

## BAKTERİLER VE KANSER SAĞALTIMI

### BACTERIA AND CANCER THERAPY

İlhan AFŞAR

İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

**Anahtar Sözcükler:** Bakteriler, kanser sağaltımı

**Keywords:** Bacteria, cancer therapy

Geliş: 10 Kasım 2005

Kabul: 05 Ocak 2006

## ÖZET

Kanser, günümüzdeki ölüm nedenleri arasında en ön sıralarda yer almaktadır. Milyonlarca insan hayatını kaybetmekte işgücünden geri kalmaktadır. Sağaltılabilen kanser türlerinde ise Türkiye'nin maddi kaynakları gelişmiş ülkelere ilaç, tıbbi araç-gereç olarak harcanmaktadır. Arayış içinde olan bilim adamları da sağaltımda mikro-organizmaları ve onların ürünlerini kullanmışlardır. Bu derlemede bakterilerin ve bakteriyel ürünlerin kanser sağaltımındaki uygulamaları konu edilmiştir.

## SUMMARY

Cancer is one of the leading causes of death at present time. Millions of people die or have decreased quality of life every year around the world. Loss of labor because of cancer is also an important concern. In curable cancer types, the economic sources of the country are expended for drugs and medical materials. The scientists who are in search for the cure of cancer have used microorganisms and their products in their studies. In this article, the administration of bacteria and their products in cancer treatment is reviewed.

Bir çok mikro-organizma kansere neden olur. Viruslerin (insan papilloma virüsü, Epstein Barr virüsü gibi) bu konudaki etkinliği daha fazladır. Bakterilerden ise *Helicobacter pylori* en bilinen ve üzerinde en fazla çalışılmıştır. *Helicobacter pylori*'nin insan ve hayvanlarda gastrik kanser yaptığı kanıtlanmıştır (1). Buna karşılık, diğer mikro-organizmalar ve onların ürünlerinin kanser sağaltımında kullanımı daha az bilinen konulardır. Araştırmacılar bakteri ürünlerinin tümör dokusunun gerilemesindeki etkinliğini yaptığı çalışmalarda izlemişler ve olumlu gelişmeleri bildirmişlerdir.

### Canlı Bakterinin Kanser Sağaltımında Kullanımı

Kanser sağaltımında canlı bakterilerin kullanımı 100 yıl öncesine dayanır. William B. Coley 19. yüzyılda New

York Memorial Hastanesi'nde çalışan bir cerrah olarak bu konudaki çalışmaları başlatmıştır. Kanser hastalarını canlı bakterilerle infekte ettiğinde kanserin gerilediğini, infeksiyonun sağaltımı sonucu kanserin tekrar nüks ettiğini gözlemlemiştir. Coley çalışmasında bakteri ekstraları elde etmiş ve sağaltımda kullanmıştır. Bu ekstratlar daha sonra Coley toksini olarak tanımlanmıştır (2). Coley'in hipotezine göre, toksine karşı oluşan immün yanıt tümörü de etkilemiş ve tümörün gerilemesine neden olmuştur. Bakteri olarak streptokoklar kullanılmış ve yumuşak doku sarkomları, meme kanseri ve malign melanomda dramatik olarak daha fazla yanıt alınmıştır (3).

Daha sonra diğer bakteri türleri de çalışmalarda denenmiştir. En çok bilinen örnek ise *Mycobacterium bovis* BCG (aşı suşu)'dur. Bir çok çalışma cerrahi sonrası me-

sane kanserinde kullanıldığında rekürrens azaldığını göstermiştir (4). BCG'nin antineoplastik etkisi, immun sistemi etkilemesi, CD4 ve CD8 T lenfositlerinin major rol oynaması sonucu oluşmaktadır. Buna karşılık, intravezikal uygulama da gelişen nonspesifik sistit sonucu lokal sitokin üretiminin arttığı ve inflamatuvar hücrelerin bölgeye göç etmesiyle malign hücrelerin fagositoza uğradığı belirtilmiştir (5).

Brandau ve ark. (6) "naturel killer" (NK) hücrelerinin etkinliğini BCG aracılığıyla ortaya koymuşlardır. Mononükleer hücrelerin BCG ile yedi günlük teması sonucu mesane kanserine karşı etkili olabildiğini belirtmişlerdir. *In vivo* denemelerinde C57BL/6 natur fareler, NK hücreleri defisitli fareler ve anti NK1,1 monoklonal antikorlar ile temas edilmiş fareler ile çalışılmıştır. Natur farelerin diğerlerine göre BCG sağaltımından daha fazla yarar gördükleri belirtilmiştir. Bu çalışma NK hücrelerinin etkinliğini göstermiştir. Buna karşılık; uzun süreli yüksek oranlarda BCG'nin kullanımı sonucu, yan etkiler, etkinliğinin azalması ve sepsis sonucu ölüm olguları az da olsa görülmüştür. BCG'nin yeni uygulama yolları tartışılmaya başlanmıştır (7).

BCG aşısı mesane kanserinde kullanılırken, atenue bakteri aşılı da kanser sağaltımında denenmiştir. *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella enterica* serovar *typhimurium*'nun antijen sunan hücrelere hedef olduğu veya doğal immun yanıtı immun mediyatörler (IL-12 gibi) aracılığıyla aktive ederek etkili olduğu düşünülmüştür. Atenue *Salmonella* mutantları plazmositomu farelerde intraperitoneal uygulanarak tümörün gerilediği gözlemlenmiştir. Aynı şekilde *Shigella* ve *Clostridium* türlerinin de terapötik ajanı hedef hücrelere yani tümör hücrelerine ulaştırdıkları rapor edilmiştir (2, 8-10).

Dang ve ark. (11) *Salmonella*, *Clostridium* ve anaerobik bazı bakterilerin tümör dokusunu hedef seçerek anaerobik ortamda çoğalmaları ve tümör gerilemesine neden olmalarından yola çıkarak çalışmalar yapmışlardır. Kanser sağaltıma direnç göstermesindeki temel neden geniş alanlara yayılması ve zayıf damarlanma göstermesi sonucu radyasyon ve kemoterapotik ajanların ulaşımının zor olmasıdır. Çünkü oksijenin az olduğu bölgelerde iyonize radyasyonun etkisi az olur. Ayrıca kemoterapotik ajanların ulaşımı güçleşir. Araştırmacılar, bir grup kolon kanseri oluşturulmuş fareye letal toksini uzaklaştırılmış *Clostridium novyi* sporları verirken, diğer grup kolon kanseri oluşturulmuş fareye letal toksini uzaklaştırılmamış *Clostridium novyi* sporları vermişler ve letal toksini uzaklaştırılmış spor verilen farelerde gerileme olurken, diğer gruptaki farelerin hepsi ölmüştür. Bu çalışmadan yola

çıkarak anaerobik bir bakteri *C. novyi*, DNA hasarlayıcı ajan MMC (mitomisin), CTX (sitoksan) ve tümör vaskularitesini azaltan ajan D10 (dolastatin) ile yapılan sağaltıma kombine bakteriyolitik sağaltım "Combination Bacteriolytic Therapy" (COBALT) adı verilmiş ve hızlı dramatik iyileşme sağlanmıştır. Ölen fareler (%15-45) ölüm nedeninin sağaltımdan bağımsız olarak tümör lizis sendromu veya toksik metabolik ürünlere bağlı olduğu düşünülmüştür. Zhao ve ark. (12) genetik modifiye *Salmonella typhimurium* A1 türünün prostat kanseri oluşturulmuş farelerde tümör gerilemesi oluşturduğu ve herhangi bir yan etkinin gözlenmediğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında GFP (green/red fluroescent protein) kullanarak etkiyi görünür kılmışlardır. Lin ve ark. (13) bakterilerin kanser gerilemesine neden olduğunu, bu durum hem doğal hem de gene modifiye bakterilerle sağlanabildiğini belirtmişler, etkinin direkt onkolitik etkisi ya da bakterilerle (gen, protein) taşıma yoluyla olabileceğini yazılarında derlemişlerdir.

Rakesh ve Neil (14) bu konudaki araştırmalarında kanser sağaltımında kullanılan bakterinin ideal olan kriterleri şu şekilde belirtmişlerdir.

- 1) Konak için toksik olmamalı.
- 2) Sadece tümör içinde replike olmalı,
- 3) Tümörün tüm bölgelerine (hipoksik ve nekrotik alanlar da dahil ) dağılabilmeli,
- 4) Konak tarafından yavaş ve tam olarak elimine edilebilmeli,
- 5) Non immunojenik olmalı,
- 6) Tümör dokusu ile besinler için direkt yarışarak, lokalize sitokin üreterek ve terapötik ürünlerin etkilerini çoğaltarak savaşılabilmelidir.

COBALT sağaltımının yanında diğer çalışma alanı da genetiği değiştirilmiş bakterilerdir. Bunlardan ilki inflamatuvar sitokin (tümör nekroz faktör-alfa gibi) salgılamak için programlanmış bakterilerdir. Böylece konak immun yanıtı artırılmıştır (15). Diğer genetik mühendisliği sonucu üzerinde çalışılan konu ise, bakterinin enzim üretmesi ve tümör içinde prodrug üretiminin arttırmasıdır. Buna "bakteriye bağlı enzim prodrug terapi" (BDEPT) denir (16).

Parish (17) kanser immunoterapisi ile ilgili araştırmalarında immun sistem ve tümör hücresi arasındaki ilişkiyi şu şekilde derlemiştir:

- 1) Tümöre karşı bağışık yanıt kesin oluşur,
- 2) Başarılı tümörler immun sistemden kaçmıştır yani immun olarak seçilmiştir,

- 3) Doğal ve kazanılmış bağışık yanıt tümörü tanıma ve temizleme olaylarına beraber katılırlar,
- 4) Yukarıda verilen örneklerde olduğu gibi, ölümcül bakteriler tümör eliminasyonunu aynı mekanizmalarla yaparlar,
- 5) Gelecekteki araştırmalar bu temel üzerine yapılmalıdır.

Sonuç olarak, canlı bakterin kullanılması, önerilen sağaltımlarda başarılı olduğu gibi ciddi yan etkileri de beraberinde getirmektedir. Bunlar:

- 1) Toksikite,
- 2) İlaç rezistansı (COBALT sağaltımında tekrarlayan sağaltımlar önerilmektedir.)
- 3) COBALT sağaltımı için gerekli olan hipoksik-nekrotik tümör aşamasında metastaz gelişmesi sonucu sağaltım şansının önemli ölçüde yitirilmesi (14).

#### Bakteriyel Ürünlerin Kanser Sağaltımında Kullanımı

Canlı bakterilerin vücuttan eliminasyonun azlığı, güçlü immun yanıtın oluşması, yan etki ve toksisitelerinin olması kullanım alanlarını sınırlamıştır. Bu nedenle tam bakteri yerine bakteri ürünlerinin kullanımı düşünülmüştür. Bakteri ürünlerinden lipopolisakkarit aşularının kullanımını anti-kanser sağaltımında önem kazanmıştır.

Clarkson ve ark. (18) *Pseudomonas aeruginosa*'dan elde ettikleri lipopolisakkarit aşularının akut myelositer lösemi hastalarında kullanmışlar ve kontrol grubuna göre belirgin bir remisyon artışı sağlamışlardır.

Chou ve ark. (19) *Myxobacterium sorangium cellulosum*'dan elde edilen makrolit olan Epo A (epothilon A) ve kimyasal sentetik modifiye türü olan Epo B (desxyepothilone B) ile yaptıkları *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda tümör gerilemesini belirtmişlerdir.

Bilindiği gibi, mitokondri hücrenin enerji üretim yeridir. Bununla birlikte önemli bir görevi de redoks proteinleri aracılığıyla (Sitokrom C gibi) apoptoz indükleyen faktör(AIF) ve flavoprotein (NADH) ile apoptozu indükleyerek programlı hücre ölümünü başlatmaktadır. Son zamanlarda prokaryotlarda da p53 ile kompleks oluşturan redoks proteini olan bazı proteinlerinde apoptozu indüklediği belirtilmiştir. Burada redoks proteinin direkt p53 ile teması, pro-apoptotik genlerin aktivasyonu (Bax, NOXA gibi) ya da reaktif oksijen türlerini (ROS)'ni kodlayan genlerin üretimi sonucunda p53'ün etkileri görülür (20).

Son yıllarda bakteri ürünleri üzerindeki çalışmalar hızlanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa*'dan elde edilen ba-

kır içeren oksidoredüktaz olan azurinin malign hücrelerde apoptozu indüklediği ve tümör gerilemesine neden olduğu belirtilmiştir (2, 21, 22). Yamada ve ark. (21, 22) azurin ve diğer redoks proteini olan sitokrom C551' in J774 makrofajlarında ve melanom hücrelerinde *in vitro* ve *in vivo* tümör gerilemesini göstermişlerdir. *In vitro* olarak p53 geni bulunan melanom-2 (UISO-Mel-2) ve p53 geni defektli olan melanom-6 (UISO-Mel-6) hücrelerinin hücre kültürlerini yapmışlar ve azurin ile inkübe ettiklerinde p53 geni bulunan mel-2 hücre serisinde belirgin apoptoz ölçülürken mel-6 hücre serisinde apoptoz saptanmamıştır.

Goto ve ark.(23) redoks mutant azurin olan met-44lys/met-64Glu (M44K/M64E)'nin doğal azurine göre apoptozu daha az indüklediğini ve sitotoksitesinin daha az olduğunu göstermiştir. Burada *in vitro* kullanılan proteinin sitotoksitesinin direkt olarak apoptozu bağlı olduğu belirtilmektedir. Burada p53 ile kompleks oluşturup ROS üretiminin başlaması azurinin sitotoksik etkisi ile direkt ilgilidir.

Yine Yamada ve ark. (21) çıplak erkek farelerde 1X10<sup>6</sup> UISO-Mel-2 melanom hücrelerini göğüs bölgesine vererek melanom oluşturmuşlardır. Tümör 0.5 mm çapa geldiğinde 0.5 mg azurini 0.1 ml tuzlu su içinde günde bir kez intraperitoneal olarak üç hafta süresince uygulamışlar ve kontrol grubuna göre tümör volümünde %59 azalma olduğunu saptamışlardır. *In vivo* çalışmadaki bu oran hiç azımsanmayacak kadar yüksek sayılabilir. Ayrıca *in vitro* olarak mutant azurin ve p53 geni defektli mel-6 hücrelerinde daha sitotoksitenin daha az olması sağaltımda p53'e bağlı kalmanın dezavantajdır çünkü insan kanser olgularının %50'sinde p53 geninin defektli olması sağaltım şansını azaltmaktadır (2).

Bundan sonraki çalışmalarda yeni bakteri redoks proteinlerinin keşfi sonucu ökaryotik hücrelerinde apoptozu tetiklemesini araştırmak ve özellikle insan kanser hücreleri için önem kazanmaktadır. Ayrıca, *in vitro* sonuçlar ve hayvan deneylerinin sonuçları ışığında hastalar üzerinde yeni çalışmalar planlanıp sonuçların ümit verici olmasını beklemekteyiz.

Sonuç olarak, 1890'larda Dr. William B. Coley ile başlayan bakteri ve bakteri ürünleri ile kanser sağaltımı bugün bakteri redoks proteinlerine ve onların apoptozu indüklemesine kadar gelmiştir. Araştırmacıların bu konudaki ilerlemeleri geleceğe ışık tutacaktır. İnanıyoruz ki ekolojik çevrenin bir ögesi olan mikro-organizmalar insanlığın en önemli sağlık sorunu olan kanser olgularındaki pozitif etkinliği daha net ortaya çıkacaktır. Yeterki yılmadan çalışsın ve araştırılsın.

## KAYNAKLAR

1. Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*: A bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease, and gastric cancer. *ASM News* **1995**; 61: 21-6.
2. Chakrabarty AM. Microorganisms and cancer: Quest for a therapy. *J Bacteriol* **2003**; 185: 2683-6.
3. Zacharski LR, Sukhatme VP. Coley's toxin revisited: immunotherapy or plasminogen activator therapy of cancer? *J Thrombos Hemostas* **2004**; 3:424-7.
4. Lamm DL, Riggs DR, Shriver JS, Van Gilder PF, Rach JF, DeHaven JI. Megadose vitamins in bladder cancer: a double-blind clinical trial. *J Urol* **1994**; 151: 21-6.
5. Alexandroff AD, Jackson AM, O'Donnel MA, James K. BCG immunotherapy of bladder cancer: 20 years on. *Lancet* **1999**; 353: 1689-94.
6. Brandau S, Riemensberger J, Jacobsen M, et al. NK cells are essential for effective BCG immunotherapy. *Int J Cancer* **2001**; 92: 697-702.
7. O'Donnel MA, DeWolf WC. *Bacillus Calmette-Guerin* immunotherapy for superficial bladder cancer: new prospects for an old warhorse. *Surg Oncol Clin North Am* **1995**; 4: 189-201.
8. Eisentein TK, Bushnell B, Meissler JJ, Jr Dalal N, Schafer R, Havas HF. Immunotherapy of a plasmacytoma with attenuated *Salmonella*. *Med Oncol* **1995**; 12: 103-8.
9. Sizemore DR, Branstrom AA, Sadoff JC. Attenuated *Shigella* as a DNA delivery vehicle for DNA-mediated immunization. *Science* **1995**; 270: 299-302.
10. Fox ME, Lemmon MJ, Mauchline ML, et al. Anaerobic bacteria as a delivery sistem for cancer gene therapy: *in vitro* activation of 5-fluorocytosine by genetically engineered *Clostridia*. *Gene Ther* **1996**; 3: 173-8.
11. Dang LH, Bettgowda C, Huso DL, Kinzler KW, Vogelstein B. Combination bacteriolytic therapy for the treatment of experimental tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* **2001**; 98: 15155-60.
12. Zhao M, Yang M, Li XM, et al. Tumor-targeting bacterial therapy with amino acid auxotrophs of GFP-expressing *Salmonella typhimurium*. *Proc Natl Acad Sci USA* **2005**; 102: 755-60
13. Lin J, Lin E, Nemunaitis J. Bacteria in the treatment of cancer. *Curr Opin Mol Ther* **2004**; 6: 629-39.
14. Jain RK, Forbes NS. Can engineered bacteria help control cancer? *Proc Natl Acad Sci USA* **2001**; 98: 14748-50.
15. Nuyts S, Van Mellaert L, Theys J, et al. *Gene Ther* **2001**; 8: 1197-201.
16. Fox ME, Lemmon MJ, Mauchline ML, et al. *Gene Ther* **1996**; 3: 173-8.
17. Parish CR. Cancer immunotherapy: The past, the present and the future. *Immunol Cell Biol* **2003**; 81: 106-13.
18. Clarkson BD, Dowling DM, Gee ST, Cunningham IB, Burchenal AH. Treatment of acute leukemia in adults. *Cancer* **1975**; 36: 775-95.
19. Chou TC, Zhang X-G, Balog A, et al. Desoxyepothilone B: An efficacious microtubule-targeted antitumor agent with a promising *in vivo* profile relative to epothilone B. *Proc Natl Acad Sci USA* **1998**; 95: 9642-7.
20. Punj V, Chakrabarty AM. Redox proteins in mammalian cell death: an evolutionary conserved function in mitochondria and prokaryotes. *Cell Microbiol* **2003**; 5: 225-31.
21. Yamada T, Goto M, Punj V, et al. Bacterial redox protein azurin, tumor supressor protein p53, and regression of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* **2002**; 99: 14098-103.
22. Yamada T, Goto M, Punj V, et al. The bacterial redox protein azurin induces apoptosis in J774 macrophages through complex formation and stabilization of the tumor suppresor protein p53. *Infect Immun* **2002**; 70: 7054-62.
23. Goto M, Yamada T, Kimbara K, et al. Induction of apopitosis in macrophages by *Pseudomonas aeruginosa* azurin: tumor-suppressor protein p53 and reactive oxygen species, but not redox activity, as critical elements in cytotoxicity. *Mol Microbiol* **2003**; 47: 549-59.

## İLETİŞİM

Uz. Dr. İlhan AFŞAR  
İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Mikrobiyoloji ve klinik Mikrobiyoloji laboratuarı  
Basın Sitesi, İZMİR  
e-posta: iafsar@yahoo.com