ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΔΙΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

Ογκολογία: από την Ογκογένεση έως τη Θεραπεία

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ο ρόλος του μικροβιώματος στη θεραπευτική προσέγγιση στον καρκίνο

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Σουγκλάκος Ιωάννης, Αναπληρωτής καθηγητής παθολογικής ογκολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Λυδάκη Δανάη

Α.Μ. 800101140097831

Ιατρός, ειδικευόμενη παθολογικής ογκολογίας,

Κλινικη παθολογικης ογκολογίας, ΠΑΓΝΗ

UNIVERSITY OF CRETE

SCHOOL OF HEALTH SCIENCE

MEDICAL DEPARTMENT

INTERISTITUTIONAL PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES IN ONCOLOGY

Ογκολογία

ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΓΚΟΓΕΝΕΣΗ ΕΩΣ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

MASTER THESIS

Modulating the microbiome to improve the therapeutic outcome in cancer

---

SUPERVISOR: Souglakos Ioannis, Associate Professor of Clinical Oncology, Medical Department, University of Crete

Lydaki Danai

A.M. 80010114009783

Medical doctor, resident in clinical oncology, PAGNI

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης που απονέμει το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης, σε συνεργασία με το Ινστιτούτο Χημικής Βιολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών.

Εγκρίθηκε από τη κάτωθι τριμελή εξεταστική επιτροπή:

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Σουγκλάκος Ιωάννης (επιβλέπων), Παθολόγος Ογκολόγος, Αναπληρωτής καθηγητής παθολογικής ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Μαυρουδής Δημήτριος, Παθολόγος Ογκολόγος, Καθηγητής παθολογικής ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Αγγελάκη Σοφία, Παθολόγος Ογκολόγος, Καθηγήτρια παθολογικής ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Περιεχόμενα:

1. Εισαγωγή
2. Μικροβίωμα του εντέρου και ομοιόσταση
3. Δυσβίωση και καρκινογένεση
4. Αλληλεπίδραση του μικροβιώματος με τις σύγχρονες θεραπείες
5. Πιθανοί θεραπευτικοί χειρισμοί
6. Επίλογος

Περίληψη

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναδειχθεί η πολύπλοκη αλληλεπίδραση του ανθρώπινου οργανισμού με την πληθώρα μικροβίων που συνιστούν την μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου καθώς διαφαίνεται ο ρόλος που παίζει στην διατήρηση της ομοιόστασης και της υγείας αλλά και στην εμπλοκή του στην διαδικασία της νόσησης. Αν και δεν υπάρχει ομοφωνία ως προς το τι συνιστά ένα «υγειές» μικροβίωμα λόγω διαφοροποιήσεων βάσει εθνικότητας, γεωγραφικών συνθηκών, ηλικίας και φύλου, φαίνεται πως πληθυσμοί μικροβίων είναι σταθερά συνδεδεμένοι με νοσηρές καταστάσεις αλλά και με τον καρκίνο. Πρόσφατα διαφοροποίησεις του μικροβιώματος έχουν εντοπιστεί τόσο στο μικροπεριβάλλον του όγκου, αλλά και στον ίδιο τον όγκο ακόμα και σε μη ανατομικά συνδεδεμένες δομές που αναδεικνύουν την στενή σύνδεση μεταξύ αυτού και την καρκινογένεσης. Ωστόσο η αιτιακή σύνδεση αυτών και οι μηχανισμοί αυτής της συσχέτισης παραμένουν ασαφείς και χρήζουν περαιτέρω έρευνας . Η εμβάθυνση στις αλληλεπιδράσεις αυτές μπορούν να προσφέρουν μια καλύτερη κατανόηση τόσο του μηχανισμού της καρκινογένεσης όσο και να προσφέρουν ενδεχόμενα θεραπευτικές στρατηγικές.

Σε αυτή την ανασκόπηση, γίνεται αναφορά σε πρόσφατα δεδομένα που αφορουν εξελίξεις στην κατανόηση του ρόλου μικροβιώματος με έμφαση στην ανάδειξη πρακτικών που έχουνγ στόχο πιθανές θεραπευτικές εφαρμογές αλλά και στην διαμόρφωση ερωτημάτων ως προς τη διαμόρφωση μελλοντικών προσεγγίσεων.

Λέξεις κλειδιά : μικροβίωμα, μικροβιακή χλωρίδα, καρκίνος, καρκινογενεση, θεραπεία καρκίνου

Keywords: Gut microbiome, Microbiome modulation, cancer, immune response, Cancer therapy

Abstract

Recently, advances in research have highlighted the complex interaction between the human gut microbiome and the host, highlighting its role in maintaining the homeostasis of the human organism. Even though there is no consensus about what the exact healthy microbiome profile is, as there are many differences concerning geographical, gender and sex characteristics among hosts, it seems that specific microbiome genders are related to cancer and even associated with the efficacy of various cancer treatments and the occurrence of treatment-related toxicitiy in cancer patients. Advances have been made in analyzing the pathogenetic mechanisms of microbiome induced carcinogenesis and in identifying the microbiome profiling in the tumor microenviroment and in distant organs, as the gut. Understanding these complex interactions can potentially provide us with better understanding of the carcinogenesis progress, contributing to a better therapeutic approach in cancer patients. In this review, we analyze recent bibliography on the potential role of the gut and locally resident bacterial microbiota in cancer, with emphasis on identifying techniques for modulating the microbiome to improve therapeutic response in cancer, as well as provide insights into the cause and management of treatment related side effects.

Εισαγωγή

Το ανθρώπινο μικροβίωμα είναι μια οικολογική κοινότητα συμβιωτικών και παθογόνων μικροοργανισμών όπως βακτήρια, μύκητες, ιοί, αρχαία, πρωτόζωα και έλμινθες οι οποίοι ξεπερνούν δέκα φορές τον αριθμό των κυττάρων του ανθρώπινου σώματος. Οι μεγαλύτεροι πληθυσμοί τους βρίσκονται στο έντερο όπου παίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση του εντερικού βλεννογόνου. Συμμετέχουν στην πέψη του φαγητού, παρέχοντας ενέργεια στα κύτταρα του εντέρου μέσω της παραγωγής λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs) όπως το βουτυρικό οξύ, στην προστασία έναντι των παθογόνων αποτρέποντας την υπερανάπτυξης τους, στην διατήρηση του βλεννογονικού φραγμού και στην ανοσολογική, ορμονική και μεταβολική ρύθμιση του οργανισμού.
Η κατάρριψη της ομοιόστασης του μικροβιώματος γνωστή ως δυσβίωση, η οποία αφορά τη διαταραχή στη σύσταση και τη λειτουργία του έχει εκτενώς συνδεθεί με πληθώρα παθολογιών του εντέρου όπως η ελκώδης κολίτιδα, η νόσος του Crohn και οι λοιμώξεις από κλωστηρίδιο αλλά και με συστηματικές νόσους όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και η μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα. Τις τελευταίες δεκαετίες αναδείχθηκε και η σύνδεση του μικροβιώματος με τον καρκίνο του εντέρου αλλά και άλλων συστημάτων, τόσο ως προς την πιθανή επίδραση του στην καρκινογένεση όσο και στην αξία του σαν βιοδείκτης αλλά και πιθανός θεραπευτικός στόχος που μπορεί να δράσει προληπτικά, ενδεχομένως θεραπευτικά αλλά και τροποποιώντας την απάντηση στις υπάρχουσες θεραπευτικές επιλογές.
Υπάρχει πληθώρα ενδογενών και εξωγενών παραγόντων που μεταβάλλουν τη σύσταση του μικροβιώματος ξεκινώντας από τη μέθοδο τοκετού, το γονιδίωμα, το βιολογικό φύλο, η ηλικία, η γεωγραφική περιοχή και η κουλτούρα, η διατροφή και ο τρόπος ζωής (συμπληρώματα διατροφής, θηλασμός, κατανάλωση φυτικών ινών, φρούτων και λαχανικών, άσκηση), φαρμακευτικά σκευάσματα και ξενοβιοτικά, λοιμώξεις, κατανάλωση αντιβιοτικών και σίγουρα πολλοί άλλοι. Πολλοί από αυτούς τους παράγοντες έχουν συσχετισθεί με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου πολύ καιρό πριν προσδιοριστεί η διαμεσολάβηση του μικροβιώματος στη διαδικασία αυτή και πρόσφατα το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί και στη συνιστώσα αυτή φέρνοντας στο φως διάφορους θεωρητικούς μηχανισμούς.
Το ενδιαφέρον της εμπλοκής του μικροβιώματος στην καρκινογένεση είναι μεγάλο καθώς ο καρκίνος σαν νοσολογική οντότητα είναι μία κατάσταση με μεγάλο κόστος κοινωνικό και ατομικό με όλο και αυξούμενη επίπτωση. Η κατανόηση των μηχανισμών

καρκινογένεσης και των παραγόντων κινδύνου είναι μια αναγκαία διεκδίκηση των εκστρατειών δημόσιας υγείας. Μεταξύ άλλων, μία μεγάλη πρόκληση των ημερών μας είναι να καταφέρουμε εντάξουμε τα δεδομένα του μικροβιώματος στην σύγχρονη ιατρική ακριβείας και να τα χρησιμοποιήσουμε για την ανάπτυξη νέων προσεγγίσεων για την πρόληψη, τη διάγνωση και τη θεραπεία παθήσεων όπως ο καρκίνος.

Μικροβίωμα του εντέρου και ομοιόσταση

Στα θηλαστικά ο αποικισμός του εντέρου με το μικροβίωμα συμβαίνει ταχέως κατά τη διάρκεια της κύησης και της γέννησης. Έχει όμως και το χαρακτηριστικό της πλαστικότητας οπότε μεταβάλλεται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής βάσει διαφόρων παραγόντων ατομικών και περιβαλλοντικών.
Το μικροβιακό οικοσύστημα του εντέρου παίζει σημαντικό ρόλο με πολλούς τρόπους. Η διαδικασία της πέψης της τροφής και η επεξεργασία των ξενοβιοτικών επιτρέπει στον οργανισμό να εξασφαλίσει την απαραίτητη ενέργεια. Το μικροβίωμα του εντέρου συμμετέχει στον μεταβολισμό του οργανισμού συμβάλλοντας στην παραγωγή ενέργειας και σημαντικών για τον οργανισμό ουσιών από την πέψη της τροφής, συμβάλει στη διατήρηση του επιθηλιακού φραγμού και αποτρέπει τον αποικισμό του εντέρου από παθογόνα στελέχη ανταγωνίζοντας τα, ρυθμίζει και μεσολαβεί στο ενδοκρινικό, ανοσοποιητικό και νευρολογικό σύστημα. Η επαφή του εντερικού βλεννογόνου με το εξωτερικό περιβάλλον (τροφές, ξενοβιοτικά αλλά και άλλοι μικροοργανισμοί) οδηγεί σε ενεργοποίηση της φυσικής και επίκτητης ανοσίας που επάγουν τοπικές και συστηματικές φλεγμονώδεις απαντήσεις. Η επαφή με αυτά τα άλλο-αντιγόνα συμβάλει στην ανάπτυξη και ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Η διατήρηση της βλεννογονικής ανοσοποιητικής ομοιόστασης ξεκινάει από την δύσκολη διαδικασία αναγνώρισης των λίγων παθογόνων μικροβίων μεταξύ των πολυάριθμων συμβιωτικών μικροοργανισμών. Κατά τη διαδικασία αυτή ενεργοποιείται η φυσική και η επίκτητη ανοσία που εμποδίζουν την επικράτηση των παθογόνων στελεχών και προάγουν τοπικές και συστηματικές φλεγμονώδεις απαντήσεις. Ο λεμφικός ιστός σχετιζόμενος με το παχύ έντερο (GALT) θεωρείται το μεγαλύτερο ανοσοποιητικό όργανο και αποτελείται από τις πλάκες του Peyer, την σκωληκοειδή απόφυση, τα μεμονωμένα λεμφικά οζίδια και τους μεσεντέριους λεμφαδένες. Είναι υπεύθυνο για την

ενεργοποίηση και την καταστολή της βλεννογονικής ανοσιακής απάντησης και ωριμάζει με τη βοήθεια του μικροβιώματος του εντέρου.

Όταν τα παθογόνα ή τα συμβιωτικά βακτήρια διασχίζουν τον επιθηλιακό φραγμό και εισέρχονται στον οργανισμό πρώτα έρχονται σε επαφή με τα μακροφάγα. Τα αντιγόνα που δεν φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα, προσλαμβάνονται από τα εντερικά δενδριτικά κύτταρα και μεταναστεύουν από τον εντερικό βλεννογόνο στους μεσεντέριους λεμφαδένες, όπου επάγεται μια διαδικασία διαφοροποίησης η οποία οδηγεί στην παραγωγή ρυθμιστικών Τ κυττάρων (Tregs), Τ βοηθητικών 17 κυττάρων (Th17) και Β κύτταρα που εκκρίνουν IgA. Από μελέτες σε ζωικά μοντέλα έχει φανεί πως η ανοσιακή απάντηση αυτή είναι πιο έντονη σε παρουσία πλούσιου μικροβιώματος του εντέρου, όσον αφορά τόσο την παρουσία ανοσοποιητικών κυττάρων στο εντερικό επιθήλιο όσο και στη μετέπειτα παραγωγή τους.

Τα Foxp3+ Τ ρυθμιστικά κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στους ανοσοποιητικούς μηχανισμούς ανοχής. Τα CD4+FOXp3+ Treg κύτταρα που προέρχονται από τα άωρα CD4+Τ κύτταρα στο θύμο (nTreg) και στο έντερο (iTreg) βοηθάνε στη διατήρησης της ανοσιακής ανοχής σε αυτοαντιγόνα. Σε απουσία τους επάγονται διαδικασίες υπερευαισθησίας. Ένα μικρόβιο που εμπλέκεται στην διαδικασία αυτή είναι το Bacteroides fragilis, ένα συμβιωτικό βακτήριο. Αυτό παράγει τον πολυσακχαρίτη Α, οποίος αναστέλλει την παραγωγή ιντερλευκίνες 17 από τα Τ βοηθητικά κύτταρα και ενισχύει την δράση των Tregs. Ο πολυσακχαρίτης αυτός επιπλέον επάγει την διαφοροποίηση των CD4 Τ κυττάρων σε FOXp3+ Tregs.

Τα Th17 κύτταρα που βρίσκονται στον εντερικό βλεννογόνο δρουν προστατεύοντας το επιθήλιο από τα μικροβιακά παθογόνα και φαίνεται πως έχουν αντίθετη δράση από τα Tregs. Είναι μια ειδική κατηγορία των CD4 Τ βοηθητικών κυττάρων που μέσω την ιντερλευκίνης 17 μπορούν να επάγουν φλεγμονή έναντι των παθογόνων αλλά πολλές φορές επάγουν και καταστροφικές αυτοάνοσες φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Συγκεκριμένος τύπος βακτηρίων του εντέρου μπορούν να ενεργοποιήσουν τα κύτταρα αυτά που ονομάζονται «segmented filamentous βακτήρια»

Μια άλλη ευεργετική και σημαντική δράση του εντερικού μικροβιώματος είναι η δυνατότητα του να μεταβολίζει πολυσακχαρίτες που το εντερικό επιθήλιο του ανθρώπου δεν μπορεί να πέψει ή να απορροφήσει. Η αποδόμηση των πολυσακχαριτών αυτών οδηγεί στην παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs) όπως το βουτυρικό, το προπιονικό και το ακετικό οξύ, ουσίες που χρησιμεύουν σαν πηγή ενέργειας για τα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου και συμβάλουν στην διαρκή ανανέωση του

επιθηλίου, ευνοώντας έτσι τη διατήρηση του επιθηλιακού φραγμού. Εξ' αυτών, το βουτυρικό οξύ αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας του εντερικού επιθηλίου, ακολουθούμενο από το προπιονικό και έπειτα το οξικό οξύ. Έχει αποδειχθεί ότι αύξηση των επιπέδων του βουτυρικού οξέος στον εντερικό αυλό δρα προστατευτικά ενάντια στην εμφάνιση ελκώδους κολίτιδας και αλλά φαίνεται να έχει προστατευτικό ρόλο και έναντι της ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου. Έπειτα από την σύνθεση τους, τα οξέα αυτά μεταφέρονται στο ήπαρ όπου και μεταβολίζονται. Όσον αφορά το οξικό οξύ, μετατρέπεται στο συνένζυμο Acetyl-CoA, το οποίο δρα ως πρόδρομη ένωση για την έναρξη της λιπογένεσης. Ενώ αντιθέτως, το προπιονικό οξύ αναστέλλει την λιπογένεση και λόγω της συμμετοχής του στον κύκλο του κιτρικού οξέος, αυξάνει τον ρυθμό γλυκονεογένεσης, δηλαδή το μεταβολικό μονοπάτι για την σύνθεση της γλυκόζης, που είναι η κύρια πηγή ενέργειας του εγκεφάλου. Ακόμα, το προπιονικό οξύ εμποδίζει τη χρησιμοποίηση του οξικού οξέος για την σύνθεση της χοληστερόλης, με αποτέλεσμα να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.
Έλλειψη στα ευνοϊκά αυτά βακτήρια που εμπλέκονται στον μεταβολισμό των πολυσακχαριτών δημιουργεί προδιάθεση για ποικίλες νόσους και αναδεικνύει τον πιθανό ρόλο των SFCAs και του μεταβολώματος του μικροβιώματος σαν πιθανούς βιοδείκτες και διαγνωστικά εργαλεία για τον καρκίνο.
Πλέον γίνεται αναφορά και έρευνα και σε συγκεκριμένα είδη βακτηρίων που εμπλέκονται ενδεχομένως στη διατήρηση τη ομοιόστασης και συγκεκριμένα στην καρκινογένεση με ευεργετικό ή μη τρόπο. Ένα τέτοιο μικρόβιο του οποίου ο ρόλος στην καρκινογένεση έχει πρόσφατα αναδειχθεί είναι το είδος Akkermansia muciniphila. Πρόκειται για βακτήριο ευνοϊκό για το περιβάλλον του εντέρου με δράση έναντι του καρκίνου, καθώς όπως φαίνεται από μελέτες σε βάσεις δεδομένων είναι σημαντικά μειωμένος ο αριθμός του τόσο στο έντερο ποντικιών με καρκίνο του παχέως εντέρου αλλά και ασθενών με αδενώματα και καρκίνο. Αντιστοίχως σε πειράματα σε ποντίκια με από του στόματος θεραπεία για εμπλουτισμό του μικροβιώματος με το είδος αυτό φάνηκε να μειώνει την καρκινογένεση ενισχύοντας την Τ κυτταρική ανοσία και συγκεκριμένα τον αριθμό το Τ κυτταροτοξικων CD8 κυττάρων. Μάλιστα φαίνεται ότι η χρησιμοποίηση και μόνο μιας μεμβρανικής πρωτεΐνης του βακτηρίου μπορεί αν έχει την ίδια επίδραση σε σχέση με τη χρήση του βακτηρίου.(1)

Το εντερικό μικροβίωμα αποτελείται από μεγάλη ποικιλία μικροβιακών πληθυσμών όπως βακτήρια, αρχαία, μύκητες ιοί και παράσιτα και υπάρχει . Η σύσταση του μπορεί

να μελετηθεί τόσο σε δείγματα ιστών όσο και δείγματα κοπράνων με την δεύτερη μέθοδο να αποτελεί τη συνηθέστερη καθώς είναι πιο εύκολη και μη παρεμβατική. Τα περισσότερα βακτήρια που αποικίζουν το γαστρεντερικό σωλήνα είναι αναερόβια και δύσκολο συνεπώς να καλλιεργηθούν οπότε οι μοριακή μέθοδος αλληλούχισης του 16s rRNA και οι πρόσφατες εξελίξεις στη μεταγενωμική μοριακή βιολογία συνετέλεσαν στην αλματώδη έρευνα των τελευταίως χρόνων.
Τα μικροβιακά είδη που αποικίζουν το γαστρεντερικό σωλήνα διαφοροποιούνται κατά μήκος του επηρεαζόμενα από τις ανατομικές και λειτουργικές παραμέτρους. Υπάρχει περιορισμένη ποικιλότητα στον οισοφάγο όπου το επικρατές μικροβιακό είδος είναι οι στρεπτόκοκκοι. Παρομοίως το στομάχι όπου λόγω του όξινου Ph διαμορφώνεται ένα δυσμενές περιβάλλον. Το λεπτό και παχύ έντερο αποικίζονται από μεγαλύτερο αριθμό και ποικιλότητα βακτηρίων, με το λεπτό έντερο να εμφανίζει το μικρότερο φορτίο λόγω διαφόρων παραγόντων όπως μεγαλύτερη διέλευση πεπτικών ενζύμων, μικρότερος χρόνος διέλευσης κοπράνων και ηπιότερη πέψη των τροφικών συστατικών.
Είναι επισφαλής γενίκευση το να ορίσουμε ποια ακριβώς είναι η σύσταση του «ευνοϊκού μικροβιώματος» καθώς υπάρχουν διαφορές στη σύσταση αυτού ακόμα και μεταξύ υγιών δοτών. Όπως έχει ήδη αναφερθεί , διαφορές στα ατομικά χαρακτηριστικά τόσο τα γενετικά όσο και τα περιβαλλοντικά επιδρούν δραστικά στη σύσταση και την ποικιλότητα του μικροβιώματος επηρεάζοντας την προδιάθεση του ατόμου για διαφορετικές νόσους. Ωστόσο έχει φανεί ότι σε επίπεδο ατόμου αυτά τα χαρακτηριστικά του μικροβιώματος παραμένουν σταθερά στο χρόνο οπότε η παρακολούθηση του μπορεί να είναι χρήσιμη. Γενικώς το «υγιές μικροβίωμα» χαρακτηρίζεται από μεγάλο αριθμό μικροβίων που θεωρούνται ευνοϊκά αλλά υψηλή ποικιλότητα ειδών, δηλαδή πληθώρα διαφορετικών ειδών μικροβίων.

Τα βακτήρια ταξινομούνται εν γένει σε φύλα, ομοταξίες, υφομοταξίες, οικογένειες, γένη και είδη. Τα επικρατή βακτηριακά φύλα που απαρτίζουν το 94% του μικροβιώματος του εντέρου είναι τα Firmicutes, Bacteroidetes,Proteobacteria και Actinobacteria με τα δύο πρώτα να είναι τα πολυπληθέστερα (2). Παραδείγματα γενών στο φύλο Firmicutes είναι οι Lactobacillus, Bacillus, Clostridium, Enterococcus και Ruminococcus, ενώ το φύλο Bacteroidetes αποτελείται κυρίως από Bacteroides και Prevotella. Τέλος το γένος Bifidobacterium είναι το κυρίως συστατικό του φύλου Actinobacteria. Το μικροβίωμα παρουσιάζει πλαστικότητα και αναδιαμορφώνεται παροδικά βάσει των συνθηκών, για παράδειγμα σε καταστάσεις στρες ή σε αλλαγή διατροφικών συνηθειών. Ωστόσο χρόνια

διατάραξη που οδηγεί σε πιο μακροχρόνιες αλλαγές και σε δυσβίωση φαίνεται να συσχετίζεται με την ανάπτυξη διαφόρων νόσων και γι αυτό το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει αυξηθεί για τη μελέτη του και την αποκωδικοποίηση των μηχανισμών που μεσολαβούν, με στόχο τη διαμόρφωση προληπτικών και θεραπευτικών στρατηγικών.

Δυσβίωση και καρκινογένεση

Η ομοιόσταση μεταξύ των παθογόνων μικροβίων του εντέρου, των συμβιωτικών μικροβίων του μικροβιώματος και του εντερικού επιθηλίου είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της υγείας του βλεννογόνου του εντέρου. Η κατάργηση της ομοιόστασης αυτής αποτελεί την δυσβίωση, η οποία έχει αποδειχτεί πως συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νόσων του γαστρεντερικού συστήματος όπως οι ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου και οι κλωστηριδιακές λοιμώξεις, αλλά και συστηματικών νόσων όπως η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου ΙΙ και η αλκοολική νόσος του ήπατος. Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναδειχτεί και ο ρόλος της δυσβίωσης στην καρκινογένεση φέρνοντας στο φως δυνατότητες για αναζήτηση νέων διαγνωστικών βιοδεικτών αλλά και θεραπευτικών στόχων.

Όλο και περισσότερα δεδομένα προκύπτουν τα τελευταία χρόνια που επιβεβαιώνουν τη θεωρία της εμπλοκής του μικροβιώματος στη διαδικασία της καρκινογένεσης μέσω της θεωρίας της δυσβίωσης και γίνεται προσπάθεια να αποκωδικοποιηθούν οι μηχανισμοί που μεσολαβούν. Φαίνεται πως οι κύριοι μηχανισμοί είναι το μονοπάτι της φλεγμονής και η διαδικασία της βλάβης στο γενετικό υλικό του ξενιστή με γενοτοξικές ουσίες που παράγονται.

Όσον αφορά την σύνδεση της φλεγμονής με τον καρκίνο, η πρώτη αναφορά έγινε από τον Rudolf Virchow, ο οποίος παρατήρησε την παρουσία λευκοκυττάρων μέσα στους όγκους το 1863. Η χρόνια φλεγμονή είναι πλέον γνωστός προδιαθεσικός παράγοντας για ανάπτυξη καρκίνου, όπως για παράδειγμα οι ασθενείς με ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου. Σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής ο επιθηλιακός εντερικός φραγμός διαρρηγνύεται με αποτέλεσμα τα βακτήρια του μικροβιώματος να διηθούν τον βλεννογόνο, τον όγκο και το μικροπεριβάλλον του, ενεργοποιώντας ποικίλα μονοπάτια σηματοδότησης. Τις τελευταίες δεκαετίες επιβεβαιώθηκαν και πειραματικά οι θεωρίες

αυτές, κυρίως με την κατανόηση των σηματοδοτικών μονοπατιών αυτών που επάγονται από συγκεκριμένα βακτήρια που θεωρείται ότι οποία ευνοούν την καρκινογένεση.

Ενώ πολλές μελέτες έχουν εντοπίσει συγκεκριμένες ταξονομικές ομάδες βακτηριων που ενοχοποιούνται για την εμπλοκή τους στον καρκίνο, ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει προσελκύσει το βακτήριο F.nucleatum που σχετίζεται με περιοδοντική νόσο. Σε πειραματικά ζωικά μοντέλα φαίνεται να επάγει την καρκινογένεση, ενώ σε αναδρομικές κλινικές μελέτες φάνηκε πως βρίσκεται σε αυξούμενο αριθμό στον ιστό όσο προοδεύει η διαδικασία της καρκινογένεσης από πολύποδα σε καρκίνο. Συγκεκριμένα αναστέλλει την θανάτωση των καρκινικών κυττάρων από τα κύτταρα φυσικούς φονείς μέσω μίας επιφανειακής πρωτεΐνης (adhesin Fap2), η οποία συνδέεται στον ανθρώπινο ανασταλτικό υποδοχέα των Τ κυττάρων (ITIM) και ενισχύει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό τους μέσω της έκκρισης πρωτεϊνών όπως η FadA (Fusobacterium adhesin A), η οποία προσδένεται στην E-cadherin και ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μονοπάτι της β-κατενίνης. Οι πρωτεΐνες αυτές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ενδεχομένως σαν θεραπευτικοί και διαγνωστικοί στόχοι. Επίσης πιθανώς να εμπλέκεται στην μεταστατική ιδιότητα των όγκων καθώς ανιχνεύεται στις μεταστάσεις σε ήπαρ και λεμφαδένες. Τέλος αναφέρεται πως αποικισμός με το μικρόβιο αυτό σχετίζεται ιδιαιτέρως με τη μικροδορυφορική αστάθεια, αυξημένη πιθανότητα υποτροπής μετα από θεραπεία και μικρότερη επιβίωση, καθιστώντας το πιθανώς προγνωστικό βιοδείκτη.(3) Άλλο βακτήριο της στοματικής και εντερικής κοιλότητας, το είδος Peptostreptococcus anaerobius, φαίνεται να επάγει την καρκινογένεση σε πειραματικά ζωικά μοντέλα μέσω της επιφανειακής πρωτεΐνης που φέρει, η οποία ενεργοποιεί το ογκογόνο σηματοδοτικό μονοπάτι της PI3K-Akt.

Το εντεροτοξινογόνο B. fragilis εκκρίνει τοξίνη η οποία διασπάει την E-cadherin στα επιθηλιακά εντεροκύτταρα, διαταράσσοντας τον επιθηλιακό φραγμό. Επιπλέον προωθεί την καρκινογένεση εκκρίνοντας σωματίδια τα οποία επάγουν την παραγωγή χημειοκινών και προσταγλανδίνης Ε2 και την περαιτέρω προσέλκυση και πολλαπλασιασμό Th17 κυττάρων.

Τέλος αναφορά γίνεται στα είδη E.Coli καθώς επιβεβαιώνεται πως ο υπότυπος B2 βρίσκεται σε αυξημένη συγκέντρωση σε βλεννώδεις μεμβράνες των ασθενών με καρκίνο. Σε πειράματα σε καρκινικά κύτταρα φαίνεται να παρεμβαίνουν στον κυτταρικό

κύκλο και να επάγουν την αθανατοποίηση τους. Αυτό το φαινόμενο οφείλεται στην παραγωγή ουριών που ονομάζονται κυκλομοντουλίνες με πιο γνωστή την κολιμπακτίνη και επάγουν θραύση της διπλής έλικας του DNA. (4)

Ένας άλλος μηχανισμός καρκινογένεσης όπως προαναφέρθηκε είναι μέσω βλαβών στο DNA που προκαλούνται από τις γενοτοξίνες που παράγονται από τα μικρόβια, όπως για παράδειγμα η κολιμπακτίνη που παράγεται από το E. Coli, ευνοώντας την αθανατοποίηση των καρκινικών κυττάρων. Τέτοιες γενοτοξίνες παράγονται και από άλλα μικρόβια όπως το Campylobacter jejuni και η Salmonella, την τυφοειδή τοξίνη που ενεργοποιεί το μονοπάτι PI3K. Βλάβες στο DNA όμως προκαλούνται και από το οξειδωτικό στρες που προκαλείται στους ιστούς στα πλαίσια της χρόνιας φλεγμονής μέσω προοξειδωτικών μορίων όπως τα ROS(reactive oxygen species) και RNS (reactive nitrogen species) που παράγονται από τα φλεγμονώδη κύτταρα, αλλά ορισμένες φορές και από τα ίδια τα μικρόβια. Για παράδειγμα το είδος E. faecalis παράγει ρίζες υδροξυλίου και το είδος P. anaerobius ενεργοποιεί την ενδογενή παραγωγή ROS στα κύτταρα του εντερικού επιθηλίου ενεργοποιώντας τους TLR2/TLR4.

Οι βιομεμβράνες είναι μία αναδυόμενη θεωρία εναλλακτικού μηχανισμού στην εμπλοκή του μικροβιώματος στην καρκινογένεση καθώς εντοπίζονται στο 50% των ασθενών με καρκίνο του παχέως εντέρου ενώ μόνο στο 13% του γενικού πληθυσμού. Οι βιομεμβράνες είναι μεγάλες συγκεντρώσεις μικροβιακών πληθυσμών που εγκυστώνονται εντός μίας συγκολλητικής μήτρα, την οποία και κατασκευάζουν, στην δημιουργία της οποίας μάλιστα φαίνεται μεταξύ άλλων να εμπλέκεται και το είδος fusobacterium (3). Διεισδύουν στην βλεννογονική επίστρωση και έρχονται σε άμεση επαφή με τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Σε πρόσφατες αναδρομικές μελέτες διαπιστώθηκε πως ήταν παρούσες στην πλειονότητα των καρκίνων ανιόντος κόλου (στο 89%) και σε πολύ μικρότερο ποσοστό στο κατιόν (στο 12%), ενώ συνδέονταν με αναστολή της E-cadherin, αυξημένη διαπερατότητα εντερικού φραγμού και αυξημένη ενεργοποίησης των μονοπατιών IL-6 και STAT3, που επάγουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων.

Τέλος το μικροβίωμα μέσω της πέψης της τροφής μπορεί να ευνοήσει ή να δράσει προληπτικά προς την εμφάνιση καρκίνου. Η δίαιτα γενικά είναι γνωστό ότι επηρεάζει σε πολλά επίπεδα την υγεία του οργανισμού αλλά πρόσφατα αναδεικνύεται έντονα η

διαμεσολάβηση του μικροβιώματος στη διαδικασία αυτή, καθώς η διατροφή μπορεί να αλλάξει την σύσταση και την ποικιλότητα του μικροβιώματος. Συγκεκριμένα δίαιτες με υψηλά επίπεδα ζωικής πρωτεΐνης και λίπους ευνοούν την ανάπτυξη του είδους Bacteroides, ενώ δίαιτες πλούσιες σε υδατάνθρακες ευνοούν το είδος Prevotella. Το μικροβίωμα ως μεσολαβητής μεταξύ της τροφής και του ξενιστή μεταβολίζει άπεπτα διατροφικά συστατικά που φτάνουν στο λεπτό και παχύ έντερο όπως ολιγοσακχαρίτες. Οργανικά οξέα, ιδίως τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs) όπως το βουτυρικό, ακετικο και προπιονικό είναι τα επικρατή προϊόντα πέψης σε άτομα που ακολουθούν ισορροπημένη διατροφή. Ωστόσο σε λιγότερο ισορροπημένες δίαιτες ο μικροβιακός καταβολισμός παράγει προ-καρκινογόνα όπως δευτερογενή χολικά οξέα, παράγωγα νιτρωδών NOCs και υδροθειο (H2S).

Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs) είναι το κύριο προϊόν πέψης του μικροβιώματος του εντέρου. Μεταξύ αυτών το βουτυρικό παρουσιάζει την πιο προστατευτική δράση προς τον οργανισμό και παράγεται απο το φύλο των Firmicutes μέσω της ζύμωσης των διαιτητικών ινών και των αμυλούχων. Δράει σαν πηγή ενέργειας για τα κολονοκύτταρα και ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων. Επιπλέον έχει συνδεθει παθοφυσιολογικά με απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα. Εν γένει τα οξεά αυτά μειώνουν το PH στον αυλό του εντέρου μειώνοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό των παθογόνων μικροβίων και ρυθμίζουν το τοπικό ανοσοποιητικό σύστημα ρυθμίζοντας την διαφοροποίηση των κολονικών T κυττάρων. Σε κλινικές αναδρομικές μελέτες συσχετίστηκε ο χαμηλός αριθμός των SCFAs με αυξημένο κινδυνο ανάπτυξης καρκινου.

Ο μεταβολισμός των χολικών οξέων είναι μία άλλη σημαντική ιδιότητα του μικροβιώματος του εντέρου. Τα πρωτογενή χολικά οξέα παράγονται στο ήπαρ από χοληστερόλη και μεταβολίζονται σε δευτερογενείς μορφές τους από τα μικρόβια του εντέρου. Πιθανολογείται πως η δίαιτα πλούσια σε λιπαρά αυξάνει το ρίσκο καρκινογένεσης μέσω μεσω την αυξημένης παραγωγής αυτών των δευτερογενών λιπαρών οξέων στα κόπρανα. Αποδεδειγμένα σε ζωικά μοντέλα η δίαιτα αυτή οδηγεί σε καρκινογένεση και φάνηκε πως μεσολαβεί υψηλότερος πολλαπλασιασμός επιθηλιακών κυττάρων στις κρύπτες, διαταραγμένη μεταφορά χολικών οξέων και ενεργότητα του υποδοχέα του faresoid X (FXR), ενός πυρηνικού υποδοχέα χολικών οξέων. Αυτά τα ευρήματα υπονοούν την εμπλοκή των λιπαρών στην καρκινογένεση μέσω της απενεργοποιησης του FXR που οδηγεί σε απορρύθμιση του κύκλου των χολικών οξέων.

Επίσης τα χολικά οξέα έχει φανεί να έχουν γενοτοξικές δράσεις μέσω επαγωγής οξειδωτικου στρες από παραγώμενες ROS.

Η υψηλή πρωτεϊνική πρόσληψη αυξάνει την παραγωγη προκαρκινογόνων ουσιών όπως NOCs και H2S από τα βακτήρια του μικροβιώματος. Οι μεταλλαξιογόνες ιδιότητες των NOCs μέσολαβούνται πιθανόν μέσω της αλκυλίωσης του DNA, ενώ το υδρόθειο H25 εμπλέκεται στο μεταβολισμό του βουτυρικού οξέως.

Τέλος, δεν πρέπει να παραγνωρίζεται η εμπλοκή του μικροβιώματος στην έκβαση των διάφορων υπαρχουσών θεραπειών, καθώς φαίνεται να τροποποιεί με διάφορους τρόπους το θεραπευτικό αποτέλεσμα τους άλλοτε ευνοώντας την κυτταροτοξική τους δράση και άλλοτε αναστέλλοντας την. Εκτενέστερη αναφορά στο θέμα αυτό θα γίνει αργότερα καθώς και η συγκεκριμένη προσέγγιση μας δίνει τη δυνατότητα ανάπτυξης τακτικών που βοηθάνε στην προληπτική, διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση του καρκίνου.

Παρά τις αυξανόμενες γνώσεις μας για τα μικρόβια και τους εμπλεκόμενους μηχανισμούς που αυτά ενεργοποιούν είναι δύσκολο να προσδιοριστεί επακριβώς η σύσταση ενός «δυσβιωτικού μικροβιώματος» καθώς φαίνεται πως τόσο τα παθογόνα όσο και τα συμβιωτικά μικρόβια υπο συγκεκριμένες συνθήκες μπορεί να παίξουν ρόλο στην καρκινογένεση. Επιπλέον, αν και συγκεκριμένα μικρόβια έχουν συσχετιστεί με συγκεκριμένους κακρινογενετικούς μηχανισμούς τα οποία θεωρούνται ογκογόνα στελέχη, φαίνεται πως εν τέλει ρόλο παίζει και το σύνολο του μικροβιώματος σαν σύστημα, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των επιμέρους στοιχείων που το απαρτίζουν αλλά και το μεταβόλωμα τους σαν σύνολο. Παρ’όλ΄αυτά οι σημερινές τεχνικές μοριακής βιολογίας μας επέτρεψαν να αναλύσουμε πολλά δείγματα υγιών και ασθενών και φαίνεται πως προκύπτουν ορισμένα μοτίβα που διαφέρουν μεταξύ αυτών.(5) Όσον αφορά τον καρκίνο του παχέως εντέρου έχει φανεί ότι οι ασθενείς παρουσιάζουν μειωμένη ποικιλότητα και μέγεθος μικροβιακού φορτίου, βάσει μελετών σε ποντίκια και ανθρώπινα δείγματα βλεννογόνου του εντέρου και κοπράνων, που αφορούν κυρίως τα συμβιωτικά μικρόβια και εκείνα που παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της βλεννογονικής ανοσιακής απάντησης.(6)

Παρα τις προβληματικές όμως, διάφορα είδη μικροβίων έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο. Έχει φανεί πως γενικά οι ασθενείς παρουσιάζουν μικρότερη ποικιλία στα φύλα

μικροβίων των Firmicutes, τα οποία είναι τα κύρια μικρόβια που παράγουν βουτυρικό οξύ (Fusobacterium, Gemella, Faecalibacterium, Blautia, Enterococcus, Subdoligranulum, Dorea, Megamonas and Streptococcus) και των Actinobacteria (Bifidobacterium και Collinsella). Επιπλέον έχει παρατηρηθεί μικρότερη αναλογία Firmicutes προς Bacteroidetes (Bacteroides, Prevotella, Parabacteroides and Porphyromonas).

Κάνοντας ανασκόπηση σε επίπεδο οικογενειών και γένους τα πράγματα είναι πιο περίπλοκα. Το βακτηριο Streptococcus bovis (S. bovis), ένας gram θετικό κόκκος, είναι γνωστός παράγοντας κινδύνου για καρκίνο παχέως εντέρου. Τα εντεροτοξινογόνα στελέχη του Bacteroides fragilis, ένα βακτήριο που παράγει τοξίνη, προκαλεί διάρροια και φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου. Τα προβιοτικά μικρόβια Bacteroides είναι μειωμένα και έχουν συσχετιστεί με ενισχυτική επίδραση επι της ανοσοθεραπείας Το Fusobacterium nucleatum (F. nucleatum) βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα αδενώματα και στους καρκίνους και μάλλον συνεισφέρει στην εξέλιξη ενός αδενώματος σε καρκίνο. (7,8) Σε πρόσφατη μελέτη το F. Nucleatum ήταν αυξημένο σε ασθενείς με πρωιμο καρκίνο παχέως εντέρου και ήταν δείκτης κακής πρόγνωσης. Τέλος έρευνες αναφέρουν πως τα βακτήρια Enterococcus faecalis (E. faecalis) και Peptostreptococcus anaerobius (P. anaerobius) ήταν αυξημένα σε ασθενείς με καρκίνο παχέως εντέρου, όπως και το E. Coli αν και είναι ένα συμβιωτικό βακτήριο. Το E. faecalis επάγει την παραγωγή υπεροξειδίων τα οποία καταστρέφουν το γενετικό υλικό στα επιθηλιακά κύτταρα. Το γένος Akkermansia είναι από τα λίγα είδη που έχει χαρακτηριστεί ως ενδεικτικά υγιούς μικροβιώματος, λόγω της αντιφλεγμονώδους δράσης του, όπως και το Faecalibacterium βακτήριο που παραγει λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου και δραει συνεργικα με την ανοσοθεραπεία. (9)Σε μία άλλη μελέτη που αφορούσε ασθενείς με καρκίνο παχέως εντέρου ανευρέθη μείωση στην ποικιλότητα ιδίως των Clostridia και αύξηση στα Fusobacterium nucleatum και Porphyromonas (10) . Οι περισσότερες μελέτες αναδεικνύουν μείωση στα βακτήρια που αποδομούν τις φυτικές ίνες σε λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs) στο έντερο.

Αλληλεπίδραση του μικροβιώματος με τις σύγχρονες θεραπείες

Όπως προαναφέρθηκε, εκτός από την εμπλοκή του μικροβιώματος στην καρκινογένεση, υπάρχουν όλο και αυξανόμενες ενδείξεις και ενδιαφέρον για την επίδραση του στην αποτελεσματικότητα των διάφορων θεραπειών καθώς αναδεικνύεται η δυνατότητα χρήσης του ως προβλεπτικός δείκτης. Παράλληλα βέβαια η προσέγγιση αυτή μπορεί να βοηθήσει σε κλινικές αποφάσεις ως προς την ορθολογική χρήση τους για να επιτευχθεί το μέγιστο δυνατό αποτέλεσμα και οι λιγότερες δυνατές ανεπιθύμητες ενεργειες. Βεβαίως υπάρχει μία αμφίδρομη αλληλεπίδραση στις συσχετίσεις αυτές καθώς τόσο πολλά φάρμακα μεταβολίζονται από τα εντερικά βακτήρια με συγκεκριμένο τρόπο που οδηγεί σε διαφορετική αποτελεσματικότητα των θεραπειών αυτών μεταξύ των διαφόρων ατόμων, αλλά και οι ίδιες οι συστηματικές θεραπείες επηρεάζουν την σύσταση και τη λειτουργία του μικροβιώματος.

Χημειοθεραπεία

Αν και οι περισσοτερες μελέτες έχουν γίνει σε προκλινικό επίπεδο, υπάρχουν ενδείξεις πως το μικροβίωμα του εντέρου παρέχει προβλεπτική αξία για την ανταπόκριση σε διάφορες χημειοθεραπείες αλλά και εμπλέκεται με διάφορους μηχανισμούς στην αντοχή σε αυτές. Ειδικά για τύπους καρκίνου όπως ο καρκίνος του παχέως εντέρου όπου η ριζοσπαστική ανοσοθεραπεία δεν προσφέρει ιδιαίτερο όφελος, είναι σημαντικό να αναδειχθούν και να αποκωδικοποιηθούν οι μηχανισμοί αυτοί, με στόχο την ανεύρεση τακτικών για αναστροφή της χημειοανθεκτικότητας αυτής και την πιο ορθολογική χρήση της κατάλληλης χημειοθεραπείας.

Η οξαλιπλατίνη προκαλεί βλάβες στο DNA μέσω θραύσης στις αλύσους του DNA και διασταυρούμενης σύνδεσης μεταξύ αυτών και η δράση της εξαρτάται αρκετά από ένα άθικτο μικροβίωμα. Τα βακτήρια της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου ενισχύουν την δράση της, αυξάνοντας την παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου στα μυελοειδή κύτταρα που διηθούν τον όγκο και εμποδίζοντας έτσι την ανάπτυξη του. Ωστόσο μετά από μακροχρόνια χρήση αντιβιοτικών και επειδή οι ρίζες οξυγόνου είναι απαραίτητες για την κυτταροτοξική της δράση, αυτή μειώνεται με αποτέλεσμα χειρότερη πρόγνωση σε πολλά πειράματα σε ζωικά μοντέλα, με ποντίκια που έχουν ήδη έλλειμα στο μονοπάτι σηματοδότησης εξαρτώμενο από TLR να μην ανταποκρίνονται καλά στην οξαλιπλατίνη. Συνεπώς τα βακτήρια ευοδώνουν τη δράση της οξαλιπλατίνης ενεργοποιώντας

συστηματικά την παραγωγή μυελοειδών κυττάρων σχετιζόμενα με τον όγκο για παραγωγή ROS. (11) Επιπλέον η οξαλιπλατίνη προκαλεί κυτταρική απόπτωση στις κρύπτες του ειλεού αλλά όχι του παχέως εντέρου, συνθήκη η οποία επίσης προκαλεί συστηματική φλεγμονή και ανοσολογική απάντηση επιμηκύνοντας την ελεύθερη υποτροπής επιβίωση και ενισχύοντας την προσέλκυση TILS και Τ βοηθητικών κυττάρων. Μετά από τη χορήγηση αντιβιοτικών η διαδικασία αυτή αναστέλλεται και αντιστοίχως και η αντικαρκινική δράση.

Πρόσφατα προέκυψαν δεδομένα για την συσχέτιση του βακτηρίου Akkermansia muciniphila με το θεραπευτικό αποτέλεσμα του FOLFOX στον καρκίνο του παχέως εντέρου. Το βακτήριο αυτό είναι η κύρια πηγή προπιονικού οξέως στο έντερο, που του προσδίδει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, και φαίνεται να βρίσκεται σε αφθονίας στο εντερικό μικροβίωμα των υγιών ατόμων ενώ μειώνεται άτομα αδενώματα αλλά και ασθενείς με καρκίνο παχέως εντέρου. Η μελέτη που έγινε in vivo αφορούσε ζωικά μοντέλα και ανέδειξε θετική συσχέτιση αποικισμού με A. muciniphila με καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα του FOLFOX.(12) Ωστόσο σε πειραματικά μοντέλα του 2022 προέκυψαν τα αντίθετα αποτελέσματα αυξάνοντας το κίνδυνο καρκινογένεσης σε ποντίκια, οπότε περαιτέρω έρευνα απαιτείται (13)

Η κυκλοφωσφαμίδη ανήκει στην ομάδα φαρμάκων αλκυλιωτικού παράγοντα και μουστάρδας αζώτου και παρεμβαίνει στον διπλασιασμό του DNA.Παράλληλα προκαλεί μείωση στα ρυθμιστικά Τ κύτταρα και αύξηση στον αριθμό των βοηθητικών Τ (Th1) και των Th17 κυττάρων αλλά και επιπλέον την διαπερατότητα του εντέρου. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται συσχέτιση μεταξύ του μικροβιώματος και των ανοσοαπαντήσεων των βοηθητικών Τ κυττάρων του βλεννογόνου που προκαλούνται από την δράση της κυκλοφωσφαμίδης. Σε πειράματα σε ζωικά μοντέλα με διαταραγμένο μικροβίωμα φάνηκε μικρότερη συγκέντρωση Τ κυττάρων και μεγαλύτερη αντίσταση στη συγκεκριμένη θεραπεία. Συγκεκριμένα φάνηκε gram θετικα μικρόβια όπως τα Enterococcus hirae, Lactobacillus johnsonii και Lactobacillus murinus να επεμβαίνουν στη ρύθμιση της δραστικότητας της κυκλοφωσφαμίδης. (14)

Η ιρινοτεκάνη, ένας χημικοθεραπευτικός παράγοντας που δρα αναστέλλοντας την τοποϊσομεράση 1 με αποτέλεσμα βλάβη στο DNA και κυτταρικό θάνατο. Πιο συγκεκριμένα η ιρινοτεκάνη είναι ένα προφάρμακο που μεταβολίζεται στον ενεργό μεταβολίτη SN-38 in vivo μέσω καρβοξυλεστεράσης. Ο μεταβολίτης αυτός απενεργοποιείται μέσω γλυκουρονιδίωσης σε SN-38G με το ενζυμο

UDP-γλυκουρονοσυλτρανσφεράσης. Οι γλυκουρονιδάσες αποδομούν τα γλυκουρονίδια σε διοξείδιο. Η χρήση αναστολέων που στοχεύουν ειδικά τις γλυκουρονιδάσες αυτές στα βακτήρια του εντέρου φαίνεται να ενσχύει με τον μηχανισμό αυτό τη δράση της ιρινοτεκάνης. (15)

Άλλα χημικοθεραπευτικά όπως η 5-φθοριοουρακίλη φαίνεται να προκαλούν δυσβίωση σε προκλινικές μελέτες, χωρίς αντιθέτως να επηρεάζονται από το στάτους του μικροβιώματος. Συγκεκριμένα η χρήση της οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των ειδών των Staphylococcus και Clostridium και μείωση των Bacteroides και Lactobacillus, ενώ σε συνδυασό με ιρινοτεκάνη αυξάνει τον αριθμό των Enterobacteriaceae.

Σε ορισμένες περιπτώσεις ωστόσο τα βακτήρια έχουν συνδεθεί με μειωμένο κυτταροτοξικό αποτέλεσμα των θεραπειών όπως στην περίπτωση της γεμσιταμπίνης. Η γεμσιταμπίνη είναι ένα νουκλεοτιδικό ανάλογο το οποίο μεταβολίζεται από βακτήρια στην μη δραστική μορφή του. Ο μεταβολισμός της μεσολαβείται από το ένζυμο δεαμινιδάση της κυτιδίνης (CDDL), το οποίο εντοπίζεται κυρίως στα Gammaproteobacteria τα οποία αποικίζουν το παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα και του καρκίνους παχέως εντέρου. Πειράματα σε ζωικά μοντέλα έδειξαν πως επαγόταν αντοχή στη γεμσιταμπίνη μέσω των βακτηρίων αυτών όταν διηθούσαν τον όγκο, ενώ αντιθέτως αναστελλόταν με τη χρήση σιπροφλοξασίνης. Έτσι μετά από χρήση αντιβιοτικών το θεραπευτικό αποτέλεσμα της γεμσιταμπίνης ενισχυόταν. (16)

Ένας άλλος μηχανισμός με τον οποίο συμβάλουν στην χημειοανθεκτικότητα τα μικρόβια είναι μέσω της επαγωγής αυτοφαγίας στα κύτταρα του παχέως εντέρου. Συγκεκριμένα το Fusobacterium (F.) nucleatum έχει συνδεθεί με τη καρκινογένεση καθώς βρίσκεται σε σταδιακά αυξανόμενο αριθμό από το υγιές μικροβίωμα, στο μικροβίωμα ασθενών με αδενώματα και με αδενοκαρκινώματα παχέως εντέρου. Επίσης όμως βρέθηκε αυξημένο σε ασθενείς με υποτροπιάζων καρκίνο παχέως εντέρου μετά από χημειοθεραπεία. Αυτό το εύρημα αναδεικνύει την πιθανή συμβολή του στην χημειοανθεκτικότητα και φαίνεται ότι αυτό το προκαλεί μέσω στόχευσης των miR-18a* and miR-4802 και την ενεργοποίηση του μονοπατιού της αυτοφαγίας. Παθοφυσιολογικά το F. nucleatum ενορχηστρώνει ένα μοριακό δίκτυο που εμπλέκει Toll-like υποδοχείς και microRNAs το οποίο οδηγεί στην αυτοφαγία και χημειοανθεκτικότητα στην οξαλιπλατίνη και στην 5-φθοριοουρακιλη. Αναλύοντας εκτενέστερα το μηχανισμό αυτό και πιθανούς τρόπους στόχευσης του μπορεί να επιφέρει καλύτερη κλινική διαχείριση. [(17)]

Ανοσοθεραπεία

Νεοπλάσματα που παρουσιάζουν ελλαττωματικό σύστημα επιδιόρθωσης βλαβών του DNA ή μικροδορυφορική αστάθεια επωφελούνται ιδιαιτέρως από την ανοσοθεραπεία. Όσον αφορά την αλληλεπίδραση της με το μικροβίωμα υπάρχουν πολλές ενδείξεις υπέρ της συσχέτισης τους. Αν και δεν έχουν συσχετισθεί σαφώς συγκεκριμένα βακτηριακά στελέχη με την απάντηση στην ανοσοθεραπεία, έχει φανεί πως αυτή μπορεί να ενισχυθεί από πρακτικές που επεμβαίνουν στο σύνολο του μικροβιώματος και όχι εκλεκτικά, όπως η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων που μεταφέρει το σύνολο του εντερικού μικροβιώματος από τον δότη στον λήπτη.

Ωστόσο εν γένει έχει συσχετισθεί καλύτερη ανταπόκριση με τα χαμηλά ποσοστά των Bacteroides και Prevotella και αντιθέτως καλύτερη σε αποικισμό με τα είδη Akkermansia muciniphila, Alistipes indistinctus, Bifidobacterium breve, Propionibacterium acnes, Prevotella copri, Rikenellaceae, Staphylococcus aureus, Streptococcus, Peptostreptococcus, Oscillospira, Faecalibacterium prausnitzi, Bacteroides plebeius, Enterobacteriaceae, και Enterococcus hirae. Θεωρείται πως τα ευεργετικά αυτά είδη αυξάνουν τοπικά τη συγκέντρωση των δενδριτικών κυττάρων, την έκφραση του MHC και την ενεργοποίηση των Τ κυτταροτοξικων κυττάρων ενισχύοντας έτσι την ανοσοποιητική δράση των αντι PD-L1/PD-1/CTLA-4 έναντι των καρκινικών κυττάρων. Σε πειραματικά μοντέλα φαίνεται πως η εξωγενής χορήγηση ειδών που συγκαταλέγονται στα ευνοϊκά όπως Bifidobacteria και Akkermansia municiphila έχουν την δυνατότητα να ενισχύσουν τη δράση των ανοσοθεραπειών.(18)

Ευρήματα που υποστηρίζουν αυτή τη σύνδεση σύστασης μικροβιώματος με την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία είναι και τα αποτελέσματα μελετών που δίνουν έμμεσες ενδείξεις μέσω της τροποποίησης του με τη χρήση για παράδειγμα αντιβιοτικών. Συγκεκριμένα φαίνεται πως η λήψη αντιβιοτικών εντός ενός μήνα από τη εφαρμογή της μειώνουν σημαντικά την αποτελεσματικότητα της, μειώνοντας τόσο το ελεύθερο υποτροπής διάστημα αλλά και τη συνολική επιβίωση, πιθανώς παρεμβαίνοντας στο μικροβίωμα του εντέρου.(19) Πειράματα σε ζωικά μοντέλα στα οποία χορηγήθηκαν ειδικά ‘’αντικαρκινικά’’ προβιοτικά (όπως Akkermansia muciniphila ή Bifidobacterium pseudolongum) μετά από μακροχρόνια χρήση αντιβιοτικών έδειξαν αποκατάσταση της ευαισθησίας στην ανοσοθεραπεία. (20,21)Αυτά τα ευρήματα

αποτελούν έμμεσες ενδείξεις της ανάγκης ύπαρξης ενός «ευνοϊκού» μικροβιώματος για την επίτευξη του βέλτιστου προσδοκώμενου αποτελέσματος από την ανοσοθεραπεία.

Εκτός από την προσπάθεια εξασφάλισης αυτού του «ευνοϊκού» μικροβιώματος προς τα βέλτιστα αποτελέσματα είτε με προληπτικούς είτε με παρεμβατικούς τρόπους, υπάρχει έντονο ενδιαφέρον ως προς την ανεύρεση συγκεκριμένων προβλεπτικών δεικτών του μικροβιώματος μέσω μεταγενωμικών αναλύσεων δειγμάτων κοπράνων ασθενών, ως προς την χρήση της ανοσοθεραπείας.

Από την άλλη μεριά, η ανοσοθεραπεία επηρεάζει και την ίδια τη σύσταση του μικροβιώματος, αυξάνοντας την σχετική αναλογία των Bacteroides spp. (συγκεκριμένα το B. fragilis) και την οικογένεια Burkolderiaceae, τα οποία εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των Th1 κυττάρων και μεσολαβούν στην αντικαρκινική δράση των αντι-CTLA4. (22)Επιπλέον φάνηκε ότι η επαναποικισμός με B. fragilis ή η παθητική ανοσοποίηση με B. Fragilis-ειδικά Τ κύτταρα αποκατέστησαν το θεραπευτικό αποτέλεσμα και μείωσαν την ανοσοεπαγώμενη κολίτιδα μέσω ενεργοποίησης των Th1 κυττάρων μέσω διασταυρούμενης αντίδρασης μεταξύ βακτηριακών αντιγόνων και καρκινικών νεοαντιγόνων. Αντιστοίχως για τα αντι-PD1/PD-L1, ποικιλότητα στα A. muciniphila και Enterococcus hirae έχει φανεί να συνδέεται με καλύτερη ανταπόκριση. (23) Αυτό το προφίλ ανταπόκρισης επιβεβαιώθηκε και σε πειράματα σε ζωικά μοντέλα που έλαβαν μεταμόσχευση κοπράνων από δότες ανταποκρινόμενους και μη στην ανοσοθεραπεία. Η μη ανταπόκριση ανεστράφη με τον επαναποικισμό με στελέχη των A. muciniphila και E. Hirae.

Περαιτέρω έρευνα έγινε για να διερευνηθεί εάν η μεταμόσχευση κοπράνων μπορεί ασφαλώς και αποτελεσματικά να βελτιώσει τα θεραπευτικά αποτελέσματα της ανοσοθεραπείας σε ανθεκτικούς στη θεραπεία ασθενείς. (24,25) Φάνηκε ότι η πρακτική αυτή επέφερε ευνοϊκές αλλαγές στη διήθηση από ανοσοκύτταρα και προφίλ γονιδιακής έκφρασης τόσο στο χόριο του εντέρου όσο και στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Έτσι συνολικά ευνοήθηκε η ανοσολογική απάντηση και η αντικαρκινική δράση της ανοσοθεραπείας.

Ακτινοθεραπεία

Η ακτινοθεραπεία είναι βασική θεραπευτική προσέγγιση έναντι του καρκίνου και είναι σαφές σήμερα πως επηρεάζει τη σύσταση του μικροβιώματος οδηγώντας στη δυσβίωση

, με μείωση στα φύλα των Firmicutes και Bacteroidetes και αύξηση στα Proteobacteria, συχνότερα στα Enterobacteriaceae.

Δεν υπάρχουν στοιχειοθετήμενες προσεγγίσεις που να αξιολογούν την επίδραση του μικροβιώματος στην αποτελεσματικότητα της, ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι επηρεάζει την ακτινοευαισθησία. (26)

Φαίνεται οι παρεμβάσεις στο μικροβίωμα ωστόσο να έχουν κάποιο θεραπευτικό όφελος στην αντιμετώπιση της ακτινική βλεννογονίτιδας και διάρροιας που προκαλείται ως βασικότερη επιπλοκή της θεραπείας αυτής. Μελέτες κάνουν λόγο για αποτελεσματικότητα στην πρόληψη αλλά και στη θεραπεία των επιπλοκών αυτών τόσο των προβιοτικών που περιέχουν του είδους Lactobacillus αλλά και τεχνικών μεταμόσχευσης μικροβιώματος.

Πιθανοί θεραπευτικοί χειρισμοί

Για να κατανοήσουμε το μικροβίωμα και τον καλύτερο τρόπο να παρέμβουμε σε αυτό πρέπει να γίνουν κατανοητοί οι πολυάριθμοι παράγοντες που το επηρρεάζουν. Μεγάλες πληθυσμιακές αναλύσεις έχουν δείξει πως το μικροβίωμα διαμορφώνεται σε μεγάλο βαθμό από περιβαλλοντικούς παράγοντες, με το γενετικό υπόβαθρο να παίζει ρόλο στο 2 – 8% της διακύμανσης που παρουσιάζει. Η σύσταση του διαφέρει σημαντικά μεταξύ διαφορετικών εθνικοτήτων και γεωγραφικών ορίων που περιπλέκουν ακόμα περισσότερο την έρευνα. Επιπλέον παράγοντες που εμπεριέχονται στη σύνδεση του με την εθνικότητα και τη γεωγραφία, όπως η κουλτούρα, η δίαιτα και η γενετική τονίζουν την ανάγκη για πιο εξατομικευμένες προσεγγίσεις.

Συνοπτικά λοιπόν οι κοινωνικοί προσδιοριστές διακρίνονται σε τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους, σχετιζόμενοι με τον ξενιστή και μη και οι κυριότεροι είναι δημογραφικά χαρακτηριστικά (ηλικία, φύλο), γενετικά χαρακτηριστικά(γενετικοί πολυμορφισμοί, HLA, γονία που εμπλέκονται στην φυσική και επίκτητη ανοσία), ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά (BMI), δίαιτα (πλούσια σε φυτικές ίνες, χορτοφαγική, δυτική δίαιτα, μεσογειακή και άλλες), καθημερινές συνήθειες (άσκηση, κάπνισμα), ψυχολογικές παράμετροι (κατάθλιψη, στρες), φαρμακευτική αγωγή (αντιβιοτικά, προ/πρε/συμβιωτικά, αναστολείς αντλίας πρωτονίων, μετφορμίνη, αντικαταθλιπτικά). Στην παρούσα ανάλυση γίνεται προσπάθεια να προσεγγιστούν οι τροποποιήσιμοι παράγοντες με σκοπό την

ανασκόπηση των προληπτικών, διαγνωστικών και θεραπευτικών στρατηγικών που μπορούν να διαμορφωθούν βασιζόμενοι στη σύγχρονη βιβλιογραφία.

- Μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων

Η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων είναι η μεταβίβαση των βακτηριων και άλλων στοιχείων των κοπράνων υγειών δοτών σε ασθενείς. Ο στόχος της πρακτικής αυτής είναι η αποκατάσταση της ομοιόστασης του μικροβιώματος του εντέρου και σε αντίθεση με τα αντιβιοτικά δεν οδηγεί σε δυσβίωση. Η χρησιμότητα της πρακτικής αυτής αναδείχθηκε αρχικά για τη θεραπεία της Clostridium difficile λοίμωξης του εντέρου, όπου φάνηκε να έχει καλύτερα αποτελέσματα και να είναι καλύτερα ανεκτό από τα αντιβιοτικά και έχει επίσημη ένδειξη πλέον για τις υποτροπιάζουσες κλωστηριδιακές λοιμώξεις με υψηλά ποσοστά επιτυχίας. Επιπλέον φαίνεται να παρέχει θεραπευτικό όφελος και σε άλλες νόσους όπως στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου και στο ευερέθιστο έντερο. Η παρατηρηθείσα δυσβίωση στο έντερο ασθενών με καρκίνο οδήγησε στη θεωρία για πιθανό όφελος της θεραπευτικής αυτής παρέμβασης και σε αυτή την περίπτωση.

Τα δείγματα κοπράνων μπορούν να ληφθούν από συγγενείς αλλά ιδανικά από μη συγγενικά άτομα από κεντρική τράπεζα δειγμάτων και η χορήγηση μπορεί να γίνει από διάφορες οδούς, με κάψουλες από το στόμα, με ρινογαστρικό σωλήνα ή υποκλυσμούς. Ωστόσο ασφαλέστερη χορήγηση και υψηλότερη περιεκτικότητα των επιθυμητών στελεχών φαίνεται να παρέχει η μορφή απομονωμένων βακτηριακών σπορίων με κάψουλες. (27)

Πιο πρόσφατα φάνηκε να αυξάνει την αποτελεσματικότητα των υπαρχουσών αντικαρκινικών θεραπειών αλλά και να μειώνει τις επιπλοκές τους, προκαλώντας μία στροφή προς πιο ευνοϊκό μικροβιακό προφίλ και ανοσολογικής μεσολάβησης. Συγκεκριμένα φάνηκε να αντιμετωπίζει επιτυχώς τη διάρροια και την βλεννογονίτιδα του εντέρου που προκαλείται από τη χρήση του FOLFOX στον καρκίνο του παχέος εντέρου σε ζωικά πρότυπα, αποκαθιστώντας την μικροβιακή ποικιλότητα και αναστρέφοντας τη δυσβίωση. (28,29)

Επιπλέον φαίνεται να ενισχύει τη δράση της ανοσοθεραπείας. Αρχικά αποτελέσματα φάνηκαν σε ζωικά πρότυπα όταν εφαρμόστηκε σε αυτά μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων ασθενών που είχαν ανταποκριθεί στην ανοσοθεραπεία και άλλων που δεν είχαν. Φάνηκε πως τα ποντίκια με το ευνοϊκό μικροβίωμα παρουσίαζαν και αυτά

καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία. (30)Επιπλέον μελετήθηκε σε παρεμβατική μελέτη φάσης 1 η επίδραση της μεταμόσχευσης κοπράνων σε ασθενείς με μελάνωμα που ήταν εξαρχής ανθεκτικοί στην ανοσοθεραπεία ή σε αυτούς που υποτροπίασαν. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως όντως η μεταμόσχευση κοπράνων από ασθενείς ευαίσθητους στην ανοσοθεραπεία βοήθησε κάποιους ανθεκτικούς ασθενείς να ανταποκριθούν στην επαναχορήγηση της ανοσοθεραπείας. Ωστόσο περαιτέρω έρευνα χρειάζεται για την καθιέρωση της παρέμβασης αυτής στην κλινική πράξη, καθώς η μελέτη αυτή αφορούσε μικρό δείγμα ασθενών. Παρέχει ωστόσο ενθαρρυντικά και ενδιαφέροντα αποτελέσματα και ήδη είναι εν εξελίξει διάφορες κλινικές μελέτες με το σκοπό αυτό.(31)

Όσον αφορά την ασφάλεια της τεχνικής αυτής, πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας από Oluwaseun S. et al (2018) που αφορούσε την εφαρμογή της σε ασθενείς με λοίμωξη από Clostridium difficile ανέδειξε ασφάλεια ως προς την εφαρμογή της και σε ασθενείς ανοσοκατεσταλμένους, με ίδια ποσοστά ανεπιθύμητων ενεργειών σε εκείνους και σε ανοσοεπαρκης. Η μελέτη αφορούσε ανοσοκαταστολή σε άτομα που υποβάλλονται σε χημειοθεραπείες, που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, με HIV, μεταμοσχευμένους και με πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες.

Ωστόσο μεγαλύτερης κλίμακας κλινικές μελέτες απαιτούνται για να τεκμηριωθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της εν λόγω προσέγγισης πριν την εφαρμογή της στην κλινική πρακτική.

- Δίαιτα

Ο ρόλος του μικροβιώματος στην εξατομικευμένη ιατρική φέρνει στο προσκήνιο την ανάγκη για εκτενέστερη έρευνα επί της διατροφής, καθώς αυτή επηρεάζει άμεσα το εντερικό μικροβίωμα και την υγεία του γαστρεντερικού επιθηλίου, όπως ήδη αναλύθηκε. Μέχρι και σήμερα δεν υπάρχουν ειδικές και τεκμηριωμένες διατροφικές οδηγίες για τους ασθενείς πάσχοντες από καρκίνο, παρά την ευρεία κατανόηση και από τους ίδιους τους ασθενείς της σημασίας της διατροφής ως ένας από τους βασικότερους προσδιοριστές υγείας.

Γενικά δίαιτες πλούσιες σε φυτικές ίνες (λαχανικά, φρούτα, ολικής άλεσης), φτωχές σε πρόσληψη επεξεργασμένων τροφών (επεξεργασμένους υδατάνθρακες, πρόσθετα γλυκαντικά, τρανς λιπαρά), και πρωτεϊνική πρόσληψη από ψάρια ή φυτικά προϊόντα συνδέονται με μειωμένο καρδιαγγειακό ρίσκο, μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου και

παρατεταμένη επιβίωση. Το ότι το μικροβίωμα είναι ο κυριότερος διαμεσολαβητής αυτής της ευνοϊκής επίδρασης της διατροφής είναι πλέον κοινώς αποδεκτό. (32) Η διατροφή μπορεί να ρυθμίσει τη σύσταση του μικροβιώματος αλλά και την παραγωγή μεταβολιτών από το μικροβίωμα με τέτοιο τρόπο που αυτό να συμβάλει ή να αναστέλλει την καρκινογένεση.

Συγκεκριμένα δίαιτες με πολλούς υδατάνθρακες έχει συσχετιστεί με μικρότερη ποικιλότητα στο μικροβίωμα και επίσης με μειωμένους αριθμούς μικροβίων που θεωρούνται ευνοϊκά για την ομοιόσταση. Έτσι φαίνεται να μειώνονται τα γένη Lactobacillus, Streptococcus, and Roseburia ενώ αυξάνεται ο αριθμός των bifidobacteria. Αυτή την δυσμενή επίδραση έχουν και άλλες τροφές όπως το ψωμί, τα αναψυκτικά, η μπύρα και τα λιπαρά. Από την άλλη μεριά τροφές όπως τα λαχανικά, τα φρούτα, ο καφές και το κόκκινο κρασί έχουν ευεργετική δράση. Η κατανάλωση του κόκκινου κρασιού μέσω της αύξησης στον πληθυσμό των Faecalibacterium, ενός βακτηρίου με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και ο καφές μέσω των πολυφαινολών έχουν συσχετιστεί με αυξημένη πρεβιοτική δράση και ενίσχυση της δράσης του ευνοϊκού μικροβιώματος όπως των Bifidobacteria. Συγκεκριμένα μάλιστα σε πρόσφατη μετανάλυση προκύπτει πως η κατανάλωση τριών μεζούρων καφέ τη μέρα μειώνει την θνησιμότητα από όλα τα αίτια ανεξαρτήτως την περιεκτικότητα καφεΐνης. (33,34)

Ωστόσο όλο και περισσότερα στοιχεία δείχνουν πως μάλλον δεν πρόκειται για συγκεκριμένες τροφές ή συστατικά που ευοδώνουν ή αναστέλλουν την καρκινογένεση, αλλά μοτίβα διατροφής που έχουν σημασία. Συγκεκριμένα η μεσογειακή διατροφή φαίνεται να συνδέεται με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, μικρότερη συστηματική φλεγμονή και καλύτερες ανοσιακές απαντήσεις. Επίσης όμως άλλα ευεργετικά μοντέλα διαιτών φαίνεται να είναι βασισμένα σε αυξημένο ποσοστό κατανάλωσης σύνθετων υδατανθράκων έναντι απλών, η κετονική δίαιτα και οι χορτοφαγικές έναντι των βασισμένων σε κρέας καθώς ενισχύουν την παραγωγή λιπαρών οξέων βραχέως αλύσου, μειώνοντας έτσι τοπικά το PH με αποτέλεσμα να αναστέλλουν την ανάπτυξη των δυνητικά παθογόνων Bacteroidetes και να ενισχύουν την ανάπτυξη gram θετικών μικροβίων που παράγουν βουτυρικό, όπως του φύλου των Firmicutes. (18)

Επιπλέον σημασία έχει η διάρκεια υιοθέτησης αυτών των διατροφικών συνηθειών καθώς έχει φανεί πως οι αλλαγές στο μικροβίωμα επέρχονται και αποδράμουν άμεσα με την αλλαγή των διατροφικών συνηθειών. Συνεπώς μακροχρόνια συμμόρφωση με μια

ευνοϊκή διατροφή είναι απαραίτητη για να μπορούμε να μιλήσουμε για θεραπευτικά αποτελέσματα.

Νέα δεδομένα φέρνουν στο φως τα ευεργετικά αποτελέσματα της διαλείπουσας νηστείας. Η πρακτική αυτή αναφέρεται σε αποχή από το φαγητό για ένα χρονικό διάστημα από 12 έως και 24 ώρες μέσα στη μέρα και είναι γνωστό ότι αυξάνει την επιβίωση σε πειραματικές μελέτες σε διάφορους οργανισμούς. Πολλές αναδρομικές κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης σχετιζόμενων με το γήρας ασθένειες, όπως καρδιαγγειακές νόσους και σακχαρώδη διαβήτη αλλά και αυξάνει την αντίσταση στο οξειδωτικό στρες. Πρόσφατα έχουν αναδειχθεί και τα αντικαρκινικά οφέλη της. Ο ακριβής μηχανισμός που επιφέρει τα αποτελέσματα αυτά είναι άγνωστος αν και μεταξύ άλλων φαίνεται να εμπλέκεται η αλλαγή που επιφέρει στη σύσταση του μικροβιώματος. Συγκεκριμένα σε κλινική μελέτη του 2021 βρέθηκε πως άτομα που εφάρμοζαν 16ωρη νηστεία παρουσίαζαν εμπλουτισμό του εντερικού μικροβιώματος τους με βακτήρια της οικογένειας των Lachnospiraceae, τα οποία ανήκουν στο φύλο των Firmicutes, βακτήρια τα οποία όπως προαναφέρθηκε είναι υπεύθυνα για την παραγωγή των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου. Αντιστοίχως μειώθηκαν οι πληθυσμοί βακτηρίων του φύλου των Bacteriodes και ειδικά της οικογένειας Prevotellaceae. (35) Τα βακτήρια Lachnospiraceae είναι η κύρια πηγή βουτυρικού οξέος που δρα προστατευτικά προς τον καρκίνο, όπως έχει και προηγουμένως αναφερθεί και πιθανώς υπερισχύον κατά τη νηστεία χάρη στην αναερόβια φύση τους και τις ικανότητας τους να μεταβολίζουν βλεννίνες, οι οποίες αν και γενικά είναι σπάνιες στον εντερικό βλεννογόνο αυξάνονται κατά τη νηστεία.

Άλλος μηχανισμός μηχανισμός ανεξάρτητος του μικροβιώματος που μεσολαβεί στο αντικαρκινικό όφελος που προσφέρει η διαθεματική νηστεία είναι η αναστολή του σηματοδοτικού μονοπατιού της ινσουλίνης/IGF-1/mTORC1, που επίσης αναδεικνύει την σημασία την διατροφικής παρέμβασης στην αντιμετώπιση του καρκίνου.

- Προβιοτικά

Τα προβιοτικά βακτήρια αποτελούν ένα σύνολο μικροργανισμών που όταν καταναλωθούν αποικίζουν συμβιωτικά τον γαστρεντερικό σωλήνα και θεωρείται ότι συμβάλουν στην ομοιόσταση του μικροβιώματος και του οργανισμού. Αυτά μπορούν να χορηγηθούν με τη μορφή συμπληρωμάτων διατροφής ή σε διάφορες τροφές της παγκόσμιας κουζίνας όπως γιαούρτι, κεφιρ, ξινολαχανο, kombucha, miso και kimchi. Τα

κυριότερα προβιοτικά ανήκουν στους Lactobacillus και Bifidobacterium. Έχουν μελετηθεί σε πολλές νόσους με ποικίλα κλινικά αποτελέσματα.

Το επιστημονικό ενδιαφέρον έως το 2010 επικεντρώνονταν στην συνεισφορά τους στην πρόληψη του καρκίνου. Ωστόσο πιο πρόσφατα δεδομένα κυρίως από προ κλινικές μελέτες προς το παρόν φέρνουν στο προσκήνιο ευρήματα που αναδεικνύουν την πιθανή συνεισφορά της χρήσης τους και στη θεραπεία. Πειραματικά δεδομένα σε ζωικά μοντέλα έδειξαν πως μετά από 5μηνη χορήγηση τους αυξήθηκαν τα επίπεδα ογκοκατασταλτικών miRNAs (miR26b, miR-18a, APC, and PTEN) και μειώθηκε η έκφραση ογκογόνων όπως miR135b και KRAS. (36)Επιπλέον σε κυτταρική σειρά καρκίνου παχέος εντέρου φάνηκε να αυξάνουν την αποτελεσματικότητα της χρήσης του 5-FU.(37)

Επιπλέον έχει γίνει έρευνα για τη δυνατότητα τους να συμβάλουν στην αντιμετώπιση παρενεργειών της χημειοθεραπείας, όπως η διάρροια και η εμπύρετη ουδετεροπενία. Φαίνεται τα προβιοτικά να προλαμβάνουν αποτελεσματικά τη διάρροια σε κλινικές μελέτες με χρήση 5-FU και XELOX χωρίς να μειώνουν την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας. Αυτή τους η δράση μάλλον μεσολαβείται από την ικανότητα τους να παράγουν διάφορα οργανικά οξέα και λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου μειώνοντας του PH του εντέρου, συνθήκη που συμβάλει στην προστασία του εντερικού επιθηλίου. Παράλληλα, με μετανάλυση που έγινε αναδείχτηκε η ασφάλεια της πρακτικής αυτής τόσο στην χημειο- όσο και στη ραδιοεπαγώμενη διάρροια.(38,39) Όσον αφορά την ουδετεροπενία, θεωρητικά η καταστολή των παθογόνων μικροοργανισμών μέσω ανταγωνισμού με τα προβιοτικά θα μπορούσε να προλάβει λοιμώξεις, καθώς αυτές προέρχονται κυρίως από την ενδογενή χλωρίδα του εντερικού επιθηλίου. Τα προβιοτικά που αποτελούνται από είδη των Lactobacillus και Bifidobacterium θεωρούνται ασφαλή ωστόσο εκκρεμεί κλινική έρευνα για να καθιερωθεί μία τέτοια πρακτική.

Ωστόσο δεν υπάρχει επαρκής κλινική τεκμηρίωση της ασφάλειας και του οφέλους τους. Συγκεκριμένα αν και είναι γενικώς καλά ανεκτά, σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα ή σε διαταραγμένο βλεννογονοεπιθηλιακό φραγμό μπορεί να ευνοήσουν την μικροβιακή διαμετάθεση και την συστηματική λοίμωξη. Παράλληλα ενώ πωλούνται ευρέως φαρμακευτικά σκευάσματα που περιέχουν προβιοτικά, υπάρχει ακόμα δυσκολία στον έλεγχο των προϊόντων αυτών ως προς τον έλεγχο της ποιότητας τους και της σύστασης τους. Στη βιβλιογραφία έχουν προκύψει αναφορές, κυρίως υπό την μορφή caser reports,

για βακτηριαιμία και μυκηταιμία σχετιζόμενες με τη χρήση τους. Παρα τις αναφορές αυτές ωστόσο τα έως τώρα στοιχεία δεν τα καθιστούν αντένδειξη.

Εκτός από τα «παραδοσιακά» προβιοτικά μικρόβια που απομονώθηκαν σε διάφορες τροφές έχουν πρόσφατα απομονωθεί τροποποιημένα στελέχη, τα next generation προβιοτικά (NGPs) τα οποία αφορούν απομονωμένα προβιοτικά βακτήρια που έχουν ειδικά επιλεγεί για τις ευεργετικές τους ιδιότητες και προσφέρουν έδαφος για έρευνα, μεταξύ των οποίων είναι τα Bifidobacterium spp., B. fragilis, Akkermansia municiphila, and Faecalibacterium prausnitzii, τα οποία φαίνεται να αυξάνουν την αποτελεσματικότητα της ανοσοθεραπείας σε προκλινικό όμως ακόμα επίπεδο.

Πρόσφατα το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στο είδος Akkermansia καθώς σε πρόσφατη μεταγενωμική ανάλυση δειγμάτων κοπράνων 338 ασθενών με μη μικροκυτταρικο καρκίνο του πνεύμονα που ανταποκρίθηκαν στην ανοσοθεραπεία φάνηκε πως το μικροβίωμα τους ήταν εμπλουτισμένο με το συγκεκριμένο είδος σε σχέση με του ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν. Τα επίπεδα Akkermansia στα κόπρανα συσχετίστηκαν με καλύτερες ανταποκρίσεις και ολική επιβίωση και πιο έντονα φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον του όγκου.(40) Τα ευρήματα αυτά καθιστούν το μικρόβιο αυτό ένα δυνητικό προβλεπτικό δείκτη αλλα ενδεχομένως και θεραπευτικό στόχο. Ωστόσο πρόσφατη πειραματική μελέτη σε ποντίκια κάνει λόγο για πιθανή συνεισφορά του στην καρκινογένεση καθώς η συγχορηγηση του με προκαρκινικούς παράγοντες οδήγησε σε αύξηση της ογκογένεσης και με συνκαλλιέργειες του με επιθηλιακα κύτταρα φάνηκε να επάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. (41)Συνεπώς δεν υπάρχουν καταληκτικά συμπεράσματα και περαιτέρω έρευνα αναμένεται να γίνει.

Το είδος faecalibacterium prausnitzii είναι ένα gram θετικό μικρόβιο και περιλαμβάνεται στα σημαντικότερα εξ αυτών που παράγουν βουτυρικό οξύ. Η ποικιλότητα του μπορεί να αυξηθεί με την χρήση πρεβιοτικών, ενώ το είδους Akkermansia που προαναφέρθηκε αυξάνεται μέσω της διαλείπουσας νηστείας και διατροφικών ουσιών όπως με το χυμό ροδιού, ρεσβερατρόλη, ζυμες μυκήτων και ινουλίνη, το οποίο επίσης είναι πρεβιοτικό. Φάνηκε σε πειραματικές μελέτες τόσο σε ζωικά μοντέλα οσο και σε κυτταρικές σειρές του 2022 ότι μειώνει την καρκινογένεση. (42)

Με την παραγωγή των NGPs, τα προβιοτικά αναμένεται να εισέλθουν στη θεραπεία του καρκίνου.

- Πρεβιοτικά/Συνβιωτικά

Τα πρεβιοτικά είναι ολιγοσακχαρίτες που δεν απορροφώνται κατά την διέλευση τους από το γαστρεντερικό σωλήνα, αποτελούν πηγή ενέργειας για τα προβιοτικά βακτήρια και απαντώνται σε τροφές πλούσιες σε φυτικές ίνες, όπως φρούτα, λαχανικά και δημητριακά ολικής άλεσης και ιδιαίτερα στη φλούδα των μήλων, τα δημητριακά (ολικής αλέσεως), τα σκόρδο, τα κρεμμύδια, τις μπανάνες, τις αγκινάρες, τα αντίδια και τα όσπρια. Τα πιο συχνά απαντούμενα πρεβιοτικά είναι οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες (FOS), οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (GOS), η ινουλίνη και οι φρουκτάνες. Πρόσφατα έχει αναδειχθεί η συνεισφορά τους στη θεραπεία διαφόρων ασθενειών όπως η νόσος του Chron και η ελκώδης κολίτιδα, αλλά και συστηματικές παθήσεις όπως καρδιαγγειακές νόσους, υπερτριγλυκεριδαιμία, παχυσαρκία και άλλες. Αναφορά γίνεται ακόμα και για την δυνητικά οφέλη στην κατάθλιψη.

Σε πολλές μελέτες γίνεται προσπάθεια να αναδειχθεί ο ακριβής συσχετισμός της χορήγησης τους με το μικροβίωμα του εντέρου και περαιτέρω με τον καρκίνο. Πρεβιοτικά όπως τα FOS και GOS επιβεβαιώνεται πως αλλάζουν το μικροβιακό προφίλ αναστρέφοντας τη δυσβίωση, ευνοώντας την ανάπτυξη συμβιωτικών βακτηρίων και ευνοώντας την ανάπτυξη ειδών των bifidobacterial. Σε προκλινικα μοντέλα ο συνδυασμός πρεβιοτικών και συγκεκριμένα ινουλίνης και ολιγοφρουκτόζης με προβιοτικά μικρόβια μπορούν αν ενισχύσουν την αντικαρκινική δραστηριότητα σε αζοξυμεθάνη-επαγώμενη καρκινογένεση σε ποντίκια. Ωστόσο προς το παρόν είναι εξελίξει λίγες μόνο κλινικές μελέτες που να συσχετίζουν τη χρήση τους με τη θεραπεία στον καρκίνο. Πρέπει να αναφερθεί πως διαφαίνεται ένας προληπτικός ρόλος συγκεκριμένων πρεβιοτικών στην πρόληψη του καρκίνου του παχέως εντέρου όπως των β (1–4) GOS, λακτουλόζης και FOS. (43)

Τα διατροφικά συμβιωτικά αναφέρονται σε διατροφικά συμπληρώματα που περιλαμβάνουν συνδυασμό πρεβιοτικών και προβιοτικών τα οποία θεωρητικά δρουν συνεργικά μεταξύ τους. Η χορήγηση συνδυασμού ολιγοφρουκτόζης-μαλτοδεξτρίνης εμπλουτισμένης με Lactobacillus acidophilus, B. Bifidum και Bifidobacteria infantum σε ποντίκια μείωσε την ανάπτυξη του καρκίνου, αύξησε την παραγόμενη βλέννη στο έντερο και ισχυροποίησε τον επιθηλιακό φραγμό. Τέλος σε κλινικό επίπεδο, μελέτη που αφορούσε μικρό δείγμα ασθενών με καρκίνο του παχέος εντέρου έδειξε ανασταλτική

επίδραση τους στην εξέλιξη του καρκίνου και ευνοϊκή στροφή στη σύσταση του μικροβιώματος. (44)

- Αντιβιοτικά

Η παρέμβαση στο μικροβίωμα χρησιμοποιώντας αντιβιοτικά είναι προς το παρόν αμφιλεγόμενο θέμα. Από την μία τα αντιβιοτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εξαλείψουν μικρόβια που εμπλέκονται θεωρητικά στη διαδικασία της καρκινογένεσης. Από την άλλη ωστόσο η πρακτική αυτή θεωρείται επιθετική και μη εξειδικευμένη προσέγγιση στόχευσης των μικροβίων αυτών, η οποία μπορεί να οδηγήσει στη δυσβίωση. Οι αναφορές στη βιβλιογραφία αφορούν τόσο το ενδεχόμενο η υπερβολική χρήση τους αυξάνει το ρίσκο εμφάνισης καρκίνου, όσο και τον βαθμό που η έκθεση σε αυτά επηρεάζει την ανταπόκριση των ασθενών στις υπάρχουσες θεραπείες έναντι του καρκίνου.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει πως η ανταπόκριση σε χημικοθεραπευτικούς παράγοντες και ανοσοθεραπεία σε germ free ποντίκια ή ποντίκια στα οποία έχουν χορηγηθεί αντιβιοτικά είναι χειρότερη συγκριτικά με ποντίκια με άθικτο μικροβίωμα (45,46) Ενδείξεις σχετικές έχουν προκύψει και σε αναδρομικές μελέτες, αν και λόγω μη στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων χρήζουν περαιτέρω έρευνας . Ωστόσο δεν δικαιολογείται η καθυστέρηση έναρξη ανοσοθεραπείας σε περίπτωση προηγούμενης έκθεσης του ασθενούς σε αντιβιοτικά καθώς τα δεδομένα δεν είναι επαρκή και μάλιστα νέα δεδομένα στο μελάνωμα κάνουν αναφορά για μη κατωτερότητα έκβασης στην περίπτωση αυτή (47). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η διαφοροποίηση της ανταπόκρισης στην ανοσοθεραπεία στον καρκίνο του πνεύμονα σε ασθενείς με προηγούμενη έκθεση σε αντιβιοτικά βάσει του βαθμού έκφρασης του PD-L1. Τα αποτελέσματα έδειξαν χειρότερη ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία όταν η έκφραση του PDL1 ήταν ≥50% ενώ δεν έδειξαν κατωτερότητα αποτελεσματικότητας όταν σε έκφραση του ήταν <50% (48)

Πέραν όμως την αρνητικής επίδρασης τους στην θεραπευτική ανταπόκριση των ασθενών όλο και αυξάνονται οι αναφορές στην πιθανή συμμετοχή τους στην ίδια την καρκινογένεση όταν αυτά υπερχορηγηθούν. Γίνεται λόγος για αυξημένη επίπτωση αδενωμάτων εντέρου σχετιζόμενη με μακροχρόνια χρήση αντιβιοτικών κατά τη νεαρή ηλικία (49). Επιπλέον πρόσφατη αναδρομική μελέτη σε μεγάλο πληθυσμό της Σουηδίας ανέδειξε συσχέτιση της χρήσης αντιβιοτικών με αυξημένο κίνδυνο πρώιμου καρκίνου ανιόντος κόλου ενώ αντιθέτως ανέδειξε μείωση κινδύνου προχωρημένου σταδίου

καρκίνου ορθού στο γυναικείο μόνο φύλο (50,51). Αυτά τα ευρήματα μεταξύ άλλων υποστηρίζουν αν και δεν αποδεικνύουν μια σχέση αιτιότητας. Εικάζεται πως τοπικοχωρικές διαφοροποιήσεις ως προς την επίδραση τους δικαιολογείται από την βιογεωγραφική ετερογένεια της φυσιολογίας του εντέρου η οποία για παράδειγμα μπορεί να αφορά την παρατεταμένη παραμονή των κοπράνων στο δεξιό κόλον ως πρώτο σταθμό μετάβασης από το λεπτό έντερο. Επιπλέον υπάρχουν αναφορές για συμμετοχή στην καρκινογένεση και άλλων τύπων καρκίνου όπως σε πλακώδη νεοπλάσματα κεφαλής τραχήλου και μαστού. Πρέπει να τονιστεί ωστόσο πως η αιτιακή σχέση δεν έχει επιβεβαιωθεί και περαιτέρω έρευνα απαιτείται (52).

Συμπερασματικά διαφαίνεται η σημασία της αποφυγής της χρήσης τους ιδιαιτέρως πριν την χορήγηση ανοσοθεραπείας, καθώς η στόχευση των καρκινογόνων στελεχών με αντιβιοτικά είναι μη ειδική. Απεναντίας προτείνεται να ενισχυθεί η έρευνα προς πιο στοχευμένες θεραπείες όπως η χρήση φάγων και γενετικά τροποποιημένων μικροβίων.

Υπόψιν, ωστόσο πως ίσως αποτελεί εξαίρεση το αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος καθώς έχει φανεί σε προ κλινικές μελέτες πως η αντιμετώπιση των βακτηρίων που διηθούν τον όγκο με αντιβιοτικά οδηγεί σε καλύτερα αποτελέσματα ανοσοθεραπείας.(53) Συνεπώς, προκύπτει η ανάγκη μελέτης των στοιχειών πιο ειδικά για κάθε ξεχωριστό τύπο καρκίνου.

- Γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια

Ο στόχος της βιοθεραπευτικής έρευνας είναι να μπορέσει να παρέμβει πιο στοχευμένα πλέον και να ‘ξαναγράψει’ το μικροβιακό προφίλ καθώς αναδεικνύονται οι δυνατότητες των γενετικά τροποποιημένων μικροβίων.

Το 2019,οι Chowdhury et al.τροποποίησαν ένα μη παθογόνο στέλεχος E. Coli το οποίο σχεδιάστηκε ειδικά για να λυθεί μέσα στο μικροπεριβάλλον του όγκου και να απελευθερώσει ανταγωνιστικό νανοσωμάτιο των CD47. Ο CD47 είναι ένας αντιφαγοκυτταρικός υποδοχέας ο οποίος είναι συχνά υπερεκφρασμένος σε διάφορους τύπους καρκίνου. Το πείραμα σε συγγενικό καρκινικό μοντέλο ανέδειξε υποστροφή του όγκου , αυξημένη διήθηση του όγκου από ανοσοκύτταρα αλλά και συστηματική ενεργοποίηση της ανοσίας και abscopal φαινόμενο.

Η χρήση αναερόβιων οργανισμών σε προκλινικά μοντέλα επίσης διερευνάται. Οι Nakamura et al. έδειξαν ότι τροποποιημένα είδη Bifidobacterium longum εκφράζουν

δεαμινιδάση της κυτοσίνης, η οποία μπορεί να μετατρέψει την σχετικά μη τοξικη 5-FU στην κυτταροτοξική της μορφή.

Πρόσφατα οι Ho et al. Τροποποίησαν ένα μη παθογόνο στέλεχος E.Coli το οποίο στοχεύει ειδικά τους πολύποδες του εντέρου και εκκρίνει την μυροσινάση, ένα ένζυμο το οποίο μετατρέπει διατροφικά στοιχεία σε χημικοθεραπευτικούς μεταβολίτες με κυτταροτοξικά αποτελέσματα σε προκλινικό επίπεδο.

Αν και είναι λίγες σε αριθμό οι μελέτες αυτές ανοίγουν το δρόμο για εναλλακτική θεραπευτική σκέψη.

Επίλογος

Η θεωρία του ευνοϊκού μικροβιώματος είναι μία δελεαστική θεωρία η οποία ωστόσο έχει φανεί πως είναι δύσκολο να προσεγγιστεί, αν και πολλοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της εμπλοκής του μικροβιώματος στην ομοιόσταση του οργανισμού έχουν αναλυθεί. Έτσι πλέον αναφερόμαστε στην ποικιλότητα του μικροβιώματος και όχι τόσο σε συγκεκριμένα ευνοϊκά στελέχη, η κατάργηση της οποίας οδηγεί στην δυσβίωση, μία συνθήκη που φαίνεται να συμβάλει στην καρκινογένεση αλλά και να εμπλέκεται στην αποτελεσματικότητα διάφορων ογκολογικών θεραπειών. Ωστόσο έχει αναλυθεί πως ορισμένα μικροβιακά στελέχη μπορούν να μεταβάλουν την ανοσιακή απάντηση και να επιδράσουν άμεσα στο καρκινογενετικό μονοπάτι ευνοώντας ή αναστέλλοντας το, όπως τα είδη Fusobacterium nucleatum, B. Fragilis, Faecalibacterium και Akkermansia. Φαίνεται πως η καρκινογένεση ευνοείται μέσω μίας φλεγμονώδους διαδικασίας που μεσολαβείται από ένα δυσβιωτικό μικροβίωμα καθώς και από άμεσες βλάβες στο DNA των κυττάρων. Ωστόσο οι μηχανισμοί που διέπουν την αλληλεπίδραση αυτή μεταξύ ξενιστή και μικροβιώματος χρήζουν περαιτέρω μελέτης, τόσο σε επίπεδο καρκινογένεσης αλλά και στο μεταστατικό επίπεδο, μέσω του ίδιου του αποικισμού αλλά και της διαμετάθεσης των μικροβίων.

Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια οι γνώσεις μας για το μικροβίωμα του εντέρου έχουν αναδείξει τη σημασία του και ως προβλεπτικό βιοδείκτη της χημειοθεραπείας και της ανοσοθεραπείας, αλλά και την συμβολή παρεμβάσεων σε αυτό με σκοπό την πρόληψη επιπλοκών των θεραπειών αυτών. Συγκεκριμένα, φαίνεται πώς τα αντιβιοτικά μέσω της επίδρασης τους στη σύνθεση του μικροβιώματος αλλοιώνουν το αποτέλεσμα τόσο της

χημειοθεραπείας όσο και της ανοσοθεραπείας, ενώ αντιθέτως τα προβιοτικά/πρεβιοτικά ευοδώνουν την ανάπτυξη ευνοϊκής σύστασης μικροβιώματος δρώντας ευεργετικά στο θεραπευτικό αποτέλεσμα. Επιπλέον τα τελευταία φαίνεται να έχουν θέση στην πρόληψη ανοσολογικά μεσολαβούμενων επιπλοκών των θεραπειών, όπως για παράδειγμα η κολίτιδα.

Παρά την μεγάλη πρόοδο στη θεραπεία του καρκίνου, δεν απαντάνε όλοι οι ασθενείς με τον ίδιο τρόπο στις θεραπείες. Αυτό τουλάχιστον εν μέρει ίσως εξηγείται από τις διαφορές στη σύσταση του μικροβιώματος. Έτσι γίνεται προσπάθεια με μελέτες προκλινικού και λίγες προς το παρόν κλινικού επιπέδου να διαμορφωθούν τρόποι παρέμβασης στο μικροβίωμα για να μεγιστοποιηθεί το θεραπευτικό αποτέλεσμα αλλά και να αναπτυχθούν προβλεπτικοί βιοδείκτες. Έτσι έχουν προκύψει πρακτικές ως προς την ορθότερη χρήση αντιβιοτικών κατά τη διάρκεια της ογκολογικής θεραπείας, αλλά επίσης αναδεικνύεται και ο ρόλος επικουρικών τακτικών όπως η υιοθέτηση συνηθειών ως προς τη διατροφή αλλά και την άσκηση, η επίδραση της οποίας φαίνεται σε προκλινικό τουλάχιστον ακόμα επίπεδο να συνδέεται με ευνοϊκότερο προφίλ μικροβιακής ποικιλότητας. Επιπλέον νεότερες θεραπευτικές παρεμβάσεις μελετώνται προκλινικά και κλινικά μοντέλα, όπως η χρήση παραγόντων που επεμβαίνουν στοχευμένα στο μεταβόλωμα του μικροβιώματος, η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων υγιών δοτών, η χορήγηση next generation προβιοτικών αλλά και γενετικώς τροποποιημένων βακτηρίων.

Μεγαλύτερη έμφαση στην έρευνα φαίνεται να δίδεται σήμερα στην αλληλεπίδραση του μικροβιώματος με τις διάφορες θεραπείες και ιδιαίτερα με την ανοσοθεραπεία και πιθανώς αναδειχθούν τρόποι παρέμβασης στην ανοσιακή απάντηση που προκαλείται από το μικροβίωμα και όχι σε αυτό το ίδιο. Με περαιτέρω έρευνα στο μεταβολισμό πιθανώς προσεγγιστούν τρόποι παρέμβασης στη διαμετάθεση των μικροβίων ή στο μικροβιακό μεταβόλωμα, ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι. Τέλος μεγαλύτερη κατανόηση απαιτεί η μικροβιακή διήθηση του ίδιου του όγκου αλλά και στο μικροπεριβάλλον του και οι αλληλεπίδραση αυτού τόσο με τα καρκινικά κύτταρα όσο και με τα ανοσοκύτταρα του ξενιστή. Φαίνεται λοιπόν πως ανοίγει ένα μεγάλο πεδίο έρευνας το οποίο όμως απαιτεί την αναπτυξη καλύτερα οργανωμένων κλινικών μελετών αλλά και μεθόδων ταυτοποίησης του μικροβιακού αποτυπώματος για να διευκολυνθεί αυτή η ερευνητική διαδικασία.

Βιβλιογραφία:

1. Wang L, Tang L, Feng Y, Zhao S, Han M, Zhang C, et al. A purified membrane protein from Akkermansia muciniphila or the pasteurised bacterium blunts colitis associated tumourigenesis by modulation of CD8+ T cells in mice. Gut [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2022 Jul 23];69(11):1988–97. Available from: https://gut.bmj.com/content/69/11/1988

2. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Paslier D le, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. Nature 2011 473:7346 [Internet]. 2011 Apr 20 [cited 2022 Jul 18];473(7346):174–80. Available from: https://www.nature.com/articles/nature09944

3. Brennan CA, Garrett WS. Fusobacterium nucleatum — symbiont, opportunist and oncobacterium. Nat Rev Microbiol [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2022 Jul 26];17(3):156. Available from: /pmc/articles/PMC6589823/

4. Maddocks ODK, Short AJ, Donnenberg MS, Bader S, Harrison DJ. Attaching and Effacing Escherichia coli Downregulate DNA Mismatch Repair Protein In Vitro and Are Associated with Colorectal Adenocarcinomas in Humans. PLoS ONE [Internet]. 2009 May 13 [cited 2022 Jul 26];4(5). Available from: /pmc/articles/PMC2677459/

5. Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. PLoS One [Internet]. 2012 Jun 28 [cited 2022 Jul 26];7(6). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22761885/

6. Saffarian A, Mulet C, Regnault B, Amiot A, Tran-Van-Nhieu J, Ravel J, et al. Crypt- and mucosa-associated core microbiotas in humans and their alteration in colon cancer patients. mBio. 2019;10(4).

7. Bashir A, Miskeen AY, Bhat A, Fazili KM, Ganai BA. Fusobacterium nucleatum: an emerging bug in colorectal tumorigenesis. Eur J Cancer Prev [Internet]. 2015 Aug 8 [cited 2022 Jul 26];24(5):373–85. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25569450/

8. Boleij A, van Gelder MMHJ, Swinkels DW, Tjalsma H. Clinical Importance of Streptococcus gallolyticus infection among colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis [Internet]. 2011 Nov 1 [cited 2022 Jul 26];53(9):870–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21960713/

9. Liu F, Li J, Guan Y, Lou Y, Chen H, Xu M, et al. Dysbiosis of the gut microbiome is associated with tumor biomarkers in lung cancer. International Journal of Biological Sciences. 2019;15(11):2381–92.

10. Ahn J, Sinha R, Pei Z, Dominianni C, Wu J, Shi J, et al. Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. J Natl Cancer Inst [Internet]. 2013 Dec 18 [cited 2022 Jul 19];105(24):1907–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24316595/

11. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. Science [Internet]. 2013 [cited 2022 Jul 16];342(6161):967–70. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24264989/

12. Hou X, Zhang P, Du H, Chu W, Sun R, Qin S, et al. Akkermansia Muciniphila Potentiates the Antitumor Efficacy of FOLFOX in Colon Cancer. Front Pharmacol [Internet]. 2021 Sep 17 [cited 2022 Jul 23];12. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34603035/

13. Wang F, Cai K, Xiao Q, He L, Xie L, Liu Z. Akkermansia muciniphila administration exacerbated the development of colitis-associated colorectal cancer in mice. J Cancer [Internet]. 2022 [cited 2022 Jul 23];13(1):124–33. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34976176/

14. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Hannani D, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. Science [Internet]. 2013 [cited 2022 Jun 16];342(6161):971–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24264990/

15. Mcgregor LM, Stewart CF, Crews KR, Tagen M, Wozniak A, Wu J, et al. Dose escalation of intravenous irinotecan using oral cefpodoxime: a phase I study in pediatric patients with refractory solid tumors. Pediatr Blood Cancer [Internet]. 2012 Mar [cited 2022 Jul 19];58(3):372. Available from: /pmc/articles/PMC3256281/

16. Geller LT, Barzily-Rokni M, Danino T, Jonas OH, Shental N, Nejman D, et al. Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine. Science [Internet]. 2017 Sep 15 [cited 2022 Jul 21];357(6356):1156–60. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28912244/

17. Yu TC, Guo F, Yu Y, Sun T, Ma D, Han J, et al. Fusobacterium nucleatum Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy. Cell [Internet]. 2017 Jul 27 [cited 2022 Jul 22];170(3):548-563.e16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28753429/

18. Szczyrek M, Bitkowska P, Chunowski P, Czuchryta P, Krawczyk P, Milanowski J. Diet, Microbiome, and Cancer Immunotherapy—A Comprehensive Review. Nutrients [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2022 Jul 24];13(7). Available from: /pmc/articles/PMC8308287/

19. Negative association of antibiotics on clinical activity of immune checkpoint inhibitors in patients with advanced renal cell and non-small-cell lung cancer. - Αναζήτηση Google [Internet]. [cited 2022 Jul 20]. Available from: https://www.google.com/search?q=Negative+association+of+antibiotics+on+clinical+activity+of+immune+checkpoint+inhibitors+in+patients+with+advanced+renal+cell+and+non-small-cell+lung+cancer.&oq=Negative+association+of+antibiotics+on+clinical+activity+of+immune+checkpoint+inhibitors+in+patients+with+advanced+renal+cell+and+non-small-cell+lung+cancer.&aqs=chrome..69i57.349j0j9&sourceid=chrome&ie=UTF-8

20. Mager LF, Burkhard R, Pett N, Cooke NCA, Brown K, Ramay H, et al. Microbiome-derived inosine modulates response to checkpoint inhibitor immunotherapy. Science (1979) [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2022 Jul 20];369(6509):1481–9. Available from: https://www.science.org/doi/10.1126/science.abc3421

21. Routy B, le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. Science (1979). 2018 Jan 5;359(6371):91–7.

22. Fanning S, Hall LJ, Cronin M, Zomer A, MacSharry J, Goulding D, et al. Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2012 Feb 7 [cited 2022 Jul 20];109(6):2108–13. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22308390/

23. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. Science [Internet]. 2011

Jan 21 [cited 2022 Jul 20];331(6015):337–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21205640/

24. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets T v., et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. Science [Internet]. 2018 Jan 5 [cited 2022 Jul 20];359(6371):97–103. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29097493/

25. Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, Ortenberg R, Lahat A, Katz L, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. Science [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2022 Jul 20];371(6529):602–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33303685/

26. Cui M, Xiao H, Luo D, Zhang X, Zhao S, Zheng Q, et al. Circadian Rhythm Shapes the Gut Microbiota Affecting Host Radiosensitivity. Int J Mol Sci [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2022 Jul 19];17(11). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27792172/

27. McGovern BH, Ford CB, Henn MR, Pardi DS, Khanna S, Hohmann EL, et al. SER-109, an Investigational Microbiome Drug to Reduce Recurrence After Clostridioides difficile Infection: Lessons Learned From a Phase 2 Trial. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America [Internet]. 2021 Jun 6 [cited 2022 Jul 24];72(12):2132. Available from: /pmc/articles/PMC8204772/

28. Chang CW, Lee HC, Li LH, Chiau JSC, Wang TE, Chuang WH, et al. Fecal Microbiota Transplantation Prevents Intestinal Injury, Upregulation of Toll-Like Receptors, and 5-Fluorouracil/Oxaliplatin-Induced Toxicity in Colorectal Cancer. Int J Mol Sci [Internet]. 2020 Jan 2 [cited 2022 Jul 16];21(2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31936237/

29. le Bastard Q, Ward T, Sidiropoulos D, Hillmann BM, Chun CL, Sadowsky MJ, et al. Fecal microbiota transplantation reverses antibiotic and chemotherapy-induced gut dysbiosis in mice. Scientific Reports 2018 8:1 [Internet]. 2018 Apr 18 [cited 2022 Jul 16];8(1):1–11. Available from: https://www.nature.com/articles/s41598-018-24342-x

30. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets T v., et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. Science [Internet]. 2018 Jan 5 [cited 2022 Jul 22];359(6371):97–103. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29097493/

31. Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, Ortenberg R, Lahat A, Katz L, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. Science [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2022 Jul 22];371(6529):602–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33303685/

32. Liu L, Tabung FK, Zhang X, Nowak JA, Qian ZR, Hamada T, et al. Diets That Promote Colon Inflammation Associate With Risk of Colorectal Carcinomas That Contain Fusobacterium nucleatum. Clin Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2022 Jul 23];16(10):1622-1631.e3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29702299/

33. Kim Y, Je Y, Giovannucci E. Coffee consumption and all-cause and cause-specific mortality: a meta-analysis by potential modifiers. Eur J Epidemiol [Internet]. 2019 Aug 15 [cited 2022 Jul 24];34(8):731–52. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31055709/

34. Zhernakova A, Kurilshikov A, Bonder MJ, Tigchelaar EF, Schirmer M, Vatanen T, et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. Science [Internet]. 2016 Apr 4 [cited 2022 Jul 24];352(6285):565. Available from: /pmc/articles/PMC5240844/

35. Su J, Wang Y, Zhang X, Ma M, Xie Z, Pan Q, et al. Remodeling of the gut microbiome during Ramadan-associated intermittent fasting. The American Journal of Clinical Nutrition [Internet]. 2021 May 8 [cited 2022 Jul 23];113(5):1332–42. Available from: https://academic.oup.com/ajcn/article/113/5/1332/6195748

36. Baldwin C, Millette M, Oth D, Ruiz MT, Luquet FM, Lacroix M. Probiotic Lactobacillus acidophilus and L. casei mix sensitize colorectal tumoral cells to 5-fluorouracil-induced apoptosis. Nutr Cancer [Internet]. 2010 Apr [cited 2022 Jul 24];62(3):371–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20358475/

37. dos Reis SA, da Conceição LL, Siqueira NP, Rosa DD, da Silva LL, Peluzio M do CG. Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. Nutr Res [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Jul 24];37:1–19. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28215310/

38. Wang YH, Yao N, Wei KK, Jiang L, Hanif S, Wang ZX, et al. The efficacy and safety of probiotics for prevention of chemoradiotherapy-induced diarrhea in people with abdominal and pelvic cancer: a systematic review and meta-analysis. Eur J Clin Nutr

[Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2022 Jul 24];70(11):1246–53. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27329608/

39. Golkhalkhali B, Rajandram R, Paliany AS, Ho GF, Wan Ishak WZ, Johari CS, et al. Strain-specific probiotic (microbial cell preparation) and omega-3 fatty acid in modulating quality of life and inflammatory markers in colorectal cancer patients: a randomized controlled trial. Asia Pac J Clin Oncol [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2022 Jul 24];14(3):179–91. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28857425/

40. Derosa L, Routy B, Thomas AM, Iebba V, Zalcman G, Friard S, et al. Intestinal Akkermansia muciniphila predicts clinical response to PD-1 blockade in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Nat Med [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2022 Jul 27];28(2):315–24. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35115705/

41. Wang F, Cai K, Xiao Q, He L, Xie L, Liu Z. Akkermansia muciniphila administration exacerbated the development of colitis-associated colorectal cancer in mice. J Cancer [Internet]. 2022 [cited 2022 Jul 27];13(1):124–33. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34976176/

42. Dikeocha IJ, Al-Kabsi AM, Chiu HT, Alshawsh MA. Faecalibacterium prausnitzii Ameliorates Colorectal Tumorigenesis and Suppresses Proliferation of HCT116 Colorectal Cancer Cells. Biomedicines [Internet]. 2022 May 1 [cited 2022 Jul 27];10(5). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35625865/

43. Bruno-Barcena JM, Azcarate-Peril MA. Galacto-oligosaccharides and Colorectal Cancer: Feeding our Intestinal Probiome. J Funct Foods [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2022 Jul 25];12:92. Available from: /pmc/articles/PMC4288025/

44. Rafter J, Bennett M, Caderni G, Clune Y, Hughes R, Karlsson PC, et al. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. The American Journal of Clinical Nutrition [Internet]. 2007 Feb 1 [cited 2022 Jul 25];85(2):488–96. Available from: https://academic.oup.com/ajcn/article/85/2/488/4649461

45. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. Science [Internet]. 2013 [cited 2022 Jun 16];342(6161):967–70. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24264989/

46. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. Science [Internet]. 2015 Nov 27 [cited 2022 Jun 8];350(6264):1079–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26541610/

47. Poizeau F, Kerbrat S, Balusson F, Tattevin P, Revest M, Cattoir V, et al. The Association Between Antibiotic Use and Outcome Among Metastatic Melanoma Patients Receiving Immunotherapy. JNCI: Journal of the National Cancer Institute [Internet]. 2022 Mar 7 [cited 2022 Jul 16];114(5):686–94. Available from: https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03610858

48. Ochi N, Ichihara E, Takigawa N, Harada D, Inoue K, Shibayama T, et al. The effects of antibiotics on the efficacy of immune checkpoint inhibitors in patients with non-small-cell lung cancer differ based on PD-L1 expression. Eur J Cancer [Internet]. 2021 May 1 [cited 2022 Jul 16];149:73–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33838391/

49. Cao Y, Wu K, Mehta R, Drew DA, Song M, Lochhead P, et al. Long-term use of antibiotics and risk of colorectal adenoma. Gut [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2022 Jul 16];67(4):672–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28377387/

50. Zhang J, Sears CL. Antibiotic Use Impacts Colorectal Cancer: A Double-Edged Sword by Tumor Location? JNCI: Journal of the National Cancer Institute [Internet]. 2022 Jan 11 [cited 2022 Jul 16];114(1):1–2. Available from: https://academic.oup.com/jnci/article/114/1/1/6360117

51. Zhang J, Sears CL. Antibiotic Use Impacts Colorectal Cancer: A Double-Edged Sword by Tumor Location? J Natl Cancer Inst [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2022 Jul 16];114(1):1–2. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34467390/

52. Simin J, Tamimi RM, Engstrand L, Callens S, Brusselaers N. Antibiotic use and the risk of breast cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis. Pharmacol Res [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2022 Jul 16];160. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32679181/

53. Pushalkar S, Hundeyin M, Daley D, Zambirinis CP, Kurz E, Mishra A, et al. The Pancreatic Cancer Microbiome Promotes Oncogenesis by Induction of Innate and

Adaptive Immune Suppression. Cancer Discov [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2022 Jul 24];8(4):403–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29567829/

54. Chowdhury S, Castro S, Coker C, Hinchliffe TE, Arpaia N, Danino T. Programmable bacteria induce durable tumor regression and systemic antitumor immunity. Nat Med [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2022 Jul 27];25(7):1057–63. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31270504/

55. Nakamura T, Sasaki T, Fujimori M, Yazawa K, Kano Y, Amano J, et al. Cloned cytosine deaminase gene expression of Bifidobacterium longum and application to enzyme/pro-drug therapy of hypoxic solid tumors. Biosci Biotechnol Biochem [Internet]. 2002 Jan 1 [cited 2022 Jul 27];66(11):2362–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12506973/

56. Lee SH, Yun Y, Kim SJ, Lee EJ, Chang Y, Ryu S, et al. Association between Cigarette Smoking Status and Composition of Gut Microbiota: Population-Based Cross-Sectional Study. Journal of Clinical Medicine [Internet]. 2018 Sep 14 [cited 2022 Jul 24];7(9):282. Available from: /pmc/articles/PMC6162563/

57. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. Science [Internet]. 2016 Apr 29 [cited 2022 Jul 24];352(6285):560–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27126039/

58. Mahnert A, Moissl-Eichinger C, Zojer M, Bogumil D, Mizrahi I, Rattei T, et al. Man-made microbial resistances in built environments. Nat Commun [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 Jul 24];10(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30814504/