) переважає в період менопаузи, а естріол (E3) виробляється в організмі жінки під час вагітності. Утворені естрогени в печінці підлягають кон'югації з білками і виводяться з жовчі через кишечник. Проте у мікробіоті кишечника існують бактерії, що володіють β-глюкуронідазою чи β-глюкуронідною активністю, яка призводить до декон'югації естрогенів та всмоктування їх у кишечнику [16, 17, 23]. Наслідком цих процесів є підвищення концентрації естрогенів у плазмі крові. Відомо, що у жінок з високим рівнем циркулюючого естрогену підвищений ризик розвитку ендометріозу та пухлин молочної залози в період менопаузи. Метаболізм естрогену є індивідуальним і відрізняється у різних жінок [16, 23]. Пригнічення росту бактерій тих видів, що мають β-глюкуронідазу чи β-глюкуронідну активність сприяє зниженню ризику розвитку естроген-залежних пухлин. Цікаво, що особливості дієти також впливають на опосередкований мікробіотою метаболізм естрогенів. У вегетаріанців спостерігають більший вміст кон'югованих естрогенів у випорожненнях.

РОЛЬ МІКРОБІОТИ В МОДУЛЯЦІЇ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

Завдяки дослідженням з використанням безмікробних (Germ-free — GF) тварин стало відомо, що, наприклад, безмікробні щури живуть довше, а спонтанні пухлини у них розвиваються рідше, ніж у тварин дикого типу. Цей факт має теоретичний інтерес, оскільки безмікробні тварини можуть існувати лише у штучних умовах, створених людиною. Крім того, що стосується розвитку пухлин, то вплив мікробіоти є не тільки прямим, а також опосередкований активністю імунної системи. Взагалі, власне, нормальний розвиток імунної системи, як було показано вище, значно залежить від мікробіоти макроорганізму.

Оскільки під час розвитку патологічних станів певних органів і систем людини спостерігають зміни композиції мікробіоценозів кишечника та інших мікробіотопів, відповідно, існують мікробіоценози, асоційовані зі здоровим станом макроорганізму. Свій позитивний вплив бактерії здійснюють за різ-

ними механізмами (рис. 4). Наприклад, мікрофлора кишечника ферментує складні вуглеводи, недоступні для розщеплення ензимами системи травлення людини, з утворенням коротколанцюгових жирних кислот (Short Chain Fatty Acids — SCFA). Основними типами SCFA, які продукує мікробіота кишечника, і які циркулюють у людини, є ацетати, пропіонати та бутирати [24]. Ці SCFA здатні прямо взаємодіяти з рецепторами, пов'язаними з G-білками, сприяють диференціюванню різних типів T-клітин, що забезпечує розвиток як реакцій запалення, так і толерантності. Бутирати та пропіонати прямо впливають на експресію генів CD8⁺-лімфоцитів і підсилюють протипухлинну та протівірусну активність цих клітин. Бутирати та пропіонати гальмують активність деацетилаз гістонів (Histone Deacetylases — HDACs) [25]. Досліджено, що порушення мікробіоти кишечника антибіотиками у мишей призводило до підвищення у тканинах рівня HDAC2, що пов'язане з канцерогенезом. Підвищений рівень HDAC2 знижував чутливість клітин раку легені до дії цисплатину, клітин меланоми — до дії темозоломіду та дакарбазину, а клітин раку товстого кишечника — до доксорубіцину [26].

У разі раку молочної залози підвищений рівень HDAC2 корелює з підсиленням метастазуванням, підвищенням рівня експресії антигену проліферації клітин Ki67 та стійкістю до хімотерапії. Сьогодні HDAC2 розглядають як один з маркерів прогресії пухлинного процесу при раку молочної залози. Мікробіота кишечника шляхом продукції SCFA здійснює епігенетичний регуляторний вплив на експресію генів організму людини. Отже, зміни композиції мікробіоти кишечника пов'язані з чутливістю/стійкістю до дії хіміопрепаратів.

В одному з досліджень, результати якого були опубліковані у журналі «Science», було показано, що прищеплена меланома B16.STV у мишей лінії C57BL/6 мала різний характер росту залежно від мікробіоти кишечника тварин [27]. Важливо відмітити, що миші, використані в цьому експерименті, були

однієї лінії, проте з різних розплідників, скорочено TAC та JAX. У мишей лінії C57BL/6(TAC) спостерігали більш агресивний ріст пухлини, а у мишей C57BL/6(JAX) пухлина росла повільніше, а її тканина була інфільтрована CD8⁺-T-клітинами. Цікаво, що при утриманні цих мишей разом в одному контейнері всі тварини набували протипухлинного фенотипу C57BL/6(JAX). Це навело на думку, що миші C57BL/6(JAX) колонізовані мікроорганізмами, які сприяють розвитку протипухлинних імунних реакцій. Трансплантація фекальної мікрофлори від C57BL/6(JAX) до C57BL/6(TAC) мишей була ефективною і лише підтвердила попереднє припущення. Генетичний аналіз мікробіоти кишечника досліджуваних мишей показав значне зменшення кількості представників роду *Bifidobacterium* у мишей C57BL/6(TAC). Введення бактерій *B. longum* та *B. breve* мишам C57BL/6(TAC) сприяло підвищенню ефективності протипухлинного імунітету і зменшення агресивності перещепленої пухлини. Цікаво, що у мишей з порушенням вмісту CD8⁺-T-клітин позитивний ефект *Bifidobacterium* на пухлинний ріст не спостерігали. Більш глибоке дослідження довело, що біфідобактерії впливають на активність дендритних клітин [27]. Це свідчить, що вплив мікробіоти на розвиток пухлини є опосередкованим активністю імунної системи. Крім того, введення біфідобактерій тваринам сприяло змінам композиції мікробіоти кишечника в цілому. Так, наприклад, було виявлено зменшення кількості клостридій.

Одержані дані дуже важливі для розуміння того, що для отримання коректних результатів досліджень тварин, яких використовують в експериментах в усьому світі, мають утримуватися у стандартних умовах на стандартизованому раціоні харчування.

В іншому дослідженні було показано, що при введенні мишам лізату бактерій роду *Lactobacillus* у тварин з пухлиною товстого кишечника в мезентеріальних лімфовузлах спостерігали збільшення кількості CD4⁺Th1 (інтерферон (IFN)- γ ⁺) клітин та макрофагів з фенотипом M1 (CD11b⁺, F4/80⁺, CD86⁺) [28].

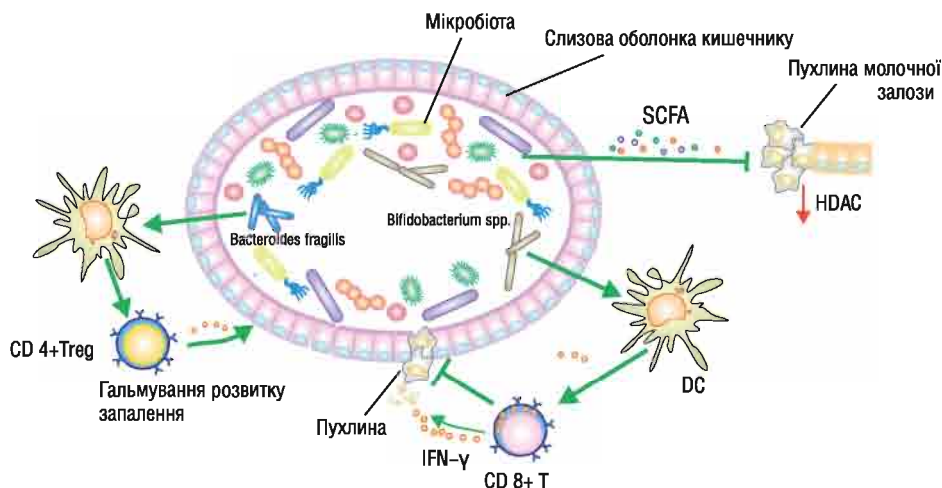


Рис. 4. Механізми протипухлинної активності мікробіоти

При цьому значно зменшувалася кількість видимих осередків пухлин у кишечнику мишей. У дослідженнях *in vitro* було показано, що навіть лізат *L. acidophilus* індукує зниження експресії CD206 та продукції IL-10 макрофагами.

МІКРОБІОТА ТА ПРОТИПУХЛИННА ТЕРАПІЯ

Різні терапевтичні підходи, які використовують в онкології: оперативне втручання, хіміотерапія, радіотерапія і, навіть, імунотерапія впливають на мікробіоту, а мікробіота, у свою чергу, впливає на ефективність різних методів лікування [29]. Наприклад, показано, що у безмікробних тварин хіміо-, радіо- та імунотерапія пухлин не є ефективними у порівнянні з тваринами-пухлиноносцями дикого типу.

В одному з великих епідеміологічних досліджень, в якому брали участь 600 000 пацієнтів, було показано, що вживання антибіотиків повторними курсами призводило до підвищення ризику утворення пухлин [30, 31]. Застосування пеніциліну призводило до підвищення ризику розвитку пухлин стравоходу, шлунка, підшлункової залози та товстого кишечника. Застосування пеніциліну, цефалоспоринів та макролідів спричиняло підвищення ризику розвитку раку легень та мієлоїдної хвороби. Використання пеніциліну, хінолонів, сульфамідів та тетрациклінів призводило до підвищення ризику виникнення раку простати. А частота виникнення раку молочної залози корелювала зі вживанням сульфонамідів [30, 31]. Більше того, застосування антибіотиків при раку молочної залози спричиняє прогресування пухлинного процесу. Подібну залежність спостерігають і при меланомі [32]. Застосування антибіотиків супресує активність хіміотерапії з використанням цисплатину.

У досліджах з використанням тварин було показано, що проведення антибіотикотерапії значно знижує ефективність протипухлинних підходів. У GF-мишей взагалі протипухлинні хіміопрепарати не є ефективними. Ці факти свідчать про значну роль бактерій у формуванні чутливості до протипухлинної терапії.

Один з відомих протипухлинних препаратів циклофосфамід, як відомо, крім прямої цитостатичної протипухлинної активності, також має імуномодулювальний вплив. Відомо, що цей препарат підсилює протипухлинну імунну відповідь. Він сприяє утворенню Т-хелперів (Th)1 та Th17 і у той же час супресує активність Treg [33]. Нещодавно в експериментах з використанням GF-мишей та мишей-гнотобіонтів було показано, що циклофосфамід сприяє зміні композиції мікробіоти тонкого кишечника і індукує перенесення певних видів грампозитивних бактерій (родів *Lactobacillus* та *Enterococcus*) у вторинні лімфоїдні органи. Саме ці події і сприяли утворенню прозапальних Th17 та Th1 клітин пам'яті. У GF-тварин та тварин з порушеною анти-

біотиками грампозитивною мікрофлорою утворення Th17 не спостерігали, а пухлини у цих тварин були стійкими до дії циклофосфаміду. Отже, у представленому дослідженні розкрито один з механізмів дії циклофосфаміду, який реалізується за участю мікробіоти кишечника [34].

На сьогодні відомо, що більш ніж 40 лікарських препаратів прямо метаболізуються мікробіотою кишечника. Серед цих препаратів є і протипухлинні: метотрексат та іринотекан.

Отримано дані про позитивний вплив антибіотикотерапії, асоційований зі змінами мікробіоти, при пухлинному процесі. В одному з досліджень було показано, що прийом антибіотика ванкоміцину підвищує ефективність радіотерапії пухлин у мишей. Дослідження механізмів впливу свідчило, що дія ванкоміцину призводила до видалення з мікробіоценозу бутират-продукуючих бактерій. Попередньо у дослідженнях *in vitro* було показано, що за певних обставин бутирати гальмують здатність DC презентувати антигени. Отже, дія ванкоміцину призводила до такої реорганізації мікробіоти, що супроводжувалася нормалізацією функції DC. Це сприяло утворенню CD8⁺-Т-клітин, що активно продукували IFN- γ .

Досліджено, що мікробіота впливає на ефективність імунотерапії з використанням анти-CTLA-4 та анти-PDL1 підходів, а також CAR T та дендритних клітин [35, 36]. Мікробіота кишечника впливає на ефективність імунотерапії з використанням анти-CTLA-4 та анти-PDL1. Оральне застосування мишам з порушеною мікробіотою кишечника бактерій видів *Bacteroides fragilis* та *B. thetaiotaomicron* відновлювало ефективність анти-CTLA-4-імунотерапії. Було показано, що протипухлинний препарат ванкоміцин підсилював ефективність імунотерапевтичного підходу із застосуванням анти-CTLA-4 шляхом пригнічення росту грампозитивних бактерій і підвищення вмісту в мікробіоті кількості грамнегативних представників родів *Bacteroides* та *Burkholderia* [37]. Пухлини GF-тварин та тварин, оброблених антибіотиками, не відповідали на лікування із застосуванням анти-CTLA-4-імунотерапії. Відновити чутливість пухлини до імунотерапії в цій експериментальній системі можна було 3 способами: заселенням кишечника тварин *B. fragilis*, імунізацією поліцукридами *B. fragilis* та за допомогою адоптивного переносу Т-клітин, специфічних до антигенів *B. fragilis* [37].

При введенні комбінації анти-CTLA-4 IgG та *L. acidophilus* спостерігали підвищення рівня експресії mRNA IFN- γ у перитонеальних макрофагах мишей, порівняно з монотерапією з використанням анти-CTLA-4 IgG [28].

Ефективність відповіді на імунотерапію із застосуванням анти-PDL1 підходу асоційована з представниками мікробіоти, що належать до роду *Bifidobacterium* [38]. У мишей оральне застосування *B. breve* та *B. longum* у монорежимі чи в поєднанні

з анти-PDL1 підходом призводило до підвищення протипухлинної активності CD8⁺-Т-клітин. У мишей, пролікованих антибіотиком, подібного ефекту не спостерігали. Метагеномний аналіз випорожнень пацієнтів виявив кореляцію між клінічною відповіддю пацієнтів на терапію та вмістом у мікробіоті кишечника бактерії *Akkermansia muciniphila* [39]. Додавання цієї бактерії у вигляді пробіотика у пацієнтів з мінімальною кількістю *A. muciniphila* сприяло підвищенню ефективності імунотерапії з використанням анти-PDL1-підходу [38]

У результаті проведеного аналізу даних наукової літератури виникає думка, чи не опосередкована ефективність дії протипухлинних хіміопрепаратів активністю мікробіоти. Виявляється, що однією з основних складових індивідуальної чутливості кожної людини до будь-якого терапевтичного впливу є композиційний склад та метаболічна активність мікробіоти. Тому надзвичайно важливо враховувати вплив останньої на ефективність хіміо- або імунотерапії.

ВИСНОВКИ

На сьогодні вже визначено, що тільки 5–10% пухлин людини виникають внаслідок генетичної схильності. Решта пухлин розвиваються внаслідок дії зовнішніх впливів. Близько 20% пухлин виникають внаслідок дії інфекційних агентів: вірусів, бактерій, найпростіших, мікроскопічних грибів.

Завдяки проекту Human Genome (1990–2003 рр.) стало відомо, що в організмі людини налічується приблизно 22 000 генів. Усі люди світу подібні за своїм геномом на 99%. Кількість генів мікробіоти перевищує геном людини приблизно у 100 разів (3 500 000 генів різноманітних бактерій містяться в організмі однієї людини). Генетична подібність мікробіому між людьми становить лише 10–20%! Враховуючи колосальний метаболічний вплив мікробіоти на організм людини, стає зрозумілим, що індивідуальна чутливість до розвитку пухлинних захворювань та ефективність лікування онкопатології значною мірою визначаються композицією власної мікробіоти.

Кожен людський організм індивідуальний, зі своєю унікальною імунною системою та мікробіотою. Саме тому, підходи лікування до кожного пацієнта мають враховувати особливості індивідуальної чутливості до терапії, активності імунної системи та складу облігатної мікробіоти. Особливі композиції мікробіоти кишечника та безпосередньо тканини пухлини відіграють ключову роль у стимуляції або гальмуванні активності ефекторних імунних клітин у мікрооточенні пухлини, що визначає протипухлинну імунну відповідь пацієнта.

Отже, спеціалістам, які працюють у галузі розробки та удосконалення шляхів терапії хворих зі злоякісними новоутвореннями, необхідно розуміти, що терапевтичні підходи впливають не тільки на організм людини, а й на складні асоціації сотень пред-

ставників мікробіоти, які далі визначають ефективність проведеного лікування. Оцінка стану мікробіоти в онкологічного пацієнта до лікування надає інформацію щодо прогнозу ефективності лікування, яке планується. Дослідження щодо відновлення/збагачення мікробіоти шляхом зміни дієти [40, 41], вживання пробіотиків чи пребіотиків, застосування бактеріофагів чи трансплантації фекальної мікрофлори (Fecal Microbiota Transplantation) [42] буде мати суттєвий вплив на зниження токсичності хіміо- та радіотерапії, а також підвищення ефективності цих методів лікування. Ключовим фактором впливу на мікробіоту є дієта, отже, розробка індивідуальної дієти для онкологічних пацієнтів з урахуванням композиції облігатної мікробіоти, а також харчових потреб корисних представників мікробіоти має бути одним з пріоритетних напрямків сучасних клінічних спостережень [40, 41, 42].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Huse S, Ye Y, Zhou Y, Fodor A. A Core human microbiome as viewed through 16s rna sequence clusters. PLoS ONE 2012; 7 (6): 1–12.
2. Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. Nat Rev Genet 2012; 13 (4): 260–70.
3. Zou Y, Xue W, Luo G, et al. 1,520 reference genomes from cultivated human gut bacteria enable functional microbiome analyses. Nat Biotechnol 2019; 37 (2): 179–85.
4. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. Nat Rev Microbiol 2018; 16 (3): 143–55.
5. Rowan-Nash AD, Korry BJ, Mylonakis E, et al. Cross-domain and viral interactions in the microbiome. Microbiol Mol Biol Rev 2019; 83 (1): 1–63.
6. Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. Cell 2016; 164 (3): 337–40.
7. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. Nat Rev Microbiol 2018; 16 (12): 745–59.
8. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. Nat Rev Immunol 2015; 15 (1): 30–44.
9. Pieczynska MD, Yang Y, Petrykowski S, et al. Gut microbiota and its metabolites in atherosclerosis development. Molecules 2020; 25 (3): 594.
10. Dinan TG, Cryan GF. Microbes, immunity, and behavior: psychoneuroimmunology meets the microbiome. Neuropsychopharmacology 2017; 42 (1): 178–92.
11. Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease. Cell Host Microbe 2018; 23 (6): 716–24.
12. Zitvogel L, Daillère R, Roberti MP, et al. Anticancer effects of the microbiome and its products. Nat Rev Microbiol 2017; 15 (8): 465–78.
13. Gagnaire A, Nadel B, Raoult D, et al. Collateral damage: insights into bacterial mechanisms that predispose host cells to cancer. Nat Rev Microbiol 2017; 15 (2): 109–28.
14. Garrett WS. Cancer and the microbiota. Science 2015; 348 (6230): 80–86.
15. Roesler BM, Rabelo-Gonçalves EMA, Zeitune JMR. Virulence factors of helicobacter pylori: a review. Clinical Medicine Insights: Gastroenterology 2014; 7: 9–17.
16. Plottel CS, Blaser MJ. Microbiome and malignancy. Cell Host Microbe 2011; 10 (4): 324–35.
17. Godoy-Vitorino F. Human microbial ecology and the rising new medicine. Ann Transl Med 2019; 7 (14): 342.

18. Wu J, Li Q, Fu X. *Fusobacterium nucleatum* contributes to the carcinogenesis of colorectal cancer by inducing inflammation and suppressing host immunity. *Transl Oncol* 2019; **12** (6): 846–51.
19. Shang FM, Liu HL. *Fusobacterium nucleatum* and colorectal cancer: a review. *World J Gastrointest Oncol* 2018; **10** (3): 71–81.
20. Martín-Orozco E, Sanchez-Fernandez A, Ortiz-Parra I, et al. WNT signaling in tumors: The way to evade drugs and immunity. *Front Immunol* 2019; **10**: 2854.
21. Karpíński TM. Role of oral microbiota in cancer development. *Microorganisms* 2019; **7** (1): 20.
22. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature* 2013; **499** (7456): 97–101.
23. Fernández MF, Reina-Pérez I, Astorga JM, et al. Breast cancer and its relationship with the microbiota. *Int J Environ Res Public Health* 2018; **15** (8): 1747.
24. Li Z, Quan G, Jiang X, et al. Effects of Metabolites Derived From Gut Microbiota and Hosts on Pathogens. *Front Cell Infect Microbiol* 2018; **8**: 314.
25. Zhao H, Yu Z, Zhao L, He M, et al. HDAC2 overexpression is a poor prognostic factor of breast cancer patients with increased multidrug resistance-associated protein expression who received anthracyclines therapy. *Jpn J Clin Oncol* 2016; **46**(10): 893–902.
26. Gately S. Human microbiota and personalized cancer treatments: role of commensal microbes in treatment outcomes for cancer patients. *Cancer Treat Res* 2019; **178**: 253–64.
27. Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015; **350** (6264): 1084–9.
28. Zhuo Q, Yu B, Zhou J, et al. Lysates of *Lactobacillus acidophilus* combined with CTLA-4 blocking antibodies enhance antitumor immunity in a mouse colon cancer. *Sci Rep* 2019; **9** (1): 20128.
29. Deleemans JM, Chleilat F, Reimer RA, et al. The chemogut study: investigating the long-term effects of chemotherapy on gut microbiota, metabolic, immune, psychological and cognitive parameters in young adult Cancer survivors; study protocol. *BMC Cancer* 2019; **19** (1): 1243.
30. Zitvogel L, Ayyoub M, Routy B, et al. Microbiome and anticancer immunosurveillance. *Cell* 2016; **165** (2): 276–87.
31. Boursi B, Mamtani R, Haynes K, et al. Recurrent antibiotic exposure may promote cancer formation — another step in understanding the role of the human microbiota. *Eur J Cancer* 2015; **51** (17): 2655–64.
32. McKee AM, Lindsay J, Hall LJ, et al. The microbiota, antibiotics and breast cancer. *Breast Cancer Manag* 2019; **8** (3): BMT29.
33. Viaud S, Flament C, Zoubir M, et al. Cyclophosphamide induces differentiation of Th17 cells in cancer patients. *Cancer Res* 2011; **71** (3): 661–5.
34. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013; **342** (6161): 971–6.
35. Uribe-Herranz M, Rafail S, Koumenis C, et al. Gut microbiota modulate dendritic cell antigen presentation and radiotherapy-induced antitumor immune response. *J Clin Invest* 2020; **130** (1): 466–79.
36. Abid M B, Shah NN, Maatman TC, et al. Gut microbiome and CAR-T therapy. *Exp Hematol Oncol* 2019; **8**: 3.
37. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 2015; **350** (6264): 1079–84.
38. Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015; **350** (6264): 1084–9.
39. Macchione IG, Lopetuso LR, Ianiro G, et al. Akkermansia muciniphila: key player in metabolic and gastrointestinal disorders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; **23** (18): 8075–83.
40. Illiano P, Brambilla R, Parolini C. The mutual interplay of gut microbiota, diet and human disease. *FEBS J* 2020; **287** (5): 833–55.
41. Zitvogel L, Pietrocola F, Kroemer G. Nutrition, inflammation and cancer. *Nat Immunol* 2017; **18** (8): 843–50.
42. Chen D, Wu J, Jin D, et al. Fecal microbiota transplantation in cancer management: Current status and perspectives. *Int J Cancer* 2019; **145** (8): 2021–31.

EFFECTS OF MICROBIOTES ON THE DEVELOPMENT OF HUMAN TUMOR PATHOLOGIES

V.F. Chekhun¹, N.Yu. Lukianova¹, Yu. V. Shvets²

¹RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, the NAS of Ukraine,

²ESC «Institute of Biology and Medicine» of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Summary. The presented review analyzes and summarizes modern scientific data on the key mechanisms by which the microbiota of bacterial origin affects the tumor process and the effectiveness of anti-tumor therapy. Modern genome research technologies have made it possible to implement the Human Microbiome Project (2008–2013). Thanks to this project, updated data on the number and variety of microbiota composition of the human body were obtained. It is also known that a number of human pathologies, including inflammatory bowel disease, metabolic diseases, allergic and autoimmune pathologies, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases and mental disorders, as well as oncological processes are associated with certain species compositions of intestinal microbiota. Current data on the mechanisms by which certain species of bacteria promote the formation or inhibition of human and experimental tumors are presented. In addition, it has been proven that the metabolic activity of the microbiota affects the effectiveness of chemotherapy, radiotherapy and immunotherapy in malignant growth. Assessment of the microbiota provides important information for predicting the aggressiveness of the tumor process and the sensitivity of the tumor to therapy. Since diet is a key factor influencing the composition and function of the microbiota, the development of individual dietary programs for cancer patients is one of the priorities of modern clinical observations.

Key Words: microbiota, cancer, chemotherapy, immunotherapy, tumor-microbiota interaction.

Адреса для листування:

Лук'янова Н.Ю.

Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

E-mail: nataluk10@gmail.com

Одержано: 27.05.2020