

Ю.В. Швець^{1,2},
Н.О. Безденежних¹,
О.О. Лихова¹

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.04.237>

МІКРОБІОМ ТА АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ — СИНЕРГЕТИЧНІ ФАКТОРИ ПУХЛИННОЇ ПРОГРЕСІЇ

¹ Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України,

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

Ключові слова: мікробіом, активні форми кисню (АФК), рак, пухлинне мікрооточення (ПМО).

Мікрооточення пухлини — унікальний склад клітинних і розчинних факторів, що асоційовані із розвитком пухлинного процесу. Серед цих факторів — стромальні та ендотеліальні клітини, клітини імунної системи, компоненти позаклітинного матриксу та цитокіни. Нещодавно до компонентів пухлинного мікрооточення було віднесено і мікробіом, що є однією із ключових складових для підтримки гомеостазу будь-яких органів і тканин організму людини. Клітинні елементи мікрооточення є взаємопов'язані та взаємозалежні. Такий вплив реалізується із залученням розчинних факторів, серед яких роль «дволикого Януса» відіграють активні форми кисню (АФК). В огляді наведено дані щодо значення АФК для активності клітин імунної системи та мікробіому. Розглянуто механізми впливу мікробіому за участі АФК на пухлинний процес.

Пухлинні клітини мають особливий тип метаболізму: порівняно з нормальними, зляккісно трансформовані клітини отримують енергію завдяки більш високій інтенсивності гліколізу, аніж окисного фосфорилування за участі мітохондрій, що відомо як ефект Варбурга (Warburg effect) [1, 2]. У пухлинних клітинах відбувається пере програмування метаболізму, що сприяє змінам синтетичних процесів безпосередньо в самих пухлинних клітинах та впливає на пухлинне мікрооточення (ПМО). Склад ПМО відрізняється залежно від гістологічного типу пухлини, але в класичному баченні ключовими складовими мікрооточення є імунні клітини, клітини строми та кровоносних судин, а також позаклітинний матрикс, що містить у тому числі розчинні фактори, які секретуються як пухлинними, так і непухлинними клітинами. Між зляккісно трансформованими клітинами та компонентами ПМО розвивається взаємний динамічний зв'язок, який підтримує виживання пухлинних клітин, їхню місцеву інвазію та метастатичну дисемінацію [3].

Нещодавно новим компонентом ПМО визнано внутрішньопухлинний мікробіом, який має надзвичайно тісний та складний взаємозв'язок з пухлиною [4]. Мікробіом (мікробіота) є однією із ключових складових для підтримки гомеостазу будь-яких органів і тканин організму людини. Порушення цього гомеостазу асоційоване з ініціацією та розвитком патологічних процесів в організмі, у тому числі з розвитком зляккісних новоутворень [5–7].

Нині описано багато механізмів впливу мікробіоти на розвиток зляккісних новоутворень людини. Серед них найкраще вивченими є механізми прямого канцерогенного впливу, які демонструють бактерії видів *Fusobacterium nucleatum*, *Helicobacter*

pylori, ентеротоксигенні варіанти *Bacteroides fragilis*, *pks+* *Escherichia coli*. Також представники мікробіоти діють опосередковано через модуляцію активності імунної системи. Доведено, що самі клітини бактерій, як комплексні антигени, складові клітинної стінки — пептидоглікан (*peptidoglycan*, PGN) та ліпополісахарид (*lipopolysaccharide*, LPS), а також метаболіти бактерій: коротколанцюгові жирні кислоти (*short-chain fatty acids*, SCFAs) та вторинні жовчні кислоти (*secondary bile acids*, sBAs) — суттєво впливають на напрямок і потужність розвитку імунних реакцій. Імунна відповідь, у свою чергу, є важливим чинником контролю розвитку пухлинного процесу в організмі людини [8, 9].

Останнім часом все більше уваги привертають механізми залучення представників мікробіоти людини до загальних метаболічних процесів в макроорганізмі на молекулярному, клітинному, тканинному та системному рівнях [10, 11]. Доведено, що вплив мікробіоти на метаболізм організму людини є надзвичайно потужним. Загалом в процесі метаболізму відбувається генерування і трансформація енергії з різних біологічних субстратів, при цьому утворюється низка низькомолекулярних сполук — метаболітів, які, як стало нині відомо, мають властивості не тільки сигнальних молекул, але й субстанцій, що забезпечують комунікацію між різними царствами живих істот, зокрема бактерій та еукаріот. Одними з таких молекул є і активні форми кисню (АФК) [12].

Активні форми кисню та розвиток пухлинного процесу. АФК не є назвою певної речовини — це термін, під яким розуміють цілу низку сполук, що утворюються при окисно-відновних реакціях в клітині або під час збудження електронів [13]. Різні форми АФК мають особливі відмінні властивості щодо їхньої реактивності, місць та кінетики про-

дукції, а також деградації [14]. Внутрішньоклітинні АФК генеруються у різних органелах клітини: ендоплазматичному ретикулумі, ядрі, пероксисомах та мітохондріях. АФК загалом поділяють на дві групи: нерадикальні та вільнорадикальні сполуки в залежності від стану електронів, спареного чи неспареного, відповідно. До нерадикальних сполук відносять перекис водню (H_2O_2), синглетний кисень (1O_2), гіпохлорну кислоту ($HOCl$). Серед вільнорадикальних АФК розглядають супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\bullet-}$), гідроксильний радикал ($\bullet OH$), пероксильний радикал ($ROO\bullet$). У будь-якій клітині зазвичай рівні АФК підтримуються збалансованою роботою біохімічних систем генерування та інактивації (антиоксидантні системи). Тривалий час АФК розглядали як токсичні для клітини речовини, оскільки їх підвищений вміст у клітині призводить до невибіркового і незворотного окиснення, яке веде до пошкодження таких біомакромолекул як ДНК, ліпіди, білки, що далі може призводити до загибелі клітини, а на системному рівні — до розвитку певних патологічних станів. На сьогодні з'ясовано, що АФК мають неоднозначні функції у клітині і можуть регулювати різноманітні біохімічні процеси в ній [14].

Існують певні механізми, які контролюють утворення і знешкодження АФК, що підтримує їх певний баланс та фізіологічні рівні. Це включає локалізовану генерацію АФК (компаратменталізацію окисно-відновних процесів) та функціонування антиоксидантних систем і кофакторів, здатних здійснювати детоксикацію утворених АФК. Найбільш фізіологічно значущими АФК є $O_2^{\bullet-}$ та H_2O_2 , що утворюються послідовно. Відомо, що $O_2^{\bullet-}$ та H_2O_2 продукуються у мітохондріях, ендоплазматичному ретикулумі, пероксисомах та ядрі. Проте, основним джерелом АФК у еукаріотичних клітинах тваринного походження вважають електронно-транспортні системи мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму, а також відомий NADPH-оксидазний комплекс відновлення кисню [15]. Високі концентрації АФК є небезпечними для живих систем, оскільки спричиняють оксидативне пошкодження ключових макромолекул клітин: ДНК, білків та ліпідів. АФК у низьких і помірних концентраціях виконують сигнальну функцію у складних процесах експресії генів, диференціювання, проліферації, апоптозу та відповіді на стрес [16, 17].

Яким чином АФК пов'язані з розвитком злоякісних новоутворень людини? Розглядають декілька аспектів цієї проблеми. У здорових клітинах в умовах гомеостатичної рівноваги система окисно-відновних реакцій збалансована, що підтримує внутрішньоклітинний вміст АФК на низькому рівні. Проте такі канцерогенні фактори як порушення метаболізму, паління, вплив радіації підвищують рівні АФК, що призводить до утво-

рення випадкових мутацій у ДНК, генетичної нестабільності, появи мутацій у протоонкогенах та генах-супресорах пухлинного росту. Це зазвичай проявляється у передпухлинних ушкодженнях. Такі білки-супресори пухлинного росту, як p53 можуть бути активовані у відповідь на пропухлинні стимули, що призводить до репарації ДНК і активації транскрипції генів антиоксидантної відповіді [18].

У тому випадку, коли активність репаративних систем не є достатньою, рівень АФК та/чи антиоксидантів зростає, що виводить баланс окисно-відновних процесів в клітині на новий рівень. Це сприяє активації внутрішньоклітинних онкогенних сигнальних шляхів і підтриманню функціональності клітинних компонентів у пухлинних клітинах. Такі біохімічні шляхи в клітині часто пов'язані з підвищеним рівнем проліферації, виживання, метастазування, продукції цитокінів і набуття фенотипу медикаментозної резистентності. Надмірне збільшення АФК, яке переважає активність антиоксидантної системи, провокує критичне порушення окисно-відновного балансу, що завершується апоптозом та некрозом. У цей момент активація p53 внаслідок суттєвого пошкодження клітин може індукувати зупинку клітинного циклу та загибель клітин, що наводить на думку, що різна відповідь на АФК залежить від молекулярного профілю пухлинної клітини та її p53-статусу [18].

Існують докази того, що під час злоякісної трансформації АФК можуть відігравати роль як промотерів, так і супресорів цього процесу, що відображає різні ефекти АФК на різних стадіях пухлинного процесу. Відмічається, що у пухлинних клітинах базовий рівень АФК зазвичай вище, ніж у відповідних нормальних клітинах. Підвищені рівні АФК необхідні для підтримання механізмів проліферації, ангіогенезу, метастазування та уникнення загибелі клітини, а також активації антиоксидантних та детоксикаційних систем.

Все більше даних з'являється щодо критичної ролі АФК у модулюванні різних етапів метастазування пухлини [19, 20]. Надмірна кількість АФК спричиняє інвазію пухлини та підвищує міграційну здатність злоякісно трансформованих клітин. Наприклад, прозапальний цитокін IL-17A стимулював інвазію клітин аденокарциноми стравоходу через АФК-NF κ B-залежну активацію ферменту металопротеїнази-9 (ММР-9), а H_2O_2 сприяв інвазії клітин раку товстої кишки шляхом посилення експресії ММР-7 [21, 22]. NOX (NADPH-оксидаз)-опосередковані АФК відіграють вирішальну роль у модулюванні міграції пухлинних клітин шляхом збільшення експресії та активності ММР. Ці ефекти можуть блокуватися низкою антиоксидантів, що свідчить про залучення АФК до механізмів інвазії пухлинних клітин.

Було показано, що епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП), який є ключовим регулятором метастатичного процесу, також регулюється за участі АФК. За даними J. Jiang et al було виявлено підвищення рівня АФК під час ЕМП у індукованих трансформуючим фактором росту β (*transforming growth factor beta*, TGF- β) пухлинних клітинах [23]. Відомо, що АФК активують ЕМП, залучаючи різні сигнальні шляхи, включаючи E-кадгерин, N-кадгерин, віментин та Snail [24]. Крім того, рівень фактору транскрипції Nrf2, що відповідає за продукцію антиоксидантних ферментів клітини, негативно корелює з великою кількістю TGF- β , ЕМП та міграцією клітин у пацієнтів з раком легені [25]. Багато антиоксидантів, включаючи куркумін, резвератрол і коензим Q10, можуть пригнічувати агресивний метастатичний фенотип клітин злоякісних пухлин шляхом інгібування ЕМП.

Мікробіота може по-різному впливати на ЕМП. Певні бактерії-коменсали сприяють ЕМП, інші — залучені до зворотного процесу — мезенхімально-епітеліального переходу (МЕП). Наприклад, було показано, що грамнегативні коменсали пародонту, що спричиняють запальні стани ясен, також сприяють ЕМП, що підтверджується зменшенням експресії E-кадгерину та підвищенням експресії білків Snail1, віментину та N-кадгерину в клітинах епітелію тканини ясен [26]. Наприклад, генотоксичні штами *Escherichia coli*, що продукують колібактин, індукують пошкодження ДНК в клітинах епітелію кишечника і сприяють підвищенню рівня АФК та активації Erk-залежних сигнальних шляхів. Активація Erk веде до стимуляції експресії віментину та N-кадгерину і як наслідок — ЕМП (рис. 1). Багато бактерій взаємодіють з тканинними макрофагами через толл-подібні рецептори (*toll like receptors*, TLR) і запускають їх активацію за класичним шляхом M1. Такі M1 макрофаги далі продукують прозапальні цитокіни (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) та АФК внаслідок активації різних сигнальних шляхів.

Прозапальні цитокіни можуть активувати у клітинах епітелію фактори транскрипції STAT3 та NF- κ B та відповідні сигнальні шляхи. Далі це веде до активації онкогена *c-myc* та металопротеїназ типу MMP-13, що сприяє розвитку хронічного запалення та ЕМП. Фактори патогенності певних бактерій-коменсалів кишечника, як відомо, прямо задіяні до сприяння ЕМП. Наприклад, адгезин *Fusobacterium nucleatum* Fad та токсин *Bacteroides fragilis* індукують порушення експресії E-кадгерину та задіють β -катенін/Wnt-залежний сигнальний шлях, що також призводить до активації факторів транскрипції STAT3 та NF- κ B [27].

Хоча найбільше інформації нині щодо залучення мікробіому в ЕМП при прогресуванні пухлинного процесу стосується колоректального раку,

а даних щодо раку молочної залози у цьому аспекті обмежена кількість, тим не менш виявлено наприклад, що *Listeria fleischmannii* пов'язана з генами, залученими до ЕМП, а різні метаболіти мікробіоти (такі як кадаверин) відіграють роль пухлинного супресора при раку молочної залози, обумовлюючи реверсію ЕМП та зменшуючи стовбурові характеристики пухлинних клітин, їх рухливість та метастатичні властивості [28]. Слід додати, що мікробіота молочної залози має суттєво інший склад, ніж мікробіота кишечника, і може чинити власний незалежний вплив на ПМО молочної залози. Однак переміщення бактерій з кишечника в молочну залозу впливає на патогенез раку молочної залози [29], у тому числі і шляхом дії на процес ЕМП клітин, зокрема кадаверин та вторинний продукт жовчних кислот літохолева кислота (*lithocholic acid*, LCA) [30, 31], як згадувалося вище.

Як відомо, набуття епітеліальними клітинами мезенхімальних властивостей є фенотиповим ефектом глибокого молекулярного та клітинного перепрограмування [32, 33].

Отже, мікробіом впливає як на ЕМП так і зворотній процес — МЕП, діючи на кілька сигнальних шляхів, оскільки модуляція ЕМП/МЕП має ключові наслідки для перебігу пухлинного процесу та прогнозу захворювання в цілому, деталізація механізмів є надзвичайно актуальним напрямком для розробки нових цільових способів та стратегій лікування. Через складність сигнальних шляхів, на які діють певні бактерії (та/або їх метаболіти),

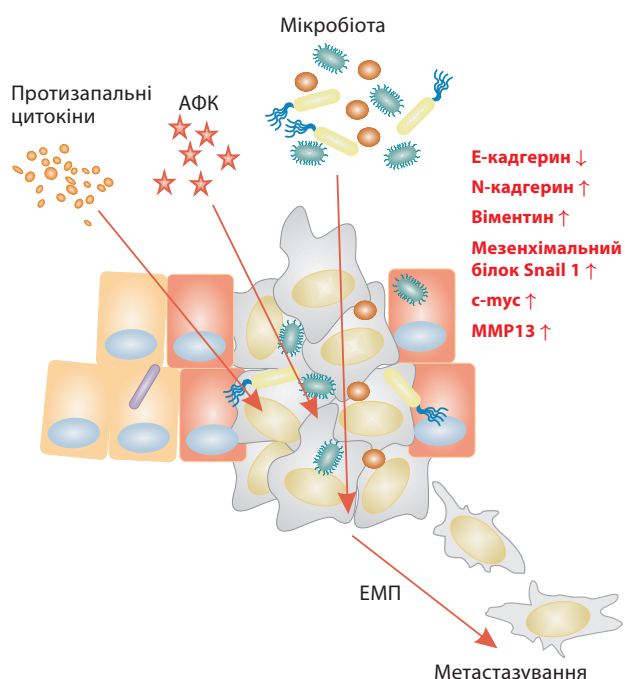


Рис. 1. Вплив мікробіоти, активних форм кисню та прозапальних цитокінів на активацію епітеліально-мезенхімального переходу

проблема полягає у розробці нових технологічних підходів для молекулярного виявлення та біоінформаційного аналізу ланок, на які потенційно впливає мікробіом та дисбактеріоз. Зокрема є приклади, де фосфопротеоміка на основі мас-спектрометрії, інтегрована з транскриптомікою вже сьогодні дозволяє створювати повну карту білків, включаючи і фактори ЕМП після бактеріальної інфекції [34].

Активация програми ЕМП в пухлинних клітинах пов'язана також із інфільтрацією асоційованих з пухлиною макрофагів (ПМ), які перепрограмовуються мікрооточенням пухлини для підтримки ремоделювання позаклітинного матриксу, ангиогенезу, імуносупресії та продукують розчинні фактори росту (HGF, EGF, TGF- β , PDGF) і прозапальні цитокіни (IL-1 β , IL-6 та TNF α), що, в свою чергу, і можуть індукувати процес ЕМП пухлинних клітин. [29, 35]. Також за актуальними повідомленнями є дані, що використання антибіотиків широкого спектру дії незадовго до або після початку блокади PD-1/PD-L1 може бути пов'язане з поганим клінічним результатом у хворих на рак і це свідчить про важливу роль мікробіоти в імунному нагляді за пухлинним процесом [36]. При цьому молекулярні механізми взаємодії бактерій з еукаріотичною клітиною можуть включати зв'язок ЕМП з імуносупресією через miR-200/Zeb1, що регулює експресію PD-L1 на пухлинних клітинах, і подальше виснаження ефекторних Т-клітин [37].

Ріст пухлини, як правило відбувається за умов гіпоксії. Гіпоксія стимулює вироблення мітохондріальних АФК, а пухлинні клітини продукують вищі рівні АФК, ніж нормальні тканини, що може впливати на функцію інших клітин пухлинного мікрооточення, а саме на пухлино-асоційовані фіброласти (ПАФ) [38]. Велика частина ПАФ експресує гладком'язовий α -актин (*smooth muscle actin*, α -SMA) і називається міофіброластами: за даними дослідників АФК приймають активну участь у набутті фіброластами характеристики міофіброластів, у тому числі і шляхом модуляції TGF- β 1 та SDF-1 [39, 40]. Крім того, фіброласти, що піддаються хронічному окислювальному стресу, також можуть диференціюватися в міофіброласти. За даними авторів [41] при раку яєчників АФК можуть індукувати експресію TGF- β 1, NF- κ B і STAT3 у ПАФ для їх активації. До того ж АФК також можуть індукувати диференціювання міофіброластів шляхом посилення експресії ліганду-12 хемокіну (мотив C-X-C), одночасно знижуючи експресію кавеоліну 1 (CAV1) [42]. АФК також можуть відігравати важливу роль у регуляції аутофагії ПАФ. При раку молочної залози підвищення рівня АФК може активувати експресію HIF-1 α та NF- κ B у ПАФ, щоб згодом індукувати їх аутофагію. АФК також можуть регулювати

метаболізм ПАФ. У пухлинних клітинах, навіть в аеробних умовах, гліколіз є дуже активним і характеризується підвищеним поглинанням глюкози та збільшенням секреції молочної кислоти ("ефект Варбурга"). В ПАФ спостерігається подібне явище аеробного гліколізу під впливом пухлинних клітин, яке називається "зворотним ефектом Варбурга" [43]. Під час цього явища окисне фосфорилування пухлинних клітин виробляє велику кількість АФК, що викликає окисний стрес в ПАФ та порушує систему окисного фосфорилування, що призводить до додаткового накопичення АФК і індукує ланцюгову реакцію окиснення: режим метаболізму глюкози в ПАФ змінюється з окисного фосфорилування на гліколіз, в результаті якого продукуються молочна кислота та кетон. Крім того створюється кисле мікросередовище з високим вмістом лактату, яке пригнічує ріст нормальних клітин, одночасно сприяючи проліферації пухлинних клітин і їхньому метастазуванню [41]. Відомо, що інгібування CAV1 за допомогою АФК є одним із рушійних факторів зміни метаболічної моделі ПАФ [44].

Реалізація ефектів мікробіому шляхом модуляції продукції АФК. Нині показано, що мікробіом чинить суттєвий вплив на розвиток пухлини в організмі людини [45]. По-перше, у самій тканині пухлини і навіть всередині пухлинних клітин виявляють бактерії-коменсали, які є невід'ємною частиною пухлин різного гістологічного походження [45, 46]. Механізми їхнього впливу на розвиток пухлини нині активно вивчаються. По-друге, мікробіота кишечника, як найбільш численна, є продуцентом низки субстанцій (PGN, LPS, SCFAs, sBAs, АФК), які модулюють активність імунної системи та метаболізм різних тканин на відстані і в такий спосіб опосередковано впливають на розвиток пухлини. Отже загалом багатьма дослідженнями вже доведено, що мікробіота та її розчинні субстанції є важливим компонентом ПМО.

Мікробіота кишечника може впливати на розвиток пухлинного процесу за декількома варіантами, одним з яких є контакт-залежна взаємодія, яка відбувається локально на поверхні слизової кишечника: мікроорганізми можуть безпосередньо взаємодіяти з поверхнею слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, що призводить до генотоксичного ефекту, модуляції проліферації епітеліальних клітин, регуляції клітинної полярності та модуляції цитоскелету. Іншим варіантом є контакт-незалежна взаємодія, яка відбувається через мікробні метаболіти, що, в свою чергу, модулюють як поведінку пухлинної клітини, так і (із залученням модуляції продукції інтерлейкінів, інтерферону та фактору некрозу пухлин), регуляцію імунного компонента мікрооточення, на сигнальні шляхи АФК та ЕМП. Тоді як внутрішньопухлинна мікробіота може сприяти ініціації та прогресу-

ванню пухлинного процесу через: 1) мутації ДНК (токсини, що виробляються внутрішньопухлинною мікробіотою, можуть безпосередньо пошкоджувати ДНК клітини-господаря або опосередковано через продукцію АФК); 2) активацію сигнальних шляхів канцерогенезу (β -катеніну, WNT та ін); 3) сприяння розвитку хронічного запалення (зокрема і шляхом активації специфічних прозапальних цитокінів та активації сигнального шляху NF- κ B); 4) модуляції системи комплементу та 5) ініціацію метастазування [45].

Розглянемо один з механізмів впливу мікробіоти за участі АФК на ріст пухлини. Цей механізм може реалізуватися різними шляхами. Наприклад, канцерогенна бактерія *H. pylori*, яка здатна виживати у мікрооточенні з підвищеним вмістом АФК, підсилює оксидативний стрес у клітинах епітелію шлунка, що сприяє канцерогенезу [47]. При взаємодії з бактеріями у клітинах епітелію шлунка та тканинних макрофагах збільшується продукція АФК із залученням двох біохімічних шляхів: 1) NADPH-залежного відновлення молекулярного кисню з утворенням $O_2^{\bullet-}$, та 2) шляхом перетворення поліаміну сперміну у спермідин за участі сперміноксидази, що веде до утворення H_2O_2 . Зрозуміло, що утворення клітинами АФК є захисною реакцією щодо бактерії, проте ці речовини можуть пошкоджувати ДНК власних клітин і в такий спосіб сприяти розвитку запалення та пухлини [48]. До того ж онкогенний білок *H. pylori* CagA індукує активацію інфламасоми NLRP3, продукцію АФК а також міграцію та інвазію пухлинних клітин [49].

Секретований ентеротоксин ентеротоксигенних штамів *Bacteroides fragilis* (ЕТВФ), асоційованих з колоректальним раком кишечника, сприяє утворенню H_2O_2 , що підсилює розвиток запалення і руйнацію тканин товстого кишечника. Ще один представник мікробіоти з високим канцерогенним потенціалом — *Fusobacterium nucleatum*, також при контакті з епітеліальними клітинами індукував підвищення внутрішньоклітинного вмісту АФК [50] та проліферативну активність і здатність до метастазування у клітинах раку голови і шиї [51]. До того ж *F. nucleatum* активував у нейтрофілах TLR4-АФК-залежний та NOD1/2-залежний сигнальні каскади, що призводило до вивільнення з нейтрофілів речовини позаклітинних “пасток” нейтрофілів — Neutrophil extracellular traps (NETs) [52]. Така активність нейтрофілів була асоційована з прогресією пухлини.

Нещодавно Tintelnot J, et al. було описано оригінальний механізм, за яким мікробіота впливає на вміст АФК у пухлинних клітинах. Було показано, що пацієнти з раком підшлункової залози, які добре відповідали на терапію мали в кишечнику особливу композицію мікробіоти, представники якої продукували такий метаболіт триптофану як

indole-3-acetic acid (3-IAA). Окиснення 3-IAA за участі мієлопероксидази у комбінації з хіміотерапією призводило до зменшення вмісту ферментів деградації АФК — глутатіонпероксидази 3 та глутатіонпероксидази 7. Це в свою чергу вело до акумулювання АФК у тканині пухлини, що порушувало процеси аутофагії пухлинних клітин [53].

Відомо, що бактерії-коменсали кишечника виробляють і вивільняють невеликі формільовані пептиди, які зв'язуються з рецептором формилпептиду, активація якого запускає продукцію супероксид-аніону за участі NOX1. Це призводить до підвищення рівня клітинних АФК, незалежно від мітохондрій, і індукує активність регуляторних білків окислювально-відновних сенсорів. Ці білки модулюють сигнальні шляхи, рухливість клітин, пригнічують імунні реакції та проліферацію епітеліальних клітин, що необхідно для забезпечення функції епітеліального бар'єру та для індукції протизапальних цитокінів, таких як IL-10 [54].

Мікробіота може продукувати АФК, які регулюють імунні відповіді, сприяючи прогресуванню пухлини. Бактерії, що здатні продукувати АФК, мають певні специфічні механізми опору окисному середовищу [55]. Здатність продукувати, або ж навпаки, пригнічувати АФК, разом із іншими механізмами впливу на редокс стан мікрооточення, робить бактерії ключовими гравцями в координації рівноваги редокс-статусу у кишечнику (рис. 2).

Бактерії-коменсали та патогени можуть змінювати продукцію АФК клітинами-хазяїна шляхом модулювання їх мітохондріальної активності або активації NADPH-оксидаз. Наприклад, під час деградації сірковмісних амінокислот патогенні бактерії, такі як *Salmonella* та *Escherichia coli*, можуть продукувати H_2S , що може призводити до блокування комплексу IV ланцюга транспортування електронів і порушення функціонування мітохондрій. Продукція бактеріями H_2S також призводить до пошкодження епітелію та порушення слизового бар'єру [56–58].

Оскільки мікробіота є важливим компонентом мікрооточення пухлини і може здійснювати як про-, так і протипухлинний ефект, нині викликають інтерес підходи впливу на композицію мікробіоти. Одним з таких підходів є застосування пробіотиків. При цьому пробіотики відомі багатьма корисними ефектами для здоров'я, включаючи і їх антиоксидантну активність і здатність усувати токсичні ефекти, викликані АФК. Антиоксидантна активність пробіотиків підтримується вісьмома основними механізмами, як запропоновано Wang та співавторами [59]: (1) пробіотики, такі як *Streptococcus thermophilus* 821 або *Lactobacillus casei* КСТС 3260, показали хелатну здатність для Fe^{2+} або Cu^{2+} , таким чином пригнічуючи реакцію Фентона і продукцію АФК; (2) пробіотичні штами

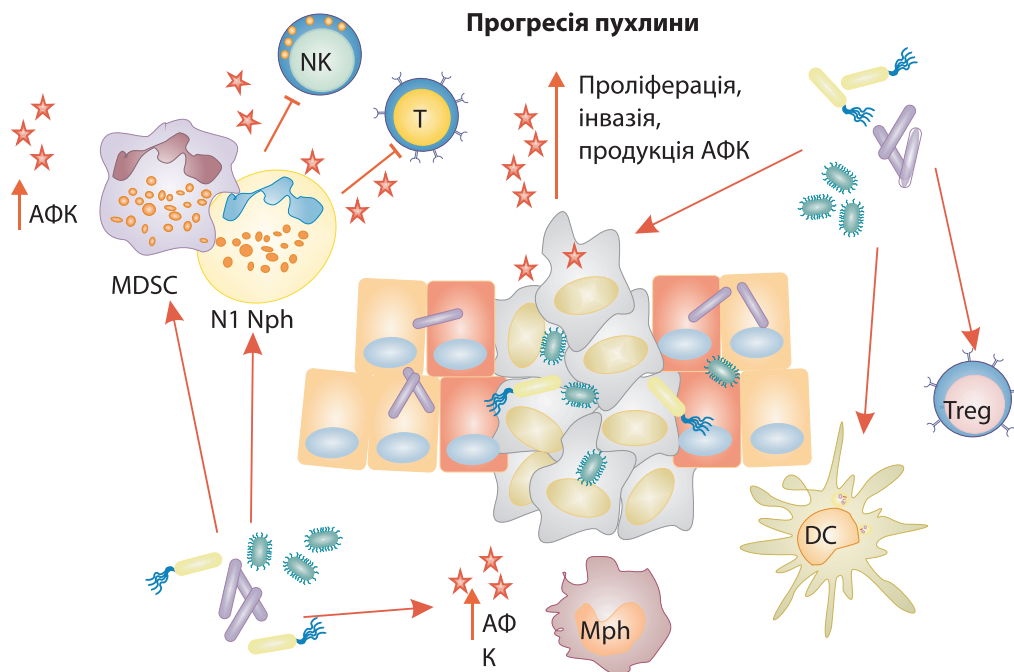


Рис. 2. Прямий та опосередкований вплив мікробіоти на розвиток пухлини

бактерій *L. fermentum* E-3 і E-18 та *L. casei* BL23 мають власні антиоксидантні ферменти, відповідно такі як супероксиддисмутаза (*superoxide dismutase*, SOD) та каталазу (*catalase*, CAT); (3) пробіотичні штами бактерій родів *Bifidobacterium* і *Lactobacillus* можуть виробляти різні види метаболітів з антиоксидантною активністю, такі як глутатіон (GSH), бутират і фолат; (4) бактерії роду *Lactobacillus* можуть підвищувати вміст SOD, глутатіонпероксидази (GPx) і CAT господаря; (5) пробіотики можуть індукувати експресію метаболітів хазяїна з антиоксидантною активністю (GSH, фолат); (6) пробіотики можуть модулювати сигнальні шляхи, наприклад, активацію Nrf2, основного регулятора антиоксидантної реакції; (7) пробіотики пригнічують активність ферментів, що продукують АФК, таких як NOX; (8) пробіотики можуть регулювати склад кишкової мікробіоти, пригнічуючи надмірну проліферацію та вірулентність патогенних бактерій з потенційною прооксидантною активністю. Отже, роль пробіотиків в модулюванні композиції мікробіоти загалом та впливі на пухлинне мікрооточення сьогодні набуває нового надзвичайно актуального значення.

Таким чином, продукція АФК відіграє важливу роль у взаємодії пухлини та її мікрооточення. Різні типи та вміст АФК суттєво впливають на пухлинні клітини та мікробіоту. Тому дослідження взаємозв'язку АФК із мікробіотою, одного із компонентів пухлинного мікрооточення, є надзвичайно перспективним. Водночас дослідження “тандему” мікробіота + АФК + ЕМП + пухлинне мікрооточення трансляційно важливе на сьогодні, оскільки не тільки відкриває перспективи під-

вищення ефективності терапії шляхом модуляції пухлинного мікрооточення, а й може сприяти розвитку новітніх профілактичних підходів онкологічної патології.

Робота виконана в рамках НДР “Вивчення впливу представників лактобактерій, біфідобактерій та умовно-патогенних представників мікробіоти людини на особливості реалізації механізмів метаболічних порушень при пухлинному процесі” (№ держреєстрації 0121U113840).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Liberti MV, Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? Trends in Biochemical Sciences 2016; **41** (3): 211–8. doi: 10.1016/j.tibs.2015.12.001.
2. Fu Y, Liu S, Yin S, et al. The reverse Warburg effect is likely to be an Achilles' heel of cancer that can be exploited for cancer therapy. Oncotarget 2017; **8**: 57813–25. doi: 10.18632/oncotarget.18175.
3. Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment. Curr Biol. 2020; **30** (16): 921–5. doi: 10.1016/j.cub.2020.06.081.
4. Kovacs T, Mikó E, Ujlaki G, et al. The microbiome as a component of the tumor microenvironment. Adv Exp Med Biol. 2020; **1225**: 137–53. doi: 10.1007/978-3-030-35727-6_10.
5. Gonzalez-Sanchez P, DeNicola GM. The microbiome(s) and cancer: know thy neighbor(s). J Pathol. 202; **254** (4): 332–43. doi: 10.1002/path.5661.
6. Kundu P, Blacher E, Elinav E, et al. Our gut microbiome: the evolving inner self. Cell 2017; **171**: 1481–93. doi: 10.1016/j.cell.2017.11.024.
7. Belkaid Y, Harrison OJ. Homeostatic immunity and the microbiota. Immunity 2017; **46**: 562–76. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.008.
8. Chekhun VF, Lukyanova NYu, Shvets YuV. The influence of microbiota on the development of human tumor diseases. Oncology. 2020; **22** (1–2). doi: 10.32471/oncology.2663-7928.t-22-1-2020-g.8759 (in Ukrainian).

9. **Gopalakrishnan V, Helmink BA, Spencer CN, et al.** The influence of the gut microbiome on cancer, immunity, and cancer immunotherapy. *Cancer Cell* 2018; **33**: 570–80. doi: 10.1016/j.ccell.2018.03.015.
10. **Shvets YuV, Lykhova OO, Chekhun VF.** Human microbiota and breast cancer. *Experimental Oncology*. 2022; **44** (2): 95–106. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-2.17855.
11. **Garrett WS.** Cancer and the microbiota. *Science* 2015; **348**: 80–6. doi: 10.1126/science.aaa4972.
12. **Burlaka AP, Sydorik EP.** Radical forms of oxygen and nitric oxide in the tumor process. Kyiv: Scientific opinion, 2006. 228 p. (in Ukrainian).
13. **Aggarwal V, Tuli HS, Varol A, et al.** Role of Reactive Oxygen Species in Cancer Progression: Molecular Mechanisms and Recent Advancements. *Biomolecules*. 2019; **11**: 735. doi: 10.3390/biom9110735.
14. **Schieber M, Chandl NS.** ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology* 2014; **24** (10): 453–62. doi: 10.1016/j.cub.2014.03.034.
15. **Holzerová E, Prokisch H.** Mitochondria: Much ado about nothing? How dangerous is reactive oxygen species production? *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2015; **63**: 16–20. doi: 10.1016/j.biocel.2015.01.021.
16. **Checa J, Aran JM.** Reactive oxygen species: drivers of physiological and pathological processes. *J Inflamm Res* 2020; **13**: 1057–73. doi: 10.2147/JIR.S275595. eCollection 2020.
17. **Wang Y, Qi H, Liu Y, et al.** The double-edged roles of ROS in cancer prevention and therapy. *Theranostics* 2021; **11** (10): 4839–57. doi: 10.7150/thno.56747.
18. **Cordani M, Butera G, Pacchiana R, et al.** Mutant p53-Associated Molecular Mechanisms of ROS Regulation in Cancer Cells. *Biomolecules*. 2020; **10** (3): 361. doi: 10.3390/biom10030361.
19. **Moloney JN, Cotter TG.** ROS signalling in the biology of cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2018; **80**: 50–64. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.05.023.
20. **Malla R, Surepalli N, Farran B, Malhotra SV, Nagaraju GP.** Reactive oxygen species (ROS): critical roles in breast tumor microenvironment. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2021; **160**, article 103285. doi: 10.1016/j.critrevonc.2021.103285.
21. **Liu D, Zhang R, Wu J, et al.** Interleukin-17A promotes esophageal adenocarcinoma cell invasiveness through ROS-dependent, NF- κ B-mediated MMP-2/9 activation. *Oncology Reports* 2017; **37** (3): 1779–85. doi.org/10.3892/or.2017.5426.
22. **Ho BY, Wu YM, Chang KJ, Pan TM.** Dimeric acid inhibits SW620 cell invasion by attenuating H2O2-Mediated MMP-7 expression via JNK/C-Jun and ERK/C-Fos activation in an AP-1-dependent manner. *International Journal of Biological Sciences* 2011; **7** (6): 869–80. doi: 10.7150/ijbs.7.869.
23. **Jiang J, Wang K, Chen Y, et al.** Redox regulation in tumor cell epithelial-mesenchymal transition: molecular basis and therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2017; **2** (1): 17036. doi: 10.1038/sigtrans.2017.36.
24. **Kirtonia A, Sethi G, Garg M.** The multifaceted role of reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2020; **77** (22): 4459–83. doi: 10.1007/s00018-020-03536-5.
25. **Ryu D, Lee JH, Kwak MK.** NRF2 level is negatively correlated with TGF- β 1-induced lung cancer motility and migration via NOX4-ROS signaling. *Archives of Pharmacological Research* 2020; **43** (12): 1297–310. doi: 10.1007/s12272-020-01298-z.
26. **Saliem SS, Bede SY, Cooper PR, et al.** Pathogenesis of periodontitis — A potential role for epithelial-mesenchymal transition. *Jpn Dent Sci Rev* 2022; **58**: 268–78. doi: 10.1016/j.jdsr.2022.09.001.
27. **Gupta I, Pedersen S, Vranic S, Al Moustafa A-E.** Implications of Gut Microbiota in Epithelial–Mesenchymal Transition and Cancer Progression: A Concise Review. *Cancers (Basel)* 2022; **14** (12): 2964. doi: 10.3390/cancers14122964.
28. **Kovacs T, Miko E, Vida A, et al.** Cadaverine, a metabolite of the microbiome, reduces breast cancer aggressiveness through trace amino acid receptors. *Scientific Reports* 2019; **9** (1): 1300. doi.org/10.1038/s41598-018-37664-7.
29. **Vergara D, Simeone P, Damato M, et al.** The Cancer Microbiota: EMT and Inflammation as Shared Molecular Mechanisms Associated with Plasticity and Progression. *J Oncol* 2019; **20**: 1253727. doi: 10.1155/2019/1253727.
30. **Mikó E, Vida A, Kovács T, et al.** Lithocholic acid, a bacterial metabolite reduces breast cancer cell proliferation and aggressiveness. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Bioenergetics* 2018; **1859** (9): 958–74. doi: 10.1016/j.bbabi.2018.04.002.
31. **Luu TH, Bard J-M, Carbonnelle D, et al.** Lithocholic bile acid inhibits lipogenesis and induces apoptosis in breast cancer cells. *Cellular Oncology* 2018; **41** (1): 13–24. doi: 10.1007/s13402-017-0353-5.
32. **Dongre A, Weinberg RA.** New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2019; **20** (2): 69–84. doi: 10.1038/s41580-018-0080-4.
33. **Lu W, Kang Y.** Epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression and metastasis. *Developmental Cell* 2019; **49** (3): 361–74. doi: 10.1016/j.devcel.2019.04.010.
34. **Zadora PK, Chumduri C, Imami K, et al.** Integrated phosphoproteome and transcriptome analysis reveals chlamydia-induced epithelial-to-mesenchymal transition in host cells. *Cell Reports* 2019; **26** (5): 1286–302. doi: 10.1016/j.celrep.2019.01.006.
35. **Dominguez C, David JM, Palena C.** Epithelial-mesenchymal transition and inflammation at the site of the primary tumor. *Seminars in Cancer Biology* 2017; **47**: 177–84. doi: 10.1016/j.semcancer.2017.08.002.
36. **Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al.** Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018; **359** (6371): 91–7. doi: 10.1126/science.aan3706.
37. **Chen L, Gibbons DL, Goswami S, et al.** Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression. *Nature Communications* 2014; **5**: 5241. doi: 10.1038/ncomms6241.
38. **Costa A, Scholer-Dahirel A, Mehta-Grigoriou F.** The role of reactive oxygen species and metabolism on cancer cells and their microenvironment. *Semin. Cancer Biol* 2014; **25**: 23–32. doi: 10.1016/j.semcancer.2013.12.007.
39. **Jain M, Rivera S, Monclus EA, et al.** Mitochondrial reactive oxygen species regulate transforming growth factor-beta signaling. *J Biol Chem* 2013; **288**: 770–7. doi: 10.1074/jbc.M112.431973.
40. **Kojima Y, Acar A, Eaton EN, et al.** Autocrine TGF-beta and stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) signaling drives the evolution of tumor-promoting mammary stromal myofibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; **107**: 20009–14. doi: 10.1073/pnas.1013805107.
41. **Liang W, He X, Bi J, et al.** Role of reactive oxygen species in tumors based on the ‘seed and soil’ theory: A complex interaction (Review). *Oncol Rep* 2021; **46** (3): 208. doi: 10.3892/or.2021.8159.
42. **Sampson N, Brunner E, Weber A, et al.** Inhibition of Nox4-dependent ROS signaling attenuates prostate fibroblast activation and abrogates stromal-mediated protumorigenic

- interactions. *Int J Cancer* 2018; 143: 383–95. doi: 10.1002/ijc.31316.
43. **Martinez-Outschoorn UE, Lisanti MP, Sotgia F.** Catabolic cancer-associated fibroblasts transfer energy and biomass to anabolic cancer cells, fueling tumor growth. *Semin Cancer Biol* 2014; 25: 47–60. doi: 10.1016/j.semcancer.2014.01.005.
 44. **Zhang D, Wang Y, Shi Z, et al.** Metabolic reprogramming of cancer-associated fibroblasts by IDH3 α downregulation. *Cell Rep* 2015; 10: 1335–48. doi: 10.1016/j.celrep.2015.02.006.
 45. **Yang L, Li A, Wang Y, Zhang Y.** Intratumoral microbiota: roles in cancer initiation, development and therapeutic efficacy. *Signal Transduct Target Ther* 2023; 8 (1): 35. doi.org/10.1038/s41392-022-01304-4.
 46. **Nejman D, Livyatan I, Fuks G, et al.** The human tumor microbiome is composed of tumor type-specific intracellular bacteria. *Science* 2020; 368: 973–80. doi: 10.1126/science.aay9189.
 47. **Butcher LD, den Hartog G, Ernst PB, Crowe SE.** Oxidative Stress Resulting from *Helicobacter pylori* Infection Contributes to Gastric Carcinogenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017; 3: 316–22. doi: 10.1016/j.jcmgh.2017.02.002.
 48. **Gobert AP, Wilson KT.** Polyamine- and NADPH-dependent generation of ROS during *Helicobacter pylori* infection: A blessing in disguise. *Free Radic Biol Med.* 2017; 105: 16–27. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.09.024.
 49. **Zhang X, Li C, Chen D, et al.** *H. pylori* CagA activates the NLRP3 inflammasome to promote gastric cancer cell migration and invasion. *Inflamm Res* 2022; 71 (1): 141–55. doi: 10.1007/s00011-021-01522-6.
 50. **Lesiów MK, Komarnicka UK, Stokowa-Sołtys K, et al.** Relationship between copper(ii) complexes with FomA adhesin fragments of *F. nucleatum* and colorectal cancer. Coordination pattern and ability to promote ROS production. *Dalton Trans* 2018; 47 (15): 5445–58. doi.org/10.1039/C7DT04103A.
 51. **Li F, Huang H, Xu J, et al.** Fusobacterium nucleatum-triggered purine metabolic reprogramming drives tumorigenesis in head and neck carcinoma. *Discov Oncol* 2023; 14 (1): 120. doi: 10.1007/s12672-023-00727-x.
 52. **Kong X, Zhang Y, Xiang L, et al.** Fusobacterium nucleatum-triggered neutrophil extracellular traps facilitate colorectal carcinoma progression. *J Exp Clin Cancer Res* 2023; 42 (1): 236. doi.org/10.1186/s13046-023-02817-8.
 53. **Tintelnot J, Xu Y, Lesker TR, et al.** Microbiota-derived 3-IAA influences chemotherapy efficacy in pancreatic cancer. *Nature* 2023; 615 (7950): 168–74. doi: 10.1038/s41586-023-05728-y.
 54. **Saint-Georges-Chaumet Y, Edeas M.** Microbiota-mitochondria inter-talk: consequence for microbiota-host interaction. *Pathogens and Disease* 2016; 74 (1). doi.org/10.1093/femspd/ftv096.
 55. **Chooruk A, Piwat S, Teanpaisan R.** Antioxidant activity of various oral Lactobacillus strains. *J Appl Microbiol* 2017; 123: 271–9. doi: 10.1111/jam.13482.
 56. **Shandilya S, Kumar S, Kumar JN, et al.** Interplay of gut microbiota and oxidative stress: Perspective on neurodegeneration and neuroprotection. *J Adv Res* 2022; 38: 223–44. doi: 10.1016/j.jare.2021.09.005.
 57. **Jackson DN, Theiss AL.** Gut bacteria signaling to mitochondria in intestinal inflammation and cancer. *Gut Microbes* 2020; 11: 285–304. doi: 10.1080/19490976.2019.1592421.
 58. **Kunst C, Schmid S, Michalski M, et al.** The Influence of Gut Microbiota on Oxidative Stress and the Immune System. *Biomedicines* 2023; 11: 1388. doi: 10.3390/biomedicines11051388.
 59. **Wang Y, Wu Y, Wang Y, et al.** Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients* 2017; 9: 521. doi: 10.3390/nu9050521.

MICROBIOME AND REACTIVE OXYGEN SPECIES — SYNERGETIC FACTORS OF TUMOR PROGRESSION

Yu. V. Shvets^{1,2}, *N. O. Bezdienieznykh*¹,
*O. O. Lykhova*¹

¹ R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,

² NSC “Institute of Biology and Medicine” of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Summary. *The tumor microenvironment is a unique composition of cellular and soluble factors associated with the development of the tumor process. These factors include stromal and endothelial cells, cells of the immune system, components of the extracellular matrix, and cytokines. Recently, the microbiome, which is one of the key components for maintaining the homeostasis of any organs and tissues of the human body, was included as an element of the tumor microenvironment. Cellular*

elements of the microenvironment are interconnected and interdependent. Such influence is implemented with the involvement of soluble factor, among which the role of the “two-face Janus” is played by reactive oxygen species (ROS). The review provides data on the importance of ROS for the activity of immune system cells and the microbiome. Mechanisms of influence of the microbiome with the participation of ROS on the tumor process were considered.

Keywords: microbiome, reactive oxygen species (ROS), cancer, tumor microenvironment (TME).

Адреса для листування:

Швець Ю.В.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: julia73_shvets@ukr.net

Одержано: 28.11.2023