

Bakterite roll kartsinogeneesis ja vähi medikamentoosse ravi efektiivsuses

Anna-Marija Sljusartšuk¹

Juhendaja: Jana Jaal²

Bakterid võivad osaleda kartsinogeneesis ning praegu on maailmas tunnustatud kartsinogeenseks kuni 10 bakterit, sealhulgas *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* ja *Bacteroides fragilis*. Bakterite virulentsusfaktorite ja kroonilise põletiku mõjul tekivad DNA kahjustused ning toksiinide mõjul aktiveerub rakkude polaarsust ja kasvu reguleeriv Wnt/beetakateniini rada. Bakteritest tingitud krooniline põletik soodustab vähi arengut pideva vabade hapnikuradikaalide kõrge taseme tõttu. Lisaks eeltoodule mõjutavad mikroobid ka medikamentoosse vähiravi efektiivsust ja toksilisust. Bakteriaalsest beetaglükuronidaasist sõltub näiteks irinotekaani toksilisus ning *Lactobacillus johnsonii*'d ja *Enterococcus hirae*'d seostatakse CD4+ rakkude diferentseerumisega, mis omakorda toetavad tsüklofosfamiidi toimet. Anti-CTLA4 ja anti-PD-1 immunoteraapia efektiivsuse suurendamises on mikroflooral samuti oluline osa.

Mikroorganismidel on keskne roll nii meie keha kui ka ümbritseva keskkonna jaoks. Inimkehas on ligikaudu $3,8 \times 10^{13}$ mikroobi. Seedetrakt on bakterite poolt ulatuslikult koloniseeritud ning selle mikrobiom osaleb organismi detoksikatsioonis, põletiku moduleerimises ning peremeesrakkude kasvu ja proliferatsiooni tasakaalu säilitamises (1). Asetedes limaskestadel, moodustavad bakterid kasvaja mikrokeskkonna ja mõjutavad tuumori kasvu ning levikut mitmel viisil (2). Kasvajate teke on polüetioloogiline. Kuigi üldiselt peetakse kasvajat geneetiliste ja keskkonnategurite põhjustatud haiguseks, on 20%-l juhtudest kaasatud ka mikroobidega seonduvad tegurid (1).

MIKROOBIDE ROLL KARTSINOGENEESIS

Bakterite toime kartsinogeneesile jaotatakse kolme kategooriasse: 1) peremeesraku proliferatsiooni ja surma tasakaalu muutmine; 2) immuunsüsteemi funktsiooni juhtimine; 3) peremehe toodetud ainete, toitainete ning ravimite ainevahetuse mõjutamine (1). Maa peal elab ligikaudu $3,7 \times 10^{30}$ mikroobi, kuid kuni 10 nendest on Rahvusvaheline Vähiuuringute Agentuur tunnistanud kartsinogeenseks. Kuigi need kartsinogeensed mikroobid koloniseerivad suurt hulka inimesi, areneb ainult üksikutel isikutel kasvaja, kuna selle teket mõjutavad nii bakteriaalne kui ka

peremehe genotüüp (1). Näiteks on *Helicobacter pylori*'ga üle maailma koloniseeritud üle 50% rahvastikust, kuid ainult 1–3%-l infitseeritud isikutest areneb maovähk (3). Erinevad mikrobiaalsed virulentsusfaktorid võivad mõjutada nii organismi enda kui ka kasvaja rakkude proliferatsiooni, DNA terviklikkust ja parandusmehhanisme ning vastust immuunreaktsioonidele (vt tabel 1) (1).

Maovähi etioloogias rolli etendav *Helicobacter pylori* on kuulutatud esimese klassi kartsinogeeniks (4). See on suurepärane näide bakteri põhjustatud kroonilise põletiku rollist tuumori arengus (5). Bakterite virulentsusfaktorid on neile vajalikud konkureerivate mikroobide hävitamiseks ja maailmas ellu jäämiseks. Bakterite toodetud valgud võivad mõjutada Wnt/beetakateniini rada, mis reguleerib rakkude tüvilisust, polaarsust ja kasvu. *H. pylori* 1. tüüpi onkogeenne tüvi toodab tsütotoksiiniga seotud proteiini (CagA), mis sattudes peremeesraku tsütoplasmasse, suunab beetakateniini raja maovähi tekitamisele (1). CagA mõjul aktiveerub mao epiteelirakkudes transkriptsioonifaktor NF-kB ning seeläbi indutseeritakse sünteesi sellistel põletikumediaatoritel nagu interleukiinid (IL) -1, -6, -8, -10; tuumori nekroosifaktor (TNF) α ; vaskulaarne endoteliaalne kasvufaktor (VEGF); tsüklooksügenaas-2 (COX-2);

Eesti Arst 2020; 99(2):95–102

Saabunud toimetusse: 09.04.2019
Avaldamiseks vastu võetud: 16.10.2019
Avaldatud internetis: 26.02.2020

¹ TÜ meditsiiniteaduste valdkonna arstiteaduse üliõpilane,
² TÜ Kliinikumi hematoloogia-onkoloogia kliinik

Kirjavahetajaautor: Anna-Marija Sljusartšuk
maria.slyusarchuk@gmail.com

Võtmesõnad: pahaloomulised kasvajakasvaja, kartsinogeensed bakterid, mikrobioota, medikamentoosne vähiravi

Eesti Arstiteadusüliõpilaste Seltsi ja ajakirja Eesti Arst artiklikonkursil „Minu esimene publikatsioon“ kolmanda koha pälvinud artikkel.

Tabel 1. Bakteriaalsete virulentsusfaktorite seos vähi tekkega (1, 4–6, 8, 12, 19)

Bakteri nimi	Virulentsusfaktor	Toime	Risk
<i>Helicobacter pylori</i>	CagA	NF-kB ja mTOR-i aktivatsioon; proinflammatoorsete tsütokiinide süntees	Maovähk
<i>Helicobacter hepaticus</i>	CDT	NF-kB aktivatsioon; DNA hüdroolüüs; rakutsükli blokaad G2-/M-faasis	Maksavähk, sapipõievähk
<i>Bacteroides fragilis</i>	Bft metalloproteas	ROS; beetakateniini raja aktivatsioon; IL-8 ja IL-17 tootmine	Jämesoolevähk
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Histoonilaadne proteiin A	Heparaansulfaadi proteoglükaaniga seostumine; p38 MAPK raja aktivatsioon	Jämesoolevähk
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	FadA	Beetakateniini aktivatsioon E-kadheriiniga seostumise teel	Jämesoolevähk
<i>Escherichia coli</i>	Kolibaktiin	Kaksikahelised DNA katked	Jämesoolevähk
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	CHSP-60	IL-10 sünteesi soodustamine; apoptoosi vaigistamine	Kopsuvähk
<i>Salmonella typhi</i>	CDT	Kaksikahelised DNA katked; rakutsükli blokaad	Sapipõievähk

CagA – tsütotoksiiniga seotud proteiin; CDT – tsütotoetalaalne paisumise toksiin; Bft – *Bacteroides fragilis*'e toksiin; FadA – *Fusobacterium*'i adhesiin A; CHSP-60 – klamüdiaalne kuumašoki valk; NF-kB – nukleaarne faktor kapa-B; mTOR – imetaja rapamütsiinsihthvalk; ROS – reaktiivsed hapnikuradikaalid; IL – interleukiin; MAPK – mitogeeni aktiveeritud proteiini kinaas

maatriksi metalloproteinaasid (MMP) -2 ja -7 ning C-C kemokiini ligand 5 (CCL5). CCL5 soodustab proliferatsiooni läbi imetaja rapamütsiinsihthvalgu (mTOR) raja aktiveerimise, lisaks suureneb adenosiintrifosfaadi (ATP) ja VEGFi tootmine (6). Teine oluline *H. pylori* toodetud toksiin on vakuoliseeriv tsütotoksiin A (VacA), mis on saanud oma nime tänu vakuoolide tekitamisele epiteelirakkude tsütoplasmas. VacA mõjul häirub mitokondrite funktsioon, käivitub apoptoos ja blokeeritakse T-lümfotsüütide tsütotoksiline toime. See viitab ühe bakteri toksiinide – CagA ja VacA – võimalikule antagonismile kartsinogeneesi suhtes (7). Mitte kõik *H. pylori* tüved ei ole CagA-positiivsed, mistõttu arenebki ainult vähestel infitseeritud isikutel maovähk. Lisaks on oluline organismi kaitsebarjäärade intaktsus, mille nõrgenemisel ületatakse kriitiline samm kasvaja arengus (1).

Helicobacter hepaticus on *H. pylori* sarnane bakter, mida seostatakse maksavähi arenguga. Samas puuduvad *H. hepaticus*'el *H. pylori* tähtsamad virulentsusfaktorid CagA ja VacA. *H. hepaticus*'el on geenid, mis kodeerivad tsütotoetalaalset paisumise toksiini (CDT). CDT on kodeeritud *cdtA*, *cdtB* ja *cdtC* geenide poolt, mis on vajalikud rakulise tsütotoksilisuse jaoks. *CdtB* on püsiv toksiini osa, samas kui *CdtA* aitab toksiinil kinnituda rakumembraanile ja *CdtC* transpordib *CdtB* tuuma. CDT põhjustab progresseeruvat tsütoplasma ja tuuma paisumist ning peatab rakutsükli

G2-/M-faasis edaspidise raku kasvu. *CdtB* on aga Mg^{2+} ja Ca^{2+} sõltuv nukleas, mis hüdroolüüsib DNA (8). Sarnaselt *H. pylori*'ga omistatakse *H. hepaticus*'ele võimet sisse lülitada NF-kB ning seeläbi aktiveerida põletikku ja rakkude jagunemisele suunavat beetakateniini rada (1, 8). Vaatamata bakteri seosele maksavähiga, isoleeritakse see sagedamini soolestikust kui maksast, mistõttu peetakse *H. hepaticus*'e kolonisatsiooni primaarseks asukohaks soolestikku (8). Lisaks on täheldatud bakteri osa sapipõie- ja sapipõiejuhavähi etioloogias (9).

Inimese jämesool on asustatud väga mitmekesise mikroflooraga ning selle koosseis võib muutuda sõltuvalt meie eluviisist, toitumisest ja kasutatavatest ravimitest. Ulatusliku kolonisatsiooni tõttu on ka mitmeid bakterid seostatud jämesoolevähi arenguga. Jämesoolevähiga seostatakse mikroobe nagu *Escherichia coli* (10, 11), *Bacteroides fragilis* (12, 13), *Streptococcus bovis* (4, 14) ja *Fusobacterium nucleatum* (1). Mittepatoogeensed *E. coli* bakterid hävitatakse koloniseerumise järel kiiresti makrofaagide poolt, samas vähiga seotud B2 fülotüübi *E. coli* bakterid on võimelised püsima ja jagunema raku-siseselt vähemalt 72 tundi pärast nakatumist (10). Selle bakteri B2 fülogeneetilisse gruppi kuuluvad ka patogeensed tüved, mis sisaldavad ekstraintestinaalseid haigusi põhjustavaid virulentsusfaktoreid nagu CDT ja tsütotoksiline nekrotiseeriv faktor (CNF) (11, 15). Siiski ei ole mõned B2-grupi

tüved patogeensed ja koloniseerivad parasvõotmes elavaid inimesi. Mida kaugemale areneb soolevähk (TNM I asemel TNM III), seda suurem on kasvaja seos B2 fülotüübi *E. coli*'ga (11). Bakteri *pks*-lookus kodeerib kolibaktiini, tsüklopropani sisaldava toksiooni (11), mis on võimeline tekitama kaksikahelalisi DNA katkeid (1). On märkimisväärne, et kombineerides kolibaktiini produtseeriva bakteri teise tsüklopropani sisaldava ainega, mükotoksiini deoksünivalenooliga, kaksikahela katkemistele viitav γ H2AX-positiivsete rakkude (16) skoor suureneb ja soole limaskestast hattude kõrgus väheneb. Kumbki aine eraldi aga sellist mõju ei avalda. Küsimus on siinjuures selles, milliste väliskeskkonnast tulevate ainetega reageerides suudab kolibaktiin põhjustada DNA kahjustuse soole epiteelirakkudes (11). On täheldatud, et rakud, milles persisteerivad *pks+* *E. coli*'d, toodavad reaktiivseid hapniku osakesi (ROS), tsütokiine, proteaase ja näitavad vananemise tunnuseid. Samas peatab kolibaktiin rakkude kasvu *in vitro* ning arvatakse, et rakuline proliferatsioon kasvaja puhul on tingitud pigem kasvufaktorite tootmise suurenemisest kolibaktiiniga kokkupuutumise järel. Lisaks seostatakse gastrointestinaalsete kasvajatega ka tsüklooksügenaas-2 (COX-2) kõrget taset. Mikroobi rakusisest persisteerimist makrofaagides ja COX-2 tootmist stimuleerib *E. coli* aktiveeritud p38 mitogeeni aktiveeritud proteiinkinaasi (MAPK) rada, mitte kolibaktiin. Samas stimuleerivad *H. pylori* ja *B. fragilis*'e korral COX-2 tootmist just toksiinid (10).

Teiseks kolorektaalvähiga seotud bakteriks, mida peetakse otseselt pro-onkogeenseks ja võimeliseks muutma limaskesta immuunvastust, on enterotoksigeenne *Bacteroides fragilis* (*B. fragilis*, ETBF) (12). ETBF toodab ainsa virulentsusfaktorina metalloproteaasi Bft, mis soodustab ROSide produktsiooni. Krooniliselt kõrge ROSide tase pidurdab peremehe DNA parandusmehhanisme ning viib mutatsioonide kuhjumiseni (1). Lisaks aktiveerib Bft beeta-kateniini raja, lõhub E-kadheriini ühendusi ning kutsub esile proinflammatoorsete IL-8 ja IL-17 tootmise epiteelirakkudes (12, 13). *In vitro* ja *in vivo* hiiremodelitel on kindlaks tehtud, et toksiooni alavormil Bft-2 on suurem adhesiivsus ja kartsinogeenne potentsiaal kui alavormil Bft-1 (13). Samas toodab *B. fragilis* immuunsüsteemi

reguleerivat polüsahhariidi A (PSA), mis tekitab soolestikus põletikuvastaseid reaktsioone. Ta toimib Tolli-laadse retseptor 2 kaudu ja indutseerib IL-10 tootmist regulaatorsete T-lümfotsüütide poolt. Lisaks on *B. fragilis*'e puhul täheldatud immuunrakke värbava C-C kemokiini retseptor 5 (CCR5) ekspressiooni langust, mis viitaks bakteri kaitsvale toimele põletiku ja vähi eest (17). Seetõttu jääb üles küsimus, kas *B. fragilis* kaitseb põletiku eest või hoopis soodustab vähi arengut, pidurdades immuunsüsteemi.

Arvatakse, et *Streptococcus bovis* (*S. bovis*), uue nime järgi *S. gallolyticus*, on seotud tugeva põletikulise vastuse stimuleerimisega soole limaskestas. *S. gallolyticus* põhjustab baktereemiat ja endokardiiti ning neid haigusi põdevatel inimestel on leitud ka eri staadiumites kolorektaalvähki. Vastusena infektsioonile toodab organism põletikumediaatoreid TNF- α , IL-1 β , IL-6 ning ROSe nagu superoksiid, peroksünitrit ja hüdroksüülradikaal, mis võivad viia DNA kahjustusteni. Lisaks stimuleerib kartsinogeneesi *S. gallolyticus*'e antigeenide mõjul soole limaskestas toodetav IL-8, mis on angiogeneesi soodustava toimega (4). Just kartsinogeenne *S. gallolyticus*'e kolonisatsiooni seostatakse teisi baktereid tõrjuvate bakteriotsiinide tootmisega (14). Lisaks aktiveerivad bakteri valgud MAPKd, mis viib rakkude edaspidise transformatsiooni ja mutatsioonide kuhjumiseni. Nagu ka *E. coli* puhul, on siiski olulisem p38 MAPK, mis indutseerib kartsinogeneesi tähtsat faktorit COX-2 (10). Seejärel aktiveerub NF- κ B, mis on keskseks lüliks põletiku ja kartsinogeneesi vahel. Seoses COX-2-alkudega on kliinilised uuringud näidanud, et mittesteroidsete põletikuvastaste ravimite kasutamine võiks vähendada gastrointestinaalsete kasvajat riski (4). Huvitav on, et *S. gallolyticus*'e leidumine sooles on seotud pigem adenoomi või varase staadiumi kolorektaalvähiga. On leitud, et bakteri seinal on histoonilaadne proteiin A, mis seondub juba kasvajakul oleva heparaansulfaadi proteoglükaaniga (4). Sellest võiks järeldada, et *S. gallolyticus*'e roll on seotud pigem olemasoleva kasvaja progressiooni kui uue kolde tekitamisega.

Fusobacterium nucleatum (*F. nucleatum*) on suuõõnes koloniseeruv bakter, mis satub jämesoolde neelamisel või hematogeenselt. Ta ekspresseerib valku FadA, mis seondudes peremehe E-kadheriiniga, aktiveerib samuti

beetakateniini raja ning sellele järgneb rakkude proliferatiivsuse suurenemine. Lisaks on tal võime vaigistada immuunsüsteemi, et vältida enesedestruktiooni ja kaudselt soodustada tuumori arengut. *F. nucleatum* võib inhibeerida otse vähivastast immuunsust, blokeerides T-lümfotsüütidel ja NK-rakkudel ekspresseeritavat TIGIT retseptorit, mis sisaldab immuunglobuliini ja ITIM domeeni (1). Jämesoole adenokartsinoomi puhul võib olla üleekspresseeritud Gal-GalNac molekul. Bakteri kolonisatsioon aga korreleerub disahhariidi Gal-GalNac ekspressiooniga tuumorirakkudel. BFap2 lektiiniga bakterid tunnevad ära Gal-GalNac molekuli ja seonduvad sellega, mõjutades edaspidist kasvaja arengut (18).

Sapipõievähk on harva esinev kasvaja, mida on keeruline diagnoosida spetsiifiliste sümptomite puudumise tõttu. Sapipõievähki seostatakse *Salmonella enterica serovar Typhi* (*S. typhi*) kroonilise infektsiooniga, kuna bakterivastaseid antikehi on leitud sagedamini sapipõievähki põdevatel isikutel võrreldes tervete või kolelitiaasiga põdevate inimestega (19). *S. typhi* produtseerib sarnaselt *H. hepaticus*'ega CDTd, mis tekitab DNA kaheaheelalisi katkeid ja blokeerib pöördumatult rakutsükli G2-faasis (8, 20). Lisaks aktiveeruvad DNA katkemise järel beetakateniini rada (1) ja MAPK signaalrada, mis kontrollivad raku proliferatsiooni, kasvu ja apoptoosi (20). *S. typhi* produtseerib samuti kartsinogeenseid glükuronidaase, nitroosühendeid (20) ja kapslis olevat polü-

sahhariidi, mis vaigistab immuunvastust limaskestas ja soodustab kroonilise põletiku foonil kasvaja arengut (19).

Kopsuvähi etioloogiliseks teguriks arvatakse olevat *Chlamydia pneumoniae*, mis on atüüpilise ning pikalt kulgeva pneumoonia tekitaja. Bakteri kolonisatsiooni selgitamiseks kasutatakse bakteriaalse valgu CHSP-60 antikehade määramist ning on täheldatud, et antikehade tiitri tõus on seotud kopsu lamerakulise vähi, adenokartsinoomi ja suurerakulise vähi tekke riskiga (21). CHSP-60 soodustab IL-10 tootmist ja seeläbi vaigistab apoptoosi ning soodustab kroonilise infektsiooni kulgu. Lisaks tekivad kroonilise põletiku käigus ulatuslikult ROSid, mis kahjustavad DNAd, ning kuhjuvad mutatsioonid suurendavad vähi tekkeriski (5). Samas ei pruugi põletiku indikaator C-reaktiivne proteiin (CRP) sõltuda CHSP-60 seropositiivsusest. On võimalik, et CRP kõrge tase ja CHSP-60 seropositiivsus esinevad põletikulise kahjustuse eri faasides (21).

BAKTERITE MÕJU MEDIKAMENTOOSSELE RAVILE

Keemiaravi

Seedetrakti mikroflooral on teadaolevalt võime mõjutada ravimite toksilisust ja toime efektiivsust. Kuna keemiaraviks kasutatavatel ravimitel on kitsas terapeutiline vahemik, on oluline, et ravi oleks kasutatavate annuste piirides efektiivne ja väheste kõrvaltoimetega (1). Organismi vastust keemiaravile moduleeritakse läbi ksenometabolismi, immuunsüsteemi ja bakteriaalse koosluse. Näiteks soodustavad bakteriaalse RNA metabolism ning B₆- ja B₉-vitamiinid fluoropürimidiinide eelarvimi aktivatsiooni (22). Samuti on baktereid, mis vähendavad keemiaravimite toimet (vt tabel 2). Ravimite annuste suurendamisega kaasnevad sageli kõrvalnähud ning nende leevendamiseks tehakse ravis enamasti paus, vähendatakse ravimi annust või manustamise sagedust (22). Lisaks võib keemiaravi tagajärjel muutuda soole mikrobioomi koosseis, suurenedes *E.coli*, *Clostridium spp.*, *Staphylococcus spp.* ning vähenedes *Bifidobacterium spp.* ja *Bacteroides spp.* osakaal. On võimalik, et probiootikumide manustamine keemiaravi ajal võib vähendada patogeensete mikroobide translokatsiooni ja süsteemse infektsiooni teket (23).

Tabel 2. Keemiaravimi ja bakteri omavaheline koostoime (26, 27)

Ravimi nimi	Ravimi klass	Bakteri nimi	Ravimi toime
Dokсорubitsiin	Kasvajavastane antibiootikum	<i>Streptomyces</i>	Väheneb
Daunorubitsiin	Kasvajavastane antibiootikum	<i>Enterococcus hirae</i>	Väheneb
Gemtsitabiin	Antimetaboliit	<i>Gammaproteobacteriaceae spp.</i>	Väheneb
6-merkaptopuriin	Antimetaboliit	<i>Escherichia coli</i>	Suureneb
Fludarabiinfosfaat	Antimetaboliit	<i>Escherichia coli</i>	Suureneb
Tsüklofosfamiid	Alküüliv aine	<i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>Enterococcus hirae</i>	Suureneb
Mitoksantroon	Topoisomeraasi inhibiitor	<i>Escherichia coli</i>	Väheneb
Etoposiid	Topoisomeraasi inhibiitor	<i>Lactobacillus welshimeri</i>	Väheneb
Irinotekaan	Topoisomeraasi inhibiitor	<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	Suureneb

Üheks tuntud keemiaravimiks on irinotekaan (CPT-11). Irinotekaan inhibeerib ensüümi topoisomeraas-1 (1), mis lõikab DNAd (24). Ravimi kõrvaltoimeks on limaskestapõletik ja diarröa, mida esineb erinevas väljendusastmes 80%-l haigetest (25). Irinotekaani aktiivne metaboliit on SN-38, mis muudetakse maksas mitteaktiivseks metaboliidiks SN-38G-ks glükuronisatsiooni teel ja väljutatakse seejärel sapiga soolde. Bakterite beetaglükuronidaasid (GUD) taastavad aga enterotoksilise SN-38 aktiivse vormi (22). CPT-11 toksilisuses etendavad osa *Enterobacteriaceae spp.*, mille osakaal kasvab vähiga seotud düsbioosi korral. Nad on võimelised läbima CPT-11 kahjustatud soolebarjääri ning põhjustama lipopolüsahhariidi tõttu süsteemset põletikku. Samas on täheldatud, et GUD ja SN-38 kontsentratsioon umbsooles on omavahel negatiivses korrelatsioonis, mis vihjab sellele, et GUD ei ole põhiline tegur, mis SN-38 taset määrab (23).

Terapeutilised ühendid aktiveeritakse rakusiseselt, kuid nad võivad alluda enne raku jõudmist bakterite põhjustatud ensümaatilisele biotransformatsioonile, mis vähendab ravimi terapeutilist potentsiaali. Näiteks on *Streptomyces*'e perekonna bakterid võimeline vähendama tsütotoksilise doksorubiini toimet läbi deglükosüleerimise ensüümiga NADH hüdrogenaas (26). Ravimite metabolismis etendab osa ka gammaproteobakterite klassi ensüüm tsütidiini deaminaas (CDDL), mis soodustab resistentsust gemtsitabiini suhtes. Uuringud on näidanud, et CDDLi suhtes negatiivsete bakterite või gemtsitabiini ning antibiootikumide koosmanustamisel resistentsust ei esine. See omakorda tõestab bakterite osalust ravimite resistentsuse tekkes. Kuna gemtsitabiini kasutatakse pankrease adenokartsinoomi ravis, on ebatõhusat ravitulemust hakatud seostama just *Streptomyces*'e perekonna bakteritega. Seetõttu on võimalik, et mõjutades gemtsitabiini efekti läbi mikroobide, saaks parandada ravitulemust selle madala elulemusega vähi korral (27).

Moduleerides immuunsüsteemi tööd, tõstavad bakterid oksaliplatiini efektiivsust. Mikrofloora suunab müeloidrakke tootma rohkelt ROSe, tekitades intratumoraalse oksüdatiivse stressi, mis toetab oksaliplatiini rakusurmale viivat DNA kahjustavat mõju (1). Loomkatsetest on selgunud,

et antibiootikumide kasutamise järel väheneb ROSide geenide ekspressioon ja DNA kahjustuse ulatus oksaliplatiini poolt (22). Samuti on teada, et grampositiivsed *Lactobacillus johnsonii* ja *Enterococcus hirae* suunavad naiivsete CD4+ T-rakkude diferentseerumist tsütotoksiliste Th1 ja Th17 suunas. Selline toime on ka keemiaravimil tsüklofosfamiidil, mis põhjustab kasvaja immunogeenset surma. Märkimisväärne on see, et tsüklofosfamiidi toime kahjustub soolebarjäär ja toimub just *L. johnsonii* ja *E. hirae* translokatsioon lümfisõlmedesse ja põrna. Bakterite rolli lümfotsüütide diferentseerumisel keemiaravis tõestab asjaolu, et laiahaardelise mikroobivastase ravi järel väheneb vähivõitluses oluliste IL-17 ja gammainterferooni tootmine splenotsüütides vastusena tsüklofosfamiidile (27).

Immuunravi

Immunoteraapia on uusim edusamm kasvaja ravis, mille korral kasutatakse vaktsiine, tsütokiine ja monokloonseid antikehi. Nende eeliseks on aktiveeritud immuunsüsteemi sihitud toime kasvajakrakkudele. Samas jäävad organismi terved koed mõjutamata (29). On tõenäoline, et mikrobiom mõjutab immuunravi efektiivsust immuunsüsteemi interaktsioonide tõttu. Samas on küsimus, kas bakterid soodustavad või pärssivad immunoteraapia efektiivsust, kuna immuunravi on parema toimega vähipaikmetele, mis jäävad väljapoole ulatuslikult mikroobide poolt koloniseeritud seedetrakti. Näiteks on immuunravi tõhus melanoomi ning põie-, neeru ja kopsukasvajate korral (1).

Kasvajavastases immuunravis on kasutusel immuunkontrollpunkti inhibiitorid, mis tõkestavad CTLA-4 ja selle inhibiitorset toimet T-lümfotsüütide aktivatsioonile lümfisõlmedes, ning antikehad PD-1 retseptori ja PD-1 ligandi (PD-L1) vastu, mis on seotud T-rakkude aktiivsuse pärssimisega perifeerias (29, 30). Ravitulemust soodustab ravile eelnev T-rakkude aktivatsioon tuumori mikrokeskkonnas. Anti-CTLA4 ravi kahjustab limaskesta ning sellele järgnev *Bacteroides spp.* translokatsioon aktiveerib immuunsüsteemi (31). Kahjuks aga raske stress, haigus või antibakteriaalne ravi võivad viia düsbioosini, mis vähendavad raviefekti ja elulemust anti-PD-1 ja anti-CTLA4 korral (32). Bifidobakterite mõjul paraneb samas organismi kontroll tuumori arengu üle, suureneb T-rakkude

hulk perifeerias ja antigeenispetsiifiliste CD8⁺ T-rakkude hulk kasvaja sees (29). Lisaks olemasoleva kasvaja ründamisele on CD4⁺ ja CD8⁺ rakud võimelised takistama ka kasvaja uute kollete teket (33). Bifidobakterite kolonisatsiooni korral on täheldatud ka peamise koesobivuskompleksi (MHC) II osakaalu suurenemist ning dendriitrakkude küpsemist. Bifidobakterite kasvavastast mõju on tõestatud *B. breve*'t ja *B. longum*'i sisaldavate probiootikumide manustamisega hiirtele, kellel selle tagajärjel toimus tuumori infiltratsioon immuunrakkudega ja kasvu aeglustumine. Need bakterid koloniseerivad soolestikku ning interakteeruvad peremeesrakkudega, mis on vajalikud dendriitrakkude funktsiooni moduleerimiseks. Samasugune efekt on saavutatav ka anti-PD-L1 raviga (29).

PD-1 blokaadi resistentsus võib olla tingitud vähesest kasvajarakkude antigeensusest, keemiaravist ja rakuvälistest metaboliitidest (32). Hiiremudelitel anti-PD-1 raviefekti uurides on selgunud, et kliiniline vastus on erinev eri bakteriaalse kooslusega organismidel. Ravile reageerinud hiirtel prevaleerisid *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. longum*, *Klebsiella pneumoniae* ja *Lactobacillus spp.* Mittereageerinutel aga *Ruminococcus obeum*, *Roseburia intestinalis*. Fekaalse mikrobioomi siirdamisel ravile reageerinud ja mittereageerinud hiirtelt steriilsetele hiirtele saavutati samasugune ravivastus PD-1 retseptori antikehale nagu doonoril (34). Lisaks on täheldatud, et kliinilise PD-1 blokaadi tulemusega korreleeruvad lümfotsütaarsed reaktsioonid *Akkermansia muciniphila* vastu ning gammainterferooni kõrge taset seostatakse parema elulemusega selle bakteri poolt koloniseeritud organismidel. *A. muciniphila* ja *E. hirae* soodustavad PD-1 blokaadi ning suurendavad selle efektiivsust düsbioosi ja resistentsuse korral. Võimalik, et selline efekt on saavutatav ka tänu IL-12 sekretsiooni stimuleerimisele dendriitrakkudes (32).

Mikrofloora mõjutamise võimalused

Residentmikroflooral näib olevat roll kasvaja tekke ennetamises ja medikamentoose ravi efektiivsuses. Bakteritel on võime mõjutada immuunsüsteemi: suunata lümfotsüütide diferentseerumist, suurendada nende ja ka interleukiinide sünteesi

perifeerias ning tuumori sees (27, 29, 32). Lisaks medikamentoosele vähiravimitele põhjustavad pikaaegne haiglaravi ning laiatoimelised antibiootikumid niigi immuunkomprimeeritud vähihaigetel düsbioosi. Kuigi kliinilist tõendusmaterjali sellel alal on veel vähe, on välja pakutud mikrofloora mõjutamiseks dieeti, pre- ja probiootikume ning fekaalset mikrobioomi transplantatsiooni (FMT) (vt tabel 3) (35).

Prebiootikumid on toidu mitteseeduvad koostisosad, mis alluvad soolestikus mikrofloorapoolsele fermentatsioonile. Selle tagajärjel tekivad lühikese ahelaga rasvhapped nagu atseet-, propioon- ja butüülhape. Neil rasvhapetel on põletikuvastane toime müeloidrakkudele ja reguleerivatele T-lümfotsüütidele (1), lisaks stimuleerivad nad kommensaalsete bakterite kasvu sooles (36).

Bakteriaalseid preparaate sisaldavad probiootikumid võivad tõrjuda patogeenset mikrofloorat, toetada residentmikrofloora ensümaatilist aktiivsust (36) ning siduda ja metaboliseerida kartsinogeene (36, 37). Mitmes uuringus on selgunud bifidobakterite seos ravi hea efektiivsusega (29, 34, 38), lisaks on *in vitro* mudelitel näidatud probiootilise *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) antimetastaatilist ja -proliferatiivset toimet (39). Teades vähiravile soodsalt

Tabel 3. Mikrofloora mõjutamise eelised ja puudused kasvajate ravis (35–38)

Mikrofloora mõjutamise viis	Eelised (+) ja puudused (–)
Prebiootikumid	+ Alluvad mikrofloorapoolsele fermentatsioonile, selle tulemusena tekivad põletikuvastased LARHd + Toetavad kommensaalset mikrofloorat – Vähe kliinilisi uuringuid
Probiootikumid	+ Seovad ja metaboliseerivad kartsinogeene + Epiteliaalbarjääri kaitse + Suurendavad ravi efektiivsust – Vähe kliinilisi uuringuid
FMT	+ Komplekse mikrofloora siirdamine + Vähiravi tüsistuste leevendamine – Infektsiooni risk – Vähe kliinilisi uuringuid

LARH – lühikese ahelaga rasvhapped; FMT – fekaalne mikrobioota transplantatsioon

mõjuvaid baktereid, saaks sünteesida vastavaid probiootikume või kombinatsioone prebiootikumidega. Näiteks manustati ühe topeltpimeda platseebokontrolliga juhuslikustatud uuringu vältel kolorektaalvähiga patsientidele sümbiootikumi, mis sisaldas inuliini, LGGd ja *B. lactis*'t. Selle manustamine taastas epiteliaalse barjääri ning vähendas kolorektaalse vähi proliferatiivsust (36).

FMT on soole mikrofloora siirdamine seedetrakti ülemise või alumise tee kaudu tervelt doonorilt haigele patsiendile. Seda manustatakse kapslina, nasogastraal- või duodenaalsondi, klistiiri või kolonoskoopia teel (35). FMTd soovitatakse *Clostridium difficile* korduvate infektsioonide raviks. FMT on tõhus ka immuunravist tingitud koliidi ravis (35). Nõrgenenud immuunsuse korral võib aga FMT põhjustada täiendavaid infektsioone. Nende ärahoidmiseks võiks kasutada autoloogset FMTd, kuid kolorektaalvähiga korral on risk maliigsuse taastekkeks (35).

Mikrofloora mõjutamine on vajalik nii kasvaja ennetamiseks kui ka medikamentoose ravi toetamiseks ning selles valdkonnas on vaja teha täiendavaid uuringuid. Vähihaige mikrofloora taastamises, eriti FMT osas, ja raviefektiivsuse jälgimises võiks onkoloogid, gastroenteroloogid ja mikrobioloogid teha koostööd.

KOKKUVÕTE

Bakterid võivad osaleda kartsinogeneesis ning praegu on maailmas tunnustatud kartsinogeenseks kuni 10 bakterit. Bakterite virulentsusfaktorite ja kroonilise põletiku mõjul tekivad DNA kahjustused ning toksiinide mõjul aktiveerub rakkude polaarsust ja kasvu reguleeriv Wnt/beeta-kateniini rada. Samuti on viiteid, et mõni bakter on võimeline immuunsüsteemi vaigistama ning ei ole teada, kas selline immuunreaktsioonide pidurdamine kaitseb tuumori eest või hoopis soodustab tuumori edasist kasvu. Lisaks eeltoodule on bakteritel võime reguleerida keemiaravimite toksilisust ja efektiivsust. Keemiaravi korral väheneb limaskesta intaktsus ning bakterite translokatsioon aktiveerib lümfotsüüte ja dendriittrakke. Samuti on täheldatud, et immuunravile tuumori regressiooniga vastanud organismidel on liigiliselt sarnane mikrofloora. Kokkuvõttes võib öelda, et bakterite osa onkoloogias vajab põhjalikku

uurimist, kuna neid teadmisi saab kasutada vähiriski prognoosimiseks, vähi varaseks diagnoosimiseks ja medikamentoose ravi efektiivsuse suurendamiseks.

VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autoritel puudub huvikonflikt seoses artikliga.

SUMMARY

The role of bacteria in carcinogenesis and efficacy of cancer drug therapy

Anna-Marija Sljusartšuk¹
Supervisor: Jana Jaal²

Bacteria can participate in carcinogenesis and up to 10 bacteria, among them *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* and *Bacteroides fragilis*, are identified worldwide as carcinogenic. Factors of bacterial virulence and chronic inflammation induce DNA damage and toxins activate cellular polarity and the growth modulating Wnt/beta-catenin pathway. Bacteria-induced chronic inflammation stimulates development of cancer, due to the continuously high level of reactive oxygen species. In addition, microbes have an impact on the therapeutic efficacy and toxicity of the cancer drug. Irinotecan toxicity depends on bacterial beta-glucuronidases and cyclophosphamide efficacy is supported by *Lactobacillus johnsonii* and *Enterococcus hirae*, which are associated with naïve CD4⁺-cells differentiation. The microbiota has also a role in mediating the efficacy of immune checkpoint inhibitors.

KIRJANDUS / REFERENCES

1. Garrett SW. Cancer and the microbiota. *Science* 2015;348:80–6.
2. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol* 2016;14:e1002533.
3. Dunne C, Dolan B, Clyne M. Factors that mediate colonization of the human stomach by *Helicobacter pylori*. *World J Gastroenterol* 2014;20:5610–24.
4. Abdulamir AS, Hafidh RR, Bakar FA. The association of *Streptococcus bovis/gallolyticus* with colorectal tumors: The nature and the underlying mechanisms of its etiological role. *J Exp Clin Cancer Res* 2011;30:11.
5. Littmann AJ, Jackson LA, Vaughan TL. *Chlamydia pneumoniae* and lung cancer: epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:773–8.
6. Aldinucci D, Casagrande N. Inhibition of the CCL5/CCR5 axis against the progression of gastric cancer. *Int J Mol Sci* 2018;19:1477.
7. Palframan SL, Kwok T, Gabriel K. Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:92.
8. Falsafi T, Mahboubi M. *Helicobacter hepaticus*, a new pathogenic species of the *Helicobacter* genus: Similarities and differences with *H. pylori*. *Iran J Microbiol* 2013;5:185–94.

¹ student, Faculty of Medicine, University of Tartu, Estonia,

² Haematology and Oncology Clinic, Tartu University Hospital, Tartu, Estonia

Correspondence to: Anna-Marija Sljusartšuk maria.slyusarchuk@gmail.com

Keywords: malignant tumours, carcinogenic bacteria, microbiota, cancer drug therapy

9. Garcia A, Zeng Y, Muthupalani S, et al. *H. hepaticus*-induced liver tumor promotion is associated with increased serum bile acid and a persistent microbial-induced immune response. *Cancer Res* 2011;71:2529–40.
10. Raisch J, Rolhion N, Dubois A, et al. Intracellular colon cancer-associated *Escherichia coli* promote protumoral activities of human macrophages by inducing sustained COX-2 expression. *Lab Invest* 2015;95:296–307.
11. Wassenaar TM. *E.coli* and colorectal cancer: a complex relationship that deserves a critical mindset. *Crit Rev Microbiol* 2018;44:619–32.
12. Purcell RV, Pearson J, Aitchison A, et al. Colonization with enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* is associated with early-stage colorectal neoplasia. *PLoS One* 2017;12:e0171602.
13. Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, et al. The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. *Clin Infect Dis* 2015;60:208–15.
14. Aymeric L, Donnadiou F, Mulet C, et al. Colorectal cancer specific conditions promote *Streptococcus gallolyticus* gut colonization. *PNAS* 2018;115:283–91.
15. Katouli M. Population structure of gut *Escherichia coli* and its role in development of extra-intestinal infections. *Iran J Microbiol* 2010;2:59–72.
16. Firsanov DV, Solovjeva LV, Svetlova MP. H2AX phosphorylation at the sites of DNA double-strand breaks in cultivated mammalian cells and tissues. *Clin Epigenetics* 2011;2:283–97.
17. Lee YK, Mehrabian P, Boyajian S, et al. The protective role of *Bacteroides fragilis* in a murine model of colitis-associated colorectal cancer. 2018; mSphere 3:e00587-18.
18. Abed J, Emgård JE, Zamir G, et al. Fap2 mediates fusobacterium nucleatum colorectal adenocarcinoma enrichment by binding to tumor-expressed Gal-GalNAc. *Cell Host Microbe* 2016;20:215–25.
19. Koshiol J, Wozniak A, Cook P, et al. Salmonella enterica serovar Typhi and gallbladder cancer: a case-control study and meta-analysis. *Cancer Med* 2016;5:3310–235.
20. Di Domenico EG, Cavallo I, Pontone M, Toma L, Ensoli F. Biofilm producing salmonella typhi: chronic colonization and development of gallbladder cancer. *Int J Mol Sci* 2017;18:1887.
21. Chaturvedi AK, Gaydos CA, Agreda P, et al. *Chlamydia pneumoniae* infection and risk for lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:1498–505.
22. Pouncey AL, Scott AJ, Alexander JL, Marchesi J, Kinross J. Gut microbiota, chemotherapy and the host: the influence of the gut microbiota on cancer treatment. *Ecancermedicalscience* 2018;12:868.
23. Lin XB, Farhangfar A, Valcheva R, et al. The role of intestinal microbiota in development of irinotecan toxicity and in toxicity reduction through dietary fibres in rats. *PLoS One* 2014;9:e83644.
24. NCBI. 2019. DNA Topoisomerase I. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7150>
25. Lin XB, Dieleman LA, Ketabi A, et al. Irinotecan (CPT-11) chemotherapy alters intestinal microbiota in tumour bearing rats. *PLoS One* 2012;7:e39764.
26. Lehouritis P, Cummins J, Stanton M, et al. Local bacteria affect the efficacy of chemotherapeutic drugs. *Sci Rep* 2015;5:14554.
27. Geller LT, Barzily-Rokni M, Danino T, et al. Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine. *Science* 2017;357:1156–60.
28. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013;342:971–6.
29. Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015;350:1084–9.
30. Adamson A, Oselin K. Immuunteraapia onkoloogias. *Eesti Arst* 2016; 95:401–5.
31. Rea M, Coppola G, Palma G, et al. Microbiota effects on cancer: from risks to therapies. *Oncotarget* 2018;9:17915–27.
32. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1 based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* 2018;359:91–7.
33. Song S, Vuai MS, Zhong M. The role of bacteria in cancer therapy - enemies in the past, but allies at present. *Infect Agent Cancer* 2018;13:9.
34. Matson V, Fessler J, Bao R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science* 2018;359:104–8.
35. Chen D, Wu J, Jin D, et al. Fecal microbiota transplantation in cancer management: Current status and perspectives. *Int J Cancer* 2019;145:2021–31.
36. Hendler R, Zhang Y. Probiotics in the treatment of colorectal cancer. *Medicines* 2018;5:101.
37. Gorska A, Przystupski D, Niemczura M, J, Kulbacka J. Probiotic bacteria: A promising tool in cancer prevention and therapy. *Curr Microbiol* 2019;76:939–49.
38. Gharaibeh R, Z, Jobin C. Microbiota and cancer immunotherapy: in search of microbial signs. *Gut* 2019;68:385–8.
39. Vivarelli S, Salemi R, Candido S, et al. Gut microbiota and cancer: from pathogenesis to therapy. *Cancers (Basel)* 2019;11:38.

Igal neljandal noorel inimesel USAs on prediabeet

Prediabeet on paljudel juhtudel 2. tüüpi diabeedi eelvorm, kroonilise neeruhaiguse ning kardiovaskulaarsete haiguste tõsine riskitegur.

USAs tehtud uuringus selgitati riiklike toitumis- ja terviseuuringute andmebaaside andmeil prediabeedi levimust noorukite (vanus 10–18 a) ja noorte täiskasvanute (vanus 19–35 a) hulgas. Prediabeedi kriteeriumiteks peeti veresuhkrunäitu tühja kõhuga 6,1–6,9 mmol/l, glükoositaluvuse testi (veresuhkrunäit 2 tundi pärast 75 g

glükoosi manustamist) väärtust 7,8–11,0 mmol/l või glükeeritud hemoglobiini kontsentratsiooni 5,7%–6,4%.

Tulemuste analüüsil ilmnes, et ühel noorukil viiest ning ühel noorel täiskasvanul neljast on prediabeet. Häire on enam levinud poiste hulgas (22,5%-l) kui tüdrukute seas (13,4%-l), samuti enam noorte meeste (29,1%-l) kui noorte naiste seas (18,8%-l) Prediabeet esines sagedamini adipoosetel ja ülekaalulistel isikutel. Nii olid 25,7% prediabeediga noorukitest ning 36,9% noortest täiskasvanutest ülekaalulised või adipoossed. Samuti oli prediabeediga nooru-

kitel ning noortel inimestel halvem kardiometaaboolne profiil – kõrgem LDL-kolesterooli tase veres, kõrgem süstoolne vererõhk ning tsentraalne rasvumine.

Selle uuringu taustal on muretekitavad Eesti Tervise Arengu Instituudi 2019. aasta kevadel avaldatud andmed, mille kohaselt iga neljas esimese klassi laps Eestis on ülekaaluline või rasvunud – 29% poistest ning 23% tüdrukutest.

REFEREERITUD

- Andes LJ, Cheng YJ, Rolka DB, et al. Prevalence of prediabetes among adolescents and young adults in the United States, 2006–2016. *JAMA Pediatr* Dec 2019, doi:10.1001/jamapediatrics.2019.4498.
- Kuehn B. Prediabetes in youth. *JAMA* 2020;323:302.

LÜHIDALT