

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

**ΜΠΣ : «ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΔΙΑΓΝΩΣΗ,
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ»**

Εντερικός μικροβιόκοσμος σε σχέση με τον καρκίνο παχέος εντέρου και τη
διατροφή

ΚΑΡΑΝΙΚΚΗ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ

ΜΕΤΑΠΤ. ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ, 2020

Σεπτέμβριος 2020

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη

**ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΔΙΑΓΝΩΣΗ, ΣΥΓΧΡΟΝΗ
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ**

που απονέμει η Ιατρική Σχολή του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ

ΒΑΘΜΙΔΑ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

ΠΕΡΙΚΛΗΣ ΦΟΥΚΑΣ (Επιβλέπων) ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΔΑΜΑΝΤΙΝΗ ΚΥΡΙΑΚΟΥ ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΙΩΑΝΝΗΣ Γ. ΠΑΝΑΓΙΩΤΙΔΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΦΙΕΡΩΣΗ

*Η παρούσα διπλωματική εργασία είναι αφιερωμένη στους γονείς μου, Αντιγόνη και
Κυριάκο.*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για τη διεκπεραίωση της παρούσας Διπλωματικής Εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κύριο Περικλή Φούκα και την κυρία Αδαμαντίνη Κυριακού που με εμπιστεύτηκαν και με στήριξαν όλο αυτό το διάστημα. Νιώθω ευγνώμον που μου δόθηκε η ευκαιρία να μάθω τόσα πολλά από μια εξέχουσα προσωπικότητα όπως αυτή του κύριου Φούκα, ενός πραγματικού δάσκαλου, ο οποίος στάθηκε στο πλευρό μου, πρόθυμος να βοηθήσει ανά πάσα στιγμή. Υπέρμετρη ευγνωμοσύνη και εκτίμηση νιώθω απέναντι στην κυρία Κυριακού, η οποία με καθοδήγησε αφιερώνοντας ουσιαστικό χρόνο, κάνοντας στοχευμένες υποδείξεις και επιδεικνύοντας προθυμία να μεταδώσει γνώσεις που ελάχιστοι στην ερευνητική κοινότητα κατέχουν.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, η οποία με στήριξε σε κάθε απόφαση μου, ενθαρρύνοντας με πάντα να εξελίσσομαι. Συγκεκριμένα για την υπομονή της θα ήθελα να ευχαριστήσω την αδερφή μου Έλενα, για την ένθερμη εμπύχωση την Πηνελόπη, τη Ξένια, και τους γονείς μου για την απέραντη υποστήριξη, όπως και τη φίλη μου Νίκη για την έμπρακτη στήριξη.

Τέλος, τον κύριο Ιωάννη Παναγιωτίδη, μέλος της τριμελούς επιτροπής για τη συμβολή του στο τελικό αποτέλεσμα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

1.1. Εντερικός μικροβιόκοσμος	14
1.1.2 Σχέση μικροοργανισμών-ξενιστή και ανοσοποιητικό σύστημα.....	15
1.1.3. Μικροοργανισμοί που αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα	18
1.1.4. Εντερική συμβίωση-δυσβίωση.....	22
1.1.5 Αξιολόγηση εντερικού μικροβιώματος	23
1.2. Καρκίνος παχέος εντέρου.	
1.2.1 Στατιστικά στοιχεία καρκίνου παχέος εντέρου.....	24
1.2.2. Καρκίνος Παχέος Εντέρου - Παθολογοανατομικά στοιχεία.....	25
1.2.3. Θεραπεία καρκίνου παχέος εντέρου.....	28
1.2.4. Μοριακό μοντέλο καρκινογένεσης στο παχύ έντερο.....	30
1.3. Σκοπός.....	32
1.4. Μεθοδολογία.....	32

2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

2.1. Εντερική δυσβίωση – συμβολή στη διαδικασία καρκινογένεσης.....	35
2.1.1. Εντερική δυσβίωση στο παχύ έντερο.....	35
2.1.2.Μεμονωμένα βακτήρια και ογκογένεση.....	37
2.2.Υποθέσεις βακτηριακής ογκογένεσης στο παχύ έντερο.....	45
2.3. Εντερικά βιοφίλμ στον καρκίνο παχέος εντέρου.....	49
2.4. Χρόνια Φλεγμονή και βακτηριακή ογκογένεση.....	51
2.5..Ογκογόνοι βακτηριακοί μεταβολίτες και τοξίνες.....	52

3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΥ ΣΤΙΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

3. Αντικαρκινικές θεραπείες για τον καρκίνο παχέος εντέρου.....	56
3.1. Ανοσοθεραπεία.....	58
3.2. Ακτινοθεραπεία.....	61
3.3. Χειρουργική αντιμετώπιση.....	63
3.4. Χημειοθεραπεία.....	65

4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο : Μηχανισμοί με τους οποίους επιδρά η διατροφή και ο εντερικός μικροβιόκοσμος στην πρόκληση καρκίνου παχέος εντέρου

4.1. Φυτικές Ίνες.....	69
4.2. Κόκκινο και επεξεργασμένο κρέας.....	70
4.3. Λίπη.....	71
4.4. Ο ρόλος του εντερικού μικροβιόκοσμου και της διατροφής στη μεσολάβηση αύξησης κινδύνου για καρκίνο παχέος εντέρου.....	72
4.5. Διατροφική παρέμβαση για τη διαμόρφωση της σύστασης εντερικού μικροβιοκόσμου και η επίδραση της στον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου παχέος εντέρου.....	74
4.5.1. Διατροφικά πρότυπα.....	74
4.5.2. Τεχνικές παρέμβασης στη σύσταση εντερικού μικροβιοκόσμου με σκοπό τη βελτίωση θεραπευτικής απόκρισης και της πρόγνωσης των ασθενών: Κλινικές δοκιμές.....	76
4.5.2.1. Προβιοτικά.....	76
4.5.2.2. Πρεβιοτικά και Συμβιοτικά.....	81
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ.	83
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	88

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εμφάνιση νέων περιστατικών καρκίνου του παχέος εντέρου φαίνεται να διαγράφει ανοδική πορεία τα τελευταία χρόνια. Η νεοπλασματική αυτή εντόπιση αποτελεί τη 2^η και 3^η συχνότερα καταγραφόμενη νόσο παγκοσμίως, σε γυναίκες και άνδρες αντίστοιχα. Τα αίτια ανάπτυξης εντερικής νεοπλασίας ανάγονται σε διάφορους παράγοντες, γενετικούς και επιγενετικούς (π.χ. διατροφή, ρύποι, ακτινοβολία). Η σύγχρονη ερευνητική κοινότητα προτείνει ότι η εντερική δυσβίωση, η διαταραχή δηλαδή της φυσιολογικής σύστασης του εντερικού μικροβιοκόσμου, εμπλέκεται στην εξέλιξη της νεοπλασματικής διαδικασίας. Σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι η αξιολόγηση της συσχέτισης του εντερικού μικροβιοκόσμου με την ανάπτυξη καρκινογένεσης στο παχύ έντερο και με την ανταπόκριση στις αντικαρκινικές θεραπείες, αποσκοπώντας σε πιθανά ευρήματα που θα λειτουργήσουν θετικά ως προς την βελτιστοποίηση των ογκολογικών θεραπειών, τη μείωση της τοξικότητας αυτών και την εύρεση πιθανών κλινικών βιοδεικτών, ωφέλιμων για πρόωπη ανίχνευση και διάγνωση καρκίνου στο παχύ έντερο. Πραγματοποιείται ανασκόπηση των υπάρχουσών μελετών αναφορικά με μεμονωμένα βακτήρια και με σύνολο βακτηριακών κοινοτήτων που έχουν ογκογόνο δυναμικό. Αξιολογείται η επίδραση των μικροοργανισμών, όπως και διαφόρων διατροφικών προτύπων και διατροφικών παρεμβάσεων (προβιοτικών, πρεβιοτικών, συμβιοτικών) στην αποτελεσματικότητα των υπάρχουσών αντικαρκινικών θεραπειών και της συνοδής συμπτωματολογίας αυτών. Πραγματοποιήθηκε εκτενής αναζήτηση για διαφορετικών ειδών μελέτες, στη βάση δεδομένων PubMed/MEDLINE, για τη τελευταία δεκαετία. Συνολικά, από τις μελέτες που αφορούν την εντερική δυσβίωση ως παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη καρκινογένεσης, προκύπτουν διάφοροι μηχανισμοί, δίχως κάποιος από αυτούς να υπερτερεί έναντι του άλλου. Σημαντικό χαρακτηριστικό αποτέλεσε η ετερογένεια, ως προς τη μεθοδολογία των μελετών, όπως α) είδος παρεμβάσεων, β) συγχυτικοί παράγοντες, γ) διάρκεια παρακολούθησης. Συμπερασματικά, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η αφθονία συγκεκριμένων ειδών βακτηρίων προδιαθέτει σε αυξημένο κίνδυνο εντερικής ογκογένεσης, το καθένα με διαφορετικό μηχανισμό δράσης. Μερικοί ερευνητές δεν δέχτηκαν αυτή τη σκέψη και περιέγραψαν ότι οι βακτηριακές κοινότητες συνολικά, στο πλαίσιο εντερικής δυσβίωσης, είναι αυτές που έχουν ικανό ογκογόνο χαρακτήρα, και όχι μεμονωμένα βακτήρια. Κι οι δυο απόψεις μπορούν να επηρεάσουν εξίσου ως προς την εξαγωγή ενός συνολικά αποδεκτού συμπεράσματος. Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε επίσης και η επίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου στην ανταπόκριση στις

σύγχρονες αντικαρκινικές θεραπείες. Η εντερική δυσβίωση φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία, την ανοσοθεραπεία και το χειρουργείο, όπως επίσης και να αποτελεί ικανή συνθήκη αύξησης της τοξικότητας/ επιβλαβών επιπτώσεων από τις εν λόγω θεραπείες. Επιπρόσθετα διερευνήθηκε ο ρόλος της δίαιτας στη διαμόρφωση του εντερικού μικροβιοκόσμου και κατ' επέκταση στον κίνδυνο εντερικής καρκινογένεσης, τόσο μεμονωμένα αναφορικά με τα μακροθρεπτικά όπως για παράδειγμα το λίπος, ομάδων τροφών (π.χ. κρέατος) , όσο και συνολικά ως πρότυπα διατροφής, για παράδειγμα δυτικού τύπου, μεσογειακού τύπου διατροφή. Στην βιβλιογραφία υπάρχουν διαθέσιμες έρευνες οι οποίες αξιολογούν την πιθανή ικανότητα των προ-, πρε- βιοτικών και συμβιοτικών, να αναστέλλουν την ογκογένεση ή να μειώνουν την τοξικότητα που σχετίζεται με τις αντικαρκινικές θεραπείες, ενώ μικρός αριθμός μελετών έχει αξιολογήσει το δυναμικό αυτών στην ενίσχυση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας. Συνεπώς, η μέθοδος στόχευσης του εντερικού μικροβιοκόσμου φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη όσον αφορά την αύξηση της αποτελεσματικότητας των αντικαρκινικών θεραπειών και την μείωση της τοξικότητας τους. Παρ' όλα αυτά, δεν έχει ακόμα εδραιωθεί διότι η ερευνητική κοινότητα έχει ολοκληρώσει κατά βάση προκλινικές μελέτες σε ζωικά πρότυπα με έκτοπους όγκους και τα οποία έχουν υποβληθεί σε διαδικασίες ανοσολογικής επεξεργασίας πριν από τη μεταφορά τους στον νέο ξενιστή. Αυτά τα μοντέλα δεν αντικατοπτρίζουν επαρκώς τις συνεχώς μεταβαλλόμενες αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο ανοσολογικό σύστημα και τον όγκο κατά τη διάρκεια διαδικασιών εξάλειψης του καρκίνου, στα στάδια ισορροπίας και διαφυγής. Για μια βαθύτερη κατανόηση των υποκείμενων μοριακών μηχανισμών, πιθανώς θα χρειαστούν εξανθρωπισμένα ζωικά μοντέλα ή μοντέλα αυθόρμητης ογκογένεσης.

Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν για την αναζήτηση ήταν: Colorectal cancer, gut microbiome, gut dysbiosis, anticancer therapies, nutrition, metabolic/ oncogenic pathways

ABSTRACT

The emergence of new cases of colon cancer seems to have risen in recent years. This type of cancer is known as the 2nd and 3rd most frequently recorded disease worldwide in women and men respectively. The causes of the development of intestinal neoplasms are due to various factors, genetic and epigenetic (eg diet, pollutants, radiation). The modern research community suggests that intestinal dysbiosis, i.e the disturbance of the normal composition of the intestinal microbiome, is involved in the development of the neoplastic process. The aim of this study was to evaluate the association of the intestinal microbiome with the development of carcinogenesis in the large intestine and in response to anti-cancer therapies, aiming at possible findings that will have a positive impact on optimizing oncological therapies, and finding possible clinical biomarkers, useful for early detection and diagnosis of colon cancer. Existing studies on individual bacteria and a set of bacterial communities with oncogenic potential are reviewed. Also, the effect of microorganisms, as well as various dietary patterns and dietary interventions (probiotics, prebiotics, symbiotics) are evaluated, as well as, the effectiveness of existing anti-cancer therapies and their accompanying symptoms. Extensive research for different types of studies in the PubMed / MEDLINE database over the last decade, has been done. Overall, studies of intestinal dysbiosis as a risk factor for the development of carcinogenesis reveal various mechanisms, without one of them being superior to the other. An important feature was the heterogeneity, in terms of the methodology of the studies, such as a) type of interventions, b) confounding factors, c) duration of follow-up. In conclusion, several studies have shown that the abundance of specific species of bacteria predisposes to an increased risk of intestinal oncogenesis, each with a different mechanism of action. Some researchers did not accept this idea and thus, they argued that the bacterial communities as a whole, in the context of intestinal dysbiosis, are those that have a strong oncogenic dynamic and not individual bacteria. Both views can be equally influential in drawing a generally accepted conclusion. In the present dissertation, the effect of the intestinal microbiome in response to the contemporary anti-cancer therapies was also studied. Intestinal dysbiosis appears to play an important role in the response to chemotherapy, immunotherapy, and surgery, as well as being a potential condition for increasing the toxicity / adverse effects of these treatments. In addition, the role of diet in the formation of the intestinal microbiome and consequently in the risk of intestinal carcinogenesis was investigated, both individually with regard to macronutrients such as fat, food groups (eg meat), and as a whole dietary

pattern for example western type, mediterranean type diet. According to peer research literature, it seems that the potential ability of pro-, prebiotic and symbiotic in order to inhibit oncogenesis or reduce the toxicity associated with anticancer therapies, have been evaluated. Moreover, a small number of studies have evaluated their potential to enhance therapeutic efficiency. Therefore, the method of targeting the intestinal microbiome seems to be very promising in terms of increasing the effectiveness of anti-cancer therapies and reducing their toxicity. However, it has not yet been well-documented and stated, due to the fact that the research community, has largely completed preclinical studies in animal models with ectopic tumors that have undergone immunoprocessing procedures prior to transfer to the new host. These models do not adequately reflect the ever-changing interactions between the immune system and the tumor during cancer elimination processes, in the equilibrium and escape stages. New insights in the underlying molecular mechanisms, humanized animal models or models of spontaneous oncogenesis will probably be needed.

The keywords used for the search were: Colorectal cancer, gut microbiome, gut dysbiosis, anticancer therapies, nutrition, metabolic / oncogenic pathways

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Κύριοι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη σχέση μεταξύ βακτηρίων και ξενιστή: μεταβολικές επιπτώσεις.....	18
Εικόνα 2: Ποσοστά νέων περιστατικών καρκίνου, ανά τύπο και φύλο, στην Ευρώπη.....	24
Εικόνα 3: Στάδια εντερικής ογκογένεσης.....	31
Εικόνα 4: Μονοπάτια επαγωγής εντερικής ογκογένεσης.....	31
Εικόνα 5: Εντερική δυσβίωση στον καρκίνο παχέος εντέρου.....	37
Εικόνα 6: Η τοξίνη <i>Bacteroides fragilis</i> διεγείρει την έναρξη ενός προκαρκινογόνου φλεγμονώδους καταρράκτη μέσω στόχευσης των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων.....	38
Εικόνα 7: Απεικονίζονται οι αλληλεπιδράσεις του <i>Fusobacterium nucleatum</i> στον καρκίνο παχέος εντέρου.....	42
Εικόνα 8: Το μοντέλο οδηγού-επιβάτη για την ανάπτυξη καρκινογένεσης στο παχύ έντερο....	48

ΚΑΤΑΛΟΓΩΝ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Οι κυριότερες ταξινομικές κατηγορίες του γαστρεντερικού μικροβιοσκόσμου σε ανθρώπους και ζωικά πρότυπα.....	22
Πίνακας 2: Ογκογόνες βακτηριακές τοξίνες και η σχέση τους με τον καρκίνο παχέος εντέρου σε ανθρώπους.....	54-55

ΚΑΤΑΛΟΓΩΝ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 1 : Γράφημα ροής διαδικασίας ανασκόπησης βιβλιογραφικών αναφορών.....	28
--	----

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ Ή ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΩΝ

ΓΣ: Γαστρεντερικός σωλήνας

PRRs: pattern recognition receptors

TLRs: toll-like receptors

NLRs: NOD-like receptors

LPS: λιποπολυσακχαρίτες

PAMP: Pathogen-Associated Molecular Pattern

MAIT: Mucosal associated invariant T-cells

PPAR-γ: peroxisome proliferator-activated receptor- γ

GLP-1: glucagon-like peptide-1

PYY: πεπτίδιο YY

VLPs: Virus-like particles

WGS: whole-genome shotgun sequencing

EGFR: epidermal growth factor receptor

VEGF: vascular endothelial growth factor

BMP: bone morphogenetic protein

KAK: Καρκινικά Αρχέγονα Κύτταρα

EAK: Ενήλικα Αρχέγονα Κύτταρα

TLRs: Toll Like receptors

CRC: Καρκίνος παχέος εντέρου

ODC: αποκαρβοξυλάση της οριθίνης

SAAT: spermidine/spermine N1-acetyltransferase

MSI: Μικροδορυφορική αστάθεια

MSI-H: Υψηλή Μικροδορυφορική αστάθεια

MMR: Mismatch Repair

dMMR: Mismatch Repair deficient

CTLA-4: κυτταροτοξικό T-λεμφοκυτταρικό αντιγόνο-4

FMT: Μεταμόσχευση κοπράνων

5-FU: 5-Φθοριοουρακίλη

OXA: Οξαλιπλατίνη

CTX: Κυκλοφωσφαμίδη

GTB: Γεμισταβίνη

BIRC3: Baculoviral IAP Repeat Containing 3

SCFAs: λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου

PAH: πολυ-κυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες

HCA: ετεροκυκλικές αμίνες

SRB: sulfate-reducing bacteria

CA: χολικό οξύ

CDA: χηνοδεοξυχολικό οξύ

DCA: δεοξυχολικό οξύ

LCA: λιθοχολικό οξύ

MA: μεθανογενή αρχαία

ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΣΚΟΣΜΟΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

1.1 Εντερικός μικροβιόκοσμος.

Ο γαστρεντερικός σωλήνας αποικίζεται από μια τεράστια και πολυποίκιλη κοινότητα μικροοργανισμών. Η μικροβιακή αυτή κοινότητα, ή αλλιώς γνωστή ως ο εντερικός μας μικροβιόκοσμος, περιλαμβάνει βακτήρια, αρχαία, μύκητες, πρωτόζωα και ιούς.

Σύγχρονα ερευνητικά δεδομένα δείχνουν ότι η πραγματική ποικιλοότητα των μικροοργανισμών είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με αυτήν που θεωρείτο αρχικά [1, 2]. Ο εντερικός μικροβιόκοσμος αποτελείται από τρισεκατομμύρια βακτηριακά κύτταρα, από εκατοντάδες διαφορετικά είδη, πράγμα που μεταφράζεται σε επίπεδο γενετικού υλικού σε περισσότερα από τρία εκατομμύρια γονίδια. Το μέρος του γαστρεντερικού σωλήνα που αποικίζεται από τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι το παχύ έντερο κι έτσι δικαιολογημένα υπολογίζεται ότι εμπεριέχει περίπου το 70% του ανθρώπινου γονιδιώματος [3].

Τα τελευταία χρόνια, με την ανάπτυξη των νέων μοριακών τεχνολογιών όπως είναι αυτή της μεταγενομικής, (metagenomics and gnotobiotics) έχει γίνει πλέον εμφανής η συμβολή του εντερικού μικροβιοκόσμου στην ανθρώπινη υγεία. Η χρήση των νέων αυτών εργαλείων έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στη ραγδαία επέκταση της υπάρχουσας γνώσης για τις αλληλεπιδράσεις ξενιστή-μικροβιοκόσμου[4].

Οι μικροοργανισμοί που αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα φαίνεται πως δεν αποτελούν παθητικούς άποικους, αλλά έχουν ενεργό ρόλο στις διάφορες φυσιολογικές και μη, λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού. Παρατηρείται δηλαδή συνεχής αλληλεπίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου με τον ξενιστή. Πιο συγκεκριμένα, οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στο γαστρεντερικό σωλήνα παράγουν διάφορα βιοδραστικά προϊόντα που δεν δρουν μόνο τοπικά στην επιφάνεια του εντερικού βλεννογόνου, αλλά επιπλέον απορροφώνται, μπαίνουν στην κυκλοφορία και επηρεάζουν τη λειτουργία και τελικά την υγεία απομακρυσμένων οργάνων[5]. Για παράδειγμα, ο εντερικός μικροβιόκοσμος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε πληθώρα μεταβολικών και οργανικών λειτουργιών, όπως είναι η πέψη και η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών της τροφής, η ζύμωση ενδογενούς βλέννας με στόχο την παραγωγή ενέργειας ως λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου, και η παραγωγή απαραίτητων

βιταμινών, όπως η βιταμίνη Κ. Επιπλέον, ο εντερικός μικροβιόκοσμος φαίνεται να συμβάλει σημαντικά στην ανοσολογική απόκριση, εφόσον ασκεί έλεγχο στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων, ενώ παράλληλα επιδρά και στη νευρωνική δραστηριότητα. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες μελέτες μαρτυρούν την εμπλοκή του εντερικού μικροβιοκόσμου στην ανάπτυξη της διαδικασίας της καρκινογένεσης [3, 6-8].

Δεδομένου ότι υπάρχει αμφίδρομη σχέση μικροβιώματος-ξενιστή, ο τελευταίος, παρέχει ένα σταθερό περιβάλλον ώστε να αποικούν οι διάφοροι μικροοργανισμοί, εξασφαλίζοντας κατ' αυτό το τρόπο συνεχή εισροή διατροφικών θρεπτικών συστατικών[4].

1.1.2. Σχέση μικροοργανισμών-ξενιστή και ανοσοποιητικό σύστημα.

Το ανοσοποιητικό σύστημα διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο στη σύνθεση του φυσικού μικροβιόκοσμου. Τα κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα (ΓΣ) είναι συνεχώς εκτεθειμένα σε μεγάλο αριθμό μικροβιακών αντιγόνων και μεταβολιτών, ενώ τα επιθηλιακά κύτταρα διαδραματίζουν ρόλο φύλακα που μεταφράζουν βασικές πληροφορίες των ανοσοκυττάρων που βρίσκονται στο χόριο του βλεννογόνου. Η αναγνώριση και η παρακολούθηση των μικροοργανισμών εκτελείται κυρίως από τους μηχανισμούς φυσικής ανοσίας, με την παρουσία pattern recognition receptors (PRR) όπως είναι οι toll-like receptors (TLRs) και οι NOD-like receptors (NLR). Οι TLRs είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς που εκφράζονται σε κυτταρικές επιφάνειες (TLR-2, 4, 5) ή σε ενδολυσωματικά διαμερίσματα (TLR-3, 7, 8, 9 ή 13), ενώ οι NLRs είναι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες. Μαζί, αυτοί οι υποδοχείς αναγνωρίζουν μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογόνα (Pathogen Associated Molecular Patterns, PAMP) από μικροοργανισμούς (π.χ. λιποπολυσακχαρίτες, πεπτιδογλυκάνες, λιπoteιχικό οξύ, μαστιγίνη και μουραμυλοδιπεπτίδιο) ή επικίνδυνα μοριακά μοτίβα από κατεστραμμένους ιστούς.

Συμπερασματικά, ο ΓΣ δεν περιλαμβάνει μόνο τη συντριπτική πλειονότητα των μικροοργανισμών που αποικίζουν το ανθρώπινο σώμα, αλλά επίσης φιλοξενεί και τη μεγαλύτερη δεξαμενή των ανοσοκυττάρων. Επιπλέον, συγκεκριμένα μικροβιακά συστατικά του ΓΣ συμβάλλουν όχι μόνο στη ρύθμιση του ενεργειακού μεταβολισμού αλλά και στην ομοιοστάση της γλυκόζης και των λιπιδίων[6, 8].

Σύμφωνα με ερευνητικά δεδομένα, τα συστατικά των gram αρνητικών βακτηρίων, όπως οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS), αποτελούν τους βασικούς παράγοντες που πυροδοτούν την έναρξη φλεγμονώδους διαδικασίας και την ινσουλινοαντίσταση μέσω μηχανισμών αλληλεπίδρασης των μικροοργανισμών του εντέρου και του συστήματος φυσικής ανοσίας (π.χ. TLR-4, CD14)[6]. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, παρατηρήθηκε ότι σε παχύσαρκα και διαβητικά ζωικά πρότυπα παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα LPS στην κυκλοφορία, μια κατάσταση που ονομάζεται μεταβολική ενδοτοξαμία, η οποία επιβεβαιώθηκε αργότερα και σε ανθρώπους. Άλλα PAMP όπως οι πεπτιδογλυκάνες ή η μαστιγίνη έχουν αποδειχθεί ότι παίζουν αντίστοιχο αιτιολογικό ρόλο στη ρύθμιση παρόμοιων μεταβολικών οδών, όπως επίσης παρατηρήθηκε από την αρχική ταυτοποίηση των LPS, ότι εμπλέκονται στην εμφάνιση μεταβολικών αλλαγών που συσχετίζονται με το υπέρβαρο και την παχυσαρκία (π.χ. αντίσταση στην ινσουλίνη, δυσανεξία στη γλυκόζη, δυσλιπιδαιμία, ηπατική στεάτωση) [6, 8].

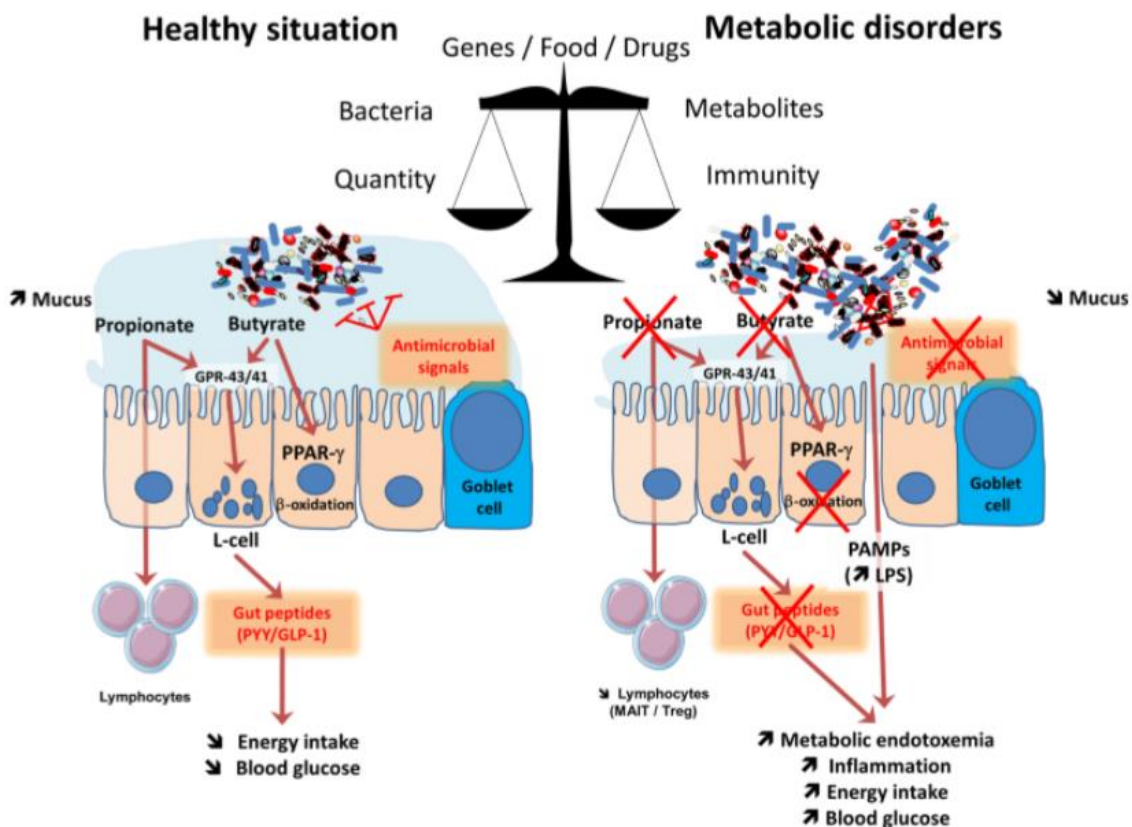
Εκτός από τις συγκεκριμένες αλλαγές στη σύνθεση του εντερικού μικροβιοκόσμου, είναι πλέον αποδεκτό ότι πολλοί βασικοί παράγοντες συμβάλλουν στη μετατόπιση βακτηριακών ενώσεων από τον εντερικό αυλό στην κυκλοφορία. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι εντερικοί μικροοργανισμοί βρίσκονται σε συνεχή επικοινωνία με τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, λειτουργεί αποτελεσματικά ο εντερικός φραγμός λόγω σύνθετων πολύπλευρων μηχανισμών (πχ των πρωτεϊνών σύνδεσης, το πάχος και τη σύνθεση του στρώματος βλέννας, παρουσία αντιμικροβιακών παραγόντων, ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων και άλλων προσαρμοστικών ανοσοκυττάρων και της παραγωγής της ανοσοσφαιρίνης A (IgA)[6].

Η αποδυνάμωση του ανοσοποιητικού συστήματος σχετίζεται με φλεγμονώδη κατάσταση στο έντερο. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχει συσσώρευση των T-κυττάρων στο έντερο παχύσαρκων ατόμων τα οποία ακολουθούν δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος, γεγονός που σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο νοσηρότητας. Αντίθετα, η συγκέντρωση στην κυκλοφορία άλλων ανοσοποιητικών κυττάρων, όπως είναι τα MAIT κύτταρα ή αλλιώς έμφυτα T-κύτταρα, τα οποία ευθύνονται για την εμφάνιση αυξημένων επιπέδων κυτταροκίνης Th1 και Th17 παρατηρούνται αισθητά μειωμένα σε ασθενείς με παχυσαρκία και διαβήτη τύπου 2 [6].

Από την άλλη, η μελέτη της διαταραγμένης μεταβολικής λειτουργίας, είναι υψίστης σημασίας στην αποσαφήνιση μηχανισμών παθογένεσης επαγόμενης από την εντερική δυσβίωση. Η ισορροπία ανάμεσα σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις εξαρτάται από την επιρροή πολλών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων, της διατροφής και των φαρμάκων.

Σε φυσιολογικές καταστάσεις η σύνθεση του εντερικού μικροβιόκοσμου συνδέεται με μεγαλύτερο πάχος βλέννας και με παραγωγή αντιμικροβιακών σημάτων με λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου, όπως το βουτυρικό και το προπιονικό οξύ. Τόσο το βουτυρικό όσο και το προπιονικό δεσμεύονται στους συζευγμένους υποδοχείς GPR-43 και GPR-41 που εκφράζονται επί των εντεροενδοκρινών L-κυττάρων και έτσι διεγείρουν την έκκριση εντεροπεπτιδίων όπως το εντεροπεπτίδιο-1 (GLP-1) και το πεπτίδιο YY (PYY). Η έκκριση των πεπτιδίων αυτών συμβάλλει στη μείωση της πρόσληψης τροφής και στη βελτίωση του μεταβολισμού της γλυκόζης. Το προπιονικό μπορεί επίσης να συνδεθεί με τον GPR-43 που εκφράζεται στα λεμφοκύτταρα προκειμένου να διατηρηθεί η επιθυμητή ανοσολογική άμυνα. Το βουτυρικό ενεργοποιεί τον υποδοχέα PPAR-γ ο οποίος οδηγεί σε β-οξειδωση και κατανάλωση του διαθέσιμου οξυγόνου, γεγονός που συμβάλλει στη διατήρηση της αναερόβιας κατάστασης στον αυλό του εντέρου.

Σε διαταραγμένες μεταβολικές καταστάσεις, οι μεταβολές στον εντερικό μικροβιόκοσμο συνδέονται με μικρότερο πάχος βλέννας, μειωμένη αντιμικροβιακή άμυνα και παραγωγή βουτυρικού και προπιονικού. Ως εκ τούτου, τα L-κύτταρα εκκρίνουν λιγότερα εντεροπεπτίδια. Η έλλειψη ενεργοποίησης του PPAR-γ οδηγεί σε μεγαλύτερες ποσότητες διαθέσιμου οξυγόνου για τους μικροοργανισμούς του εντέρου και έτσι αυξάνεται ο πολλαπλασιασμός των Enterobacteriaceae. Η μείωση του προπιονικού, επίσης, συμβάλλει σε μείωση του αριθμού των ειδικών T κυττάρων: των MAIT κυττάρων (Mucosal associated invariant T cells) και των Tregs στον εντερικό βλεννογόνο. Συνολικά, τέτοιες αλλαγές στο μικροβιακό περιβάλλον και τους μεταβολίτες τους προκαλούν διαρροή παθογόνων σχετιζόμενων με μοριακά πρότυπα (PAMPs), όπως οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS), οι οποίοι αυξάνονται στο αίμα και προκαλούν ήπια φλεγμονή[9].



Εικόνα 1: Κύριοι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη σχέση μεταξύ βακτηρίων και ξενιστή: μεταβολικές επιπτώσεις [6].

1.1.3. Μικροοργανισμοί που αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα.

Το οικοσύστημα του γαστρεντερικού σωλήνα αποτελείται από τις εξής βασικές κατηγορίες μικροοργανισμών: τα βακτήρια, τα αρχαία, τους μύκητες, τα πρωτόζωα και τους ιούς.

Βακτήρια.

Τα βακτήρια που βρίσκονται κατά μήκος της γαστρεντερικής οδού έχουν διάφορες πιθανές επωφελείς για την υγεία λειτουργίες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η εμπλοκή των βακτηρίων στην παραγωγή βιταμινών (συμπλέγματος Β, βιταμίνη Κ κ.ο.), στην απορρόφηση ιόντων (Ca, Mg και Fe), στην προστασία από παθογόνους παράγοντες, στην ιστολογική ανάπτυξη και στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος. Επιπλέον, τα βακτήρια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στη ζύμωση των "μη αφομοιώσιμων συστατικών της τροφής" σε λιπαρά οξέα βραχείας αλυσού (SCFA) και σε άλλους μεταβολίτες. Εν αντιθέσει με τα βακτήρια, οι ρόλοι των μυκήτων και των ιών δεν έχουν εξεταστεί με τόσο μεγάλη λεπτομέρεια.

Όπως είναι γνωστό, τα βακτήρια αποτελούν αριθμητικά το μεγαλύτερο μέρος του εντερικού μας μικροβιοκόσμου. Γι' αυτό ακριβώς το λόγο είναι και οι πιο εκτενώς μελετημένοι άποικοι του γαστρεντερικού συστήματος. Σήμερα εκτιμάται ότι υπάρχουν περίπου 100-300 ταξινομικές ομάδες και χιλιάδες στελέχη βακτηρίων.

Τα βακτήρια του εντέρου ανήκουν στα πέντε φύλα: Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria και Verrucomicrobia, ενώ σε χαμηλότερες αναλογίες έχουν ταυτοποιηθεί τα Fusobacteria, Tenericutes, Spirochaetes, Cyanobacteria και TM7 [1, 7].

Μύκητες.

Οι μύκητες αποτελούν περίπου το 0,03% των αποίκων του μικροβιοκόσμου. Πρακτικά είναι περίπου 3.300 φορές λιγότεροι σε σχέση με τα βακτήρια, όπως επίσης λιγότερα είναι και σε ποικιλομορφία.

Μέσα από μελέτες εντοπίστηκαν τουλάχιστον 267 διακριτοί μύκητες στο ανθρώπινο έντερο. Παρ' όλα αυτά υπάρχει μεγάλη μεταβλητότητα μυκήτων μεταξύ του πληθυσμού. Στις διάφορες κλινικές μελέτες αναγνωρίζεται το γένος *Candida* ως το πιο συχνά απαντώμενο γένος μύκητα. Τα υπόλοιπα γένη παρουσιάζουν μεγαλύτερη μεταβλητότητα, πιθανότατα λόγω της μεθοδολογίας αξιολόγησης τους. [7].

Υπό ορισμένες συνθήκες, ορισμένοι μύκητες μπορεί να εκφράζουν παθογόνο δράση, όπως είναι οι μύκητες που ανήκουν στα γένη *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* και *Cryptococcus*. Παρά τη χαμηλή αφθονία τους, οι μύκητες φαίνεται να έχουν αναπτυχθεί στα έντερο των θηλαστικών από τη βρεφική κιόλας ηλικία.

Τα περισσότερα από τα είδη μυκήτων που ανιχνεύονται φαίνεται να είναι είτε παροδικοί άποικοι είτε να ανιχνεύονται στο περιβάλλον του ξενιστή και συχνά απαντώνται σε μια μόνο μελέτη και / ή μόνο έναν ξενιστή. Σύμφωνα με μια μελέτη η κοινότητα των μυκήτων μπορεί να χαρακτηριστεί ως ασταθής, δεδομένου ότι μόνο το 20% των αρχικά εντοπισμένων μυκήτων ανιχνεύθηκαν ξανά 4 μήνες αργότερα. Απαιτούνται περισσότερες μελέτες σχετικά με τη σταθερότητα του μικροβιώματος των μυκήτων προκειμένου να καθοριστούν οι οικολογικοί ρόλοι των επί μέρους συστατικών του εντερικού μικροβιοκόσμου. Μη βακτηριακοί οργανισμοί έχουν βρεθεί σε πολλά συστήματα θηλαστικών, πράγμα που δείχνει ότι η σημαντική τους

επίδραση έχει παραβλεφθεί σε μεγάλο βαθμό και κατ' επέκταση θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντικές ανακαλύψεις και κατανόηση τους τα επόμενα χρόνια[7].

Αρχαία.

Τα αρχαία είναι μονοκύτταροι μικροοργανισμοί που ανιχνεύονται σε ακραία οικοσυστήματα. Ωστόσο, αν και ορισμένα πράγματι ζουν σε περιβάλλον με ακραίες συνθήκες και χαρακτηρίζονται ως υπερθερμόφιλα υπεραξιδόφιλα και υπεραλογόφιλα, είναι πλέον σαφές ότι μεγάλο μέρος αυτών είναι μεσόφιλα και είναι πολύ διαδεδομένα στο περιβάλλον [10].

Στην γαστρεντερική οδό το γένος των αρχαίων που συναντάμε συχνότερα είναι το γένος *Methanobrevibacter*. Άλλα γένη αρχαίων που συναντώνται στον γαστρεντερικό σωλήνα είναι τα: *Methanosphaera*, το *Nitrososphaera*, το *Thermogymnomonas* και το *Thermoplasma*. Το νέο υποψήφιο είδος προς αναγνώριση είναι το *Methanomethylophilus alvus*. Παρ' ότι ποσοτικά τα αρχαία αποτελούν μόλις ένα μικρό ποσοστό του μικροβιοκόσμου μας, ωστόσο φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην μεθανογένεση, κυρίως μέσω των ειδών του γένους *Methanobrevibacter*.

Οι διαφορές που παρατηρούνται στη σύσταση των Αρχαίων στα δείγματα των μελετών μπορεί να οφείλονται στη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε ή / και σύνθετες σχέσεις με άλλα μικρόβια. Για παράδειγμα, το *Methanobrevibacter* και το *Nitrososphaera* έχει αποδειχθεί ότι και τα δυο, αποκλειστικά συσχετίζονται με αυξημένη πρόσληψη υδατανθράκων. Χρειάζονται περισσότερες μελέτες για να αποσαφηνισθεί η αλληλεπίδραση μεταξύ αρχαίων και άλλων ομάδων μικροοργανισμών, οι οποίες μπορούν να συμβάλουν στην κατανόηση της λειτουργίας τους (πέρα από τη μεθανογένεση) στον εντερικό μικροβιόκοσμο[7].

Ιοί.

Οι ιοί έχουν μελετηθεί κυρίως βάση της συσχέτισης τους με κάποιες παθολογικές καταστάσεις όπως είναι η ηπατική ίνωση και κίρωση λόγω HCV και HBV και ο καρκίνος τραχήλου της μήτρας λόγω του HPV[11].

Τα ιικά νουκλεϊκά οξέα και άλλα προϊόντα λύσης των βακτηρίων χρησιμεύουν ως PAMPs και έχουν την ικανότητα πρόκλησης συγκεκριμένων φλεγμονωδών διεργασιών. Ταυτόχρονα, οι φάγοι έχουν την ικανότητα επαγωγής έμφυτης αντιικής ανοσοαπόκρισης. Οι TLRs λειτουργούσαν ως έμφυτοι αντιικοί ανοσοποιητικοί

αισθητήρες και η ενεργοποίησή τους πυροδοτεί καταρράκτες σηματοδότησης που οδηγούν σε φλεγμονώδη απόκριση[12].

Οι ιοί πέρα από τη συσχέτιση τους με παθολογικές καταστάσεις φαίνεται να παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο τόσο στη δυναμική του ανοσοσυστήματος του ΓΣ, όσο και στη φυσιολογία κι ανοσία του ξενιστή.

Όσον αφορά τον ΓΣ και συγκεκριμένα το παχύ έντερο, τα ανθρώπινα κόπρανα περιέχουν τουλάχιστον 10^9 ιικού τύπου σωματίδια (VLPs) ανά γραμμάριο. Ένα μεγάλο μέρος αυτών έχει ταυτοποιηθεί ως βακτηριοφάγοι, αλλά περιλαμβάνονται επίσης ιοί που μολύνουν τα ευκαρυωτικά κύτταρα, τα αρχαία, ενδογενείς ρετροϊοί και άλλα ενδογενή ιικά στοιχεία[12].

Οι ιογενείς κοινότητες αποτελούνται κυρίως από οικογένειες φάγων που μολύνουν βακτήρια (~ 90%), ενώ σε μικρότερες ποσότητες συναντώνται οι ιοί που προσβάλλουν τα ευκάρυα (~10%). Για παράδειγμα, ο πρόσφατα ανακαλυφθείσας βακτηριοφάγος crAssphage που συσχετίζεται με τα βακτήρια του γένους *Bacteroides*, φαίνεται να απαντάται συχνά στο ανθρώπινο σώμα. Η ποικιλότητα των φάγων φαίνεται να είναι μεγαλύτερη στα βρέφη, ενώ με την πάροδο της ηλικίας ακολουθεί φθίνουσα πορεία, μιας και η βακτηριακή ποικιλότητα αυξάνεται[7].

Η ανάλυση του εντερικού ιικού φορτίου πραγματοποιείται με τον χαρακτηρισμό του νουκλεϊκού οξέος των ιών στα κόπρανα. Μεταξύ του ιικού DNA έχουν αναγνωρισθεί οι λεγόμενοι Γίγαντες Ιοί (> 300 kb) (Mimiviridae, Mamaviridae, Marseilleviridae, Poxviridae, Iridoviridae, Ascoviridae, Phycodnaviridae, Asfaviridae) και τα Bacteriophages. Οι εν λόγω ιοί δρουν ως βακτηριακά «παράσιτα», που ενσωματώνονται στο γενετικό υλικό και επάγουν τη σύνθεση σωματιδίων φάγου με λύση βακτηριακών κυττάρων (λυτικός κύκλος) και χωρίζονται σε μονόκλωνους ιούς DNA (οικογένειες Microviridae και Inoviridae) και δίκλωνους ιούς DNA (Myoviridae, Siphoviridae, Podoviridae, Tectiviridae, Leviviridae, Inoviridae). Η επιφάνεια του βλεννογόνου του εντέρου έχει υψηλή συγκέντρωση ιών και υψηλή αναλογία ιών προς βακτήρια σε σύγκριση με τα γειτονικά περιβάλλοντα όπως ο εντερικός αυλός και τα κόπρανα. Οι ευκαρυωτικοί RNA ιοί που ανιχνεύονται στο ανθρώπινο λεπτό και παχύ έντερο περιλαμβάνουν τον Rotavirus, Astrovirus,

Calicivirus, Norovirus, Hepatitis E virus, Coronavirus and Torovirus, Adenovirus (ορότυποι 40 και 41) [7].

Η σύνθεση του ικού εντερικού μικροβιοκόσμου σχετίζεται στενά με τις διατροφικές συνήθειες. Σύμφωνα με μελέτη του Minot et al., άτομα με παρόμοιο ικό πληθυσμό στο έντερο φαίνεται να έχουν και παρόμοιες διατροφικές συνήθειες. Υπό αυτή την προοπτική, τα τρόφιμα θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως κοινή δεξαμενή ιών ή ως εργαλείο ρύθμισης του αποικισμού των ιών[12].

Παρακάτω στον πίνακα 1 αναγράφονται συνοπτικά οι κυριότερες ταξινομικές κατηγορίες του γαστρεντερικού μικροβιοκόσμου χωρισμένες ανάλογα με την παρουσία τους στους ανθρώπους και στα ζωικά πρότυπα :

Πίνακας 1: Οι κυριότερες ταξινομικές κατηγορίες του γαστρεντερικού μικροβιοκόσμου σε ανθρώπους και ζωικά πρότυπα[7].

	ΑΝΘΡΩΠΟΣ	ΠΟΝΤΙΚΙ	ΑΡΟΥΡΑΙΟΣ	ΧΟΙΡΟΣ
ΒΑΚΤΗΡΙΑ	Firmicutes	Bacteroidetes	Firmicutes	Firmicutes
	Bacteroidetes	Firmicutes	Bacteroidetes	Bacteroidetes
	Actinobacteria			
	Proteobacteria			
ΑΡΧΑΙΑ	Methanobrevibacter	Methanobrevibacter	Methanobrevibacter	Methanomicrobia
	Nitrososphaera			Methanosphaera
ΙΟΙ	Herpesviridae	Ποικίλουν	Ποικίλουν	Picornaviridae
	Papillomaviridae			Astroviridae
	Polyomaviridae			Coronaviridae
	Adenoviridae			Caliciviridae
ΕΥΚΑΡΥΑ	Candida	Ascomycota	Ascomycota	Kazachstania
	Malassezia	Basidiomycota	Basidiomycota	Candida
	Saccharomyces	Chytridiomycota	Chytridiomycota	Galactomyces
	Cladosporium	Zygomycota	Zygomycota	Issatchenkia

1.1.4. Εντερική συμβίωση – δυσβίωση

Σε μια διαδικασία συμβιωτικής συν-εξέλιξης, ο μικροβιόκοσμος του εντέρου καθίσταται απαραίτητος για τη διατήρηση της υγείας και της ακεραιότητας του παχέος εντέρου, [5]όπως και της συνολικής υγείας του ατόμου.

Το οικοσύστημα της γαστρεντερικής οδού στον άνθρωπο συνίσταται από μια σειρά ποικίλων περιβαλλοντικών, χημικών και φυσικών συνθηκών, διότι εκτείνεται από την στοματική κοιλότητα μέχρι και τον πρωκτό. Αυτές οι διαφορές στις συνθήκες, όπως και η αλλαγή στην ποιότητα τροφής που καταναλώνεται επηρεάζουν τη σύνθεση και την πυκνότητα του εντερικού μικροβιόκοσμου καθώς και τους λειτουργικούς ρόλους των μικροοργανισμών, επιλέγοντας εκείνους που είναι πιο κατάλληλοι για αυτό το περιβάλλον[7].

Η μη φυσιολογική διαφοροποίηση στη σύνθεση και λειτουργία του εντερικού μικροβιοκόσμου έχει συνδεθεί μοριακά με την αιτιολογία πολλών ασθενειών, μια εξ αυτών είναι κι η νεοπλασματική νόσος. Μη φυσιολογική σύσταση μικροοργανισμών παρατηρούνται επίσης σε καταστάσεις παχυσαρκίας, διαβήτη, ηπατικών και νευροεκφυλιστικών παθήσεων[6].

Παράγοντες που μπορούν να οδηγήσουν σε απώλεια ποικιλομορφίας και ομοιοστατικής λειτουργίας των μικροοργανισμών αποτελούν η μόλυνση, η φλεγμονή, η διαίτα, οι ξενοβιοτικές ουσίες, όπως επίσης και το διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο του ξενιστή[4].

1.1.5. Αξιολόγηση εντερικού μικροβιώματος.

Σήμερα η αξιολόγηση σύνθεσης του μικροβιώματος γίνεται με αναλύσεις δεδομένων μεταγονιδιωματικής. Σκοπός των ερευνητικών μεθόδων είναι η πλήρης αναγνώριση της γονιδιωματικής πληροφορίας. Στις σύγχρονες μεταγενομικές έρευνες γίνεται χρήση κυρίως της ολικής γονιδιωματικής προσέγγισης (whole-genome shotgun sequencing (WGS)) και της αλληλούχισης 16S rRNA αμπλικονίων (16S ribosomal RNA amplicon sequencing).

Η αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος (WGS) προτάθηκε για πρώτη φορά στις αρχές του 1990 από τον J. Craig Venter και βασίζεται στη δημιουργία και οργάνωση ενός συνόλου κλώνων με μεγάλα ένθετα τμήματα DNA (συνήθως 100-200 kb το καθένα) του μικροοργανισμού που καλύπτουν το γονιδίωμα και έπειτα ακολουθεί τμηματική ανάλυση κατάλληλα επιλεγμένων κλώνων. Επειδή τα δεδομένα για την αλληλουχία αφορούν συγκεκριμένα τμήματα κλώνων, το ενδεχόμενο κακής συναρμολόγησης, τόσο σε περιορισμένη όσο και σε ευρύτερη κλίμακα, περιορίζεται.

Όσον αφορά την 16S ribosomal RNA amplicon sequencing φαίνεται να χρησιμοποιείται κυρίως για την πραγματοποίηση σύγκρισης δειγμάτων εντερικού μικροβιοκόσμου από διαφορετικά άτομα, χωρίς απαραίτητως να είναι γνωστό ποιοι μικροοργανισμοί είναι παρόντες, παρά μόνο κατά πόσο τα ηλεκτροφορητικά φάσματα των αμπλικονίων του συνόλου μικροοργανισμών είναι όμοια ή ανόμοια, καθώς και το ποσοστό διαφορετικότητας των δειγμάτων. Πρακτικά εστιάζει στις ενδεχόμενες συνολικές διαφορές στη σύνθεση των μικροβιακών κοινοτήτων παρά στην αναγνώριση όλων των ειδών μεμονωμένων μικροοργανισμών που υπάρχουν σε αυτές[13].

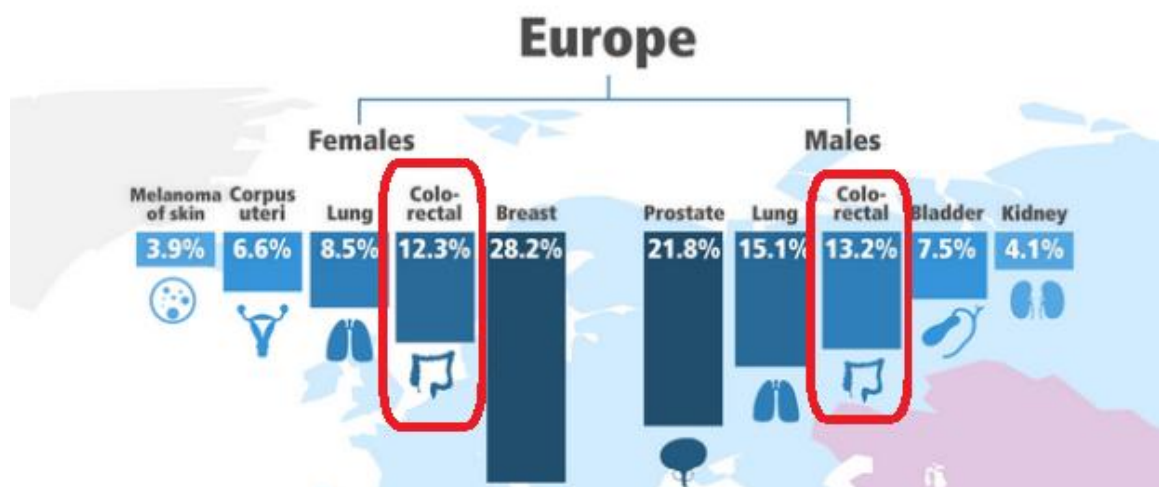
Η ανάπτυξη αυτή των νέων τεχνολογικών μεθόδων φαίνεται να παίζει κομβικό ρόλο στο γεγονός ότι πάνω από τα 4/5 των δημοσιευμένων άρθρων στη βιβλιογραφία σχετικά με το μικροβίωμα του εντέρου χρονολογούνται μόλις από το 2013 και έπειτα.

1.2. Καρκίνος παχέος εντέρου.

1.2.1. Στατιστικά στοιχεία καρκίνου παχέος εντέρου.

Σύμφωνα με βάσεις δεδομένων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) το 2018 καταγράφηκαν πάνω από 1,8 εκατομμύρια νέα περιστατικά καρκίνου του παχέος εντέρου ανά τον κόσμο. Στην Ευρώπη, ο συγκεκριμένος τύπος καρκίνου φαίνεται να καταλαμβάνει τη 2η και 3η θέση ως προς την εμφάνιση νέων περιστατικών σε γυναίκες και άνδρες αντίστοιχα[14].

Επιπλέον, φαίνεται πως η επίπτωση καρκίνου του παχέος εντέρου αυξάνεται κατά περίπου 4% ετησίως σε άτομα ηλικίας <50 ετών, πράγμα που οφείλεται κυρίως στην αύξηση της επίπτωσης καρκίνου στο αριστερό τμήμα του παχέος εντέρου[15].



Εικόνα 2: Ποσοστά νέων περιστατικών καρκίνου, ανά τύπο και φύλο, στην Ευρώπη[14].

Η καρκινογένεση στα περισσότερα επιθήλια αποτελεί μια μακροχρόνια πολυσταδιακή διαδικασία κατά την οποία η άθροιση πολυάριθμων γενετικών μεταλλάξεων και η απώλεια του ελέγχου κυτταρικών λειτουργιών όπως ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση οδηγούν στη δημιουργία παθολογικών κυτταρικών κλώνων, που επικρατούν και στην συνέχεια αποκτούν την ικανότητα να διηθούν και να μεθίστανται. Κατά την διαδικασία αυτή παρατηρούνται μορφολογικές αλλοιώσεις, η αναγνώριση των οποίων αποτελεί σημαντικό στάδιο στην πρόληψη του καρκίνου.

Ορισμένοι από τους παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρκινώματος παχέος εντέρου αποτελούν η γενετική προδιάθεση του ατόμου, οι Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου (ΙΦΝΕ), η διατροφή πλούσια σε κόκκινο και επεξεργασμένο κρέας, η παχυσαρκία, το κάπνισμα, η αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ κι η ακτινοβολία. Ισχυρά ερευνητικά στοιχεία δείχνουν ότι αυτοί οι ίδιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να επιδράσουν σημαντικά στη σύσταση και λειτουργία του εντερικού μας μικροβιοκόσμου, γεγονός που εξηγεί την αύξηση ερευνητικού ενδιαφέροντος για το ρόλο του μικροβιώματος στην καρκινογένεση.

Όσον αφορά το Σύνδρομο Ευερέθιστου Εντέρου (ΣΕΕ), έχει συσχετισθεί θετικά με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση δυσπλασίας και γενετικών μεταλλάξεων. Η ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου σε έδαφος ΣΕΕ περιλαμβάνει πολλές γενετικές μεταλλάξεις οι οποίες είναι κοινές με τη διαδικασία εξέλιξης του σποραδικού καρκίνου παχέος εντέρου, ωστόσο ο χρόνος εμφάνισης και η συχνότητα των γενετικών μεταλλάξεων διαφέρουν.

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι οικογενείς τύποι καρκίνου του παχέος εντέρου αποτελούν μόλις το 3-5% των περιπτώσεων, ενώ το υπόλοιπο 95% αποτελούν οι σποραδικοί τύποι, με κυριότερη εμφάνιση τους σε άτομα ηλικίας >50 ετών.

1.2.2. Καρκίνος Παχέος Εντέρου - Παθολογοανατομικά στοιχεία.

Σύμφωνα με τον WHO, ως καρκίνωμα παχέος εντέρου ορίζεται το κακοήθες επιθηλιακό νεόπλασμα του παχέος εντέρου. Ως κακοήθες θεωρείται το νεόπλασμα που διηθεί την βλεννογόνια μυϊκή στοιβάδα. Η σποραδική παρουσία κυττάρων Paneth, νευροενδοκρινών κυττάρων, η παρουσία εστιών πλακώδους διαφοροποίησης δεν αντιβαίνει στη διάγνωση του αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου[16].

Μακροσκοπική εικόνα

Τα καρκινώματα του παχέος εντέρου εντοπίζονται κυρίως στο σιγμοειδές και στο ορθό αν και τα τελευταία χρόνια καταγράφεται αύξηση των καρκινωμάτων που εντοπίζονται στο δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου. Η μακροσκοπική τους εικόνα είναι ποικίλη και εξαρτάται από τον τύπο του καρκινώματος, τη φυσική του ιστορία, και τη χρονική περίοδο της διάγνωσης. Κυρίως συναντάμε δυο τύπους, τον εξωφυτικό και τον πινακιοειδή, με τον πρώτο να είναι συχνότερος στο δεξί κόλον. Τα καρκινώματα που χαρακτηρίζονται από μικροδορυφορική αστάθεια (MSI) τείνουν να εντοπίζονται στο δεξί τμήμα του παχέος εντέρου κι είναι περίγραπτα και βλεννώδη [17].

Μικροσκοπική Εικόνα

Ο συχνότερος τύπος καρκινώματος παχέος εντέρου (σε ποσοστό >90%) είναι το αδενοκαρκίνωμα. Το αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου σχηματίζει κυρίως αδενικούς σχηματισμούς διαφόρου μεγέθους και σχήματος που επενδύονται από έναν ή περισσότερους στοιχείους κυττάρων, με ή χωρίς παραγωγή βλέννης. Ο τύπος και το ποσοστό των αδενικών σχηματισμών καθώς και η ατυπία των κυττάρων που τους επενδύουν καθορίζουν το βαθμό διαφοροποίησης. Έτσι, καλά διαφοροποιημένα είναι τα αδενοκαρκινώματα με σωληνώδη αρχιτεκτονική σε ποσοστό >95%, μέσης διαφοροποίησης τα αδενοκαρκινώματα με σωληνώδη αρχιτεκτονική σε ποσοστό 50-95% και χαμηλής διαφοροποίησης τα αδενοκαρκινώματα με σωληνώδη αρχιτεκτονική σε ποσοστό έως 49%.

Ο WHO κατατάσσει στην κατηγορία του αδενοκαρκινώματος παχέος εντέρου, εκτός από τον συνήθη τύπο και τις εξής υποποικιλίες: ηθμοειδούς-φαγεσωρικού τύπου αδενοκαρκίνωμα (Cribriform-comedo type adenocarcinoma), μυελοειδές καρκίνωμα (Medullary carcinoma), μικροθηλώδες καρκίνωμα (Micropapillary adenocarcinoma), βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα (Mucinous adenocarcinoma) (που χαρακτηρίζεται συχνά από MSI), οδοντωτό αδενοκαρκίνωμα (Serrated adenocarcinoma) και καρκίνωμα από κύτταρα δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου (Signet ring cell carcinoma).

Άλλοι τύποι καρκινώματος παχέος εντέρου, πλην του αδενοκαρκινώματος, είναι το αδеноπλακώδες καρκίνωμα, το ατρακτοκυτταρικό καρκίνωμα, το πλακώδες καρκίνωμα, το αδιαφοροποίητο καρκίνωμα, το διανυοκυτταρικό καρκίνωμα κ.α.

Επέκταση

Τα καρκινώματα του παχέος εντέρου επεκτείνονται τοπικά δια μέσου του τοιχώματος του οργάνου στον υποβλεννογόνιο (T1) και τον μυϊκό (T2), εξέρχονται στο περιτολικό λίπος (T3) και στη συνέχεια διασπούν τον ορογόνο (T4).

Λεμφαδενικές μεταστάσεις δίνουν μόνο όταν διηθήσουν τον υποβλεννογόνιο χιτώνα.

Επεκτείνονται αιματογενώς μέσα από την πυλαία και την κάτω κοίλη φλέβα[16-18].

Προγνωστικοί Δείκτες

Από την εποχή του Dukes αναδείχθηκε ως ισχυρός προγνωστικός δείκτης η ανατομική επέκταση του όγκου και συγκεκριμένα, η τοπική επέκταση της νόσου στο τοίχωμα του εντέρου (T), η λεμφαδενική διασπορά (N) και η Μετάσταση (M). Έκτοτε πολυάριθμοι παράμετροι έχουν μελετηθεί ως προγνωστικοί δείκτες, δηλαδή ως τα βιολογικά, αντικειμενικά μετρήσιμα, χαρακτηριστικά, που παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την έκβαση του καρκίνου.

Οι προγνωστικοί δείκτες ταξινομούνται σε πέντε ομάδες:

- Ομάδα I (Ισχυροί)
- Ομάδες IIα και IIβ (Στατιστικά Σημαντικοί)
- Ομάδα III (υπό διερεύνηση) και
Ομάδα IV χωρίς προγνωστική αξία

Στην ομάδα I κατατάσσονται: η Τοπική επέκταση της νόσου στο τοίχωμα του εντέρου (T), οι Μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες (N), η Αγγειακή Διασπορά (V) και η Πλήρης Εξαίρεση του όγκου (R).

Στην ομάδα IIα κατατάσσονται: η Διαφοροποίηση του όγκου (grade), η απόσταση από το Κυκλοτερές Εγχειρητικό Όριο (εν τω βάθει /CRM) και η επέκταση του υπολειπόμενου καρκινώματος μετά από θεραπεία (ypTNM).

Στην ομάδα IIβ κατατάσσονται: ο Ιστολογικός τύπος, ο τύπος της Διηθητικής Παρυφής του νεοπλάσματος (infiltrating vs pushing margins) και οι Ιστολογικές αλλοιώσεις που συσχετίζονται με την Μικροδορυφορική Αστάθεια (MSI) (λεμφοκυτταρικές διηθήσεις, μυελοειδής ή βλενώδης τύπος, βαθμός της MSI). Σημειώνεται ότι υψηλή μικροδορυφορική αστάθεια (MSI-H) συσχετίζεται με βελτίωση της επιβίωσης ανά συγκεκριμένο στάδιο της νόσου.

Στην ομάδα III (υπό διερεύνηση) ανήκουν η Ποσότητα του DNA και οι μοριακοί δείκτες εκτός από την ετεροζυγωτία / απώλεια στο 18q/DCC.

Στην ομάδα των παραμέτρων που έχουν μελετηθεί πλήρως και έχει αποδειχθεί ότι δεν έχουν προβλεπτική αξία (Ομάδα IV) ανήκουν το Μέγεθος όγκου, ο Μακροσκοπικός τύπος, η Περινευριδιακή Διήθηση, η Πυκνότητα των αγγείων, η Ίνωση, η Φλεγμονή εντός του όγκου, η Νευροενδοκρινής Διαφοροποίηση και οι Δείκτες Πολλαπλασιασμού.

Προβλεπτικοί δείκτες είναι βιολογικά χαρακτηριστικά, τα οποία σχετίζονται με την ωφέλεια από τη θεραπεία. Για τον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι κυρίως η MSI-H και η έλλειψη μεταλλάξεων στο γονίδιο K-RAS. Τόσο η διάγνωση της MSI-H, όσο και η αναζήτηση μεταλλάξεων γίνεται από τη μελέτη δειγμάτων του νεοπλασματος[16-18].

1.2.3. Θεραπεία καρκίνου παχέος εντέρου.

Η χειρουργική εξαίρεση του όγκου αποτελεί τη μόνη ριζική θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου. Αυτή ακολουθείται από εξάμηνη συμπληρωματική χημειοθεραπεία για τους ασθενείς σταδίου III και του υψηλού κινδύνου σταδίου II. Η συμπληρωματική θεραπεία αυξάνει την επιβίωση ελαττώνοντας την πιθανότητα υποτροπής της νόσου. Για τους ασθενείς με καρκίνο του ορθού σταδίων II και III η χειρουργική θεραπεία συμπληρώνεται από προεγχειρητική ή μετεγχειρητική χημειο-ακτινοθεραπεία. Το σχήμα που κυρίως χρησιμοποιείται στη συμπληρωματική θεραπεία είναι το FOLFOX (5 FU + LV + OXALIPLATIN) ή εναλλακτικά, για τους ασθενείς που δεν θα λάβουν οξαλιπλατίνη, το 5FU + LV ή η CAPECITABINE.

Η **μεταστατική νόσος** αντιμετωπίζεται κυρίως με **χημειοθεραπεία**. Την τελευταία δεκαετία υπήρξε σημαντική πρόοδος στην αντιμετώπισή της, έτσι ώστε η διάμεση επιβίωση των ασθενών από τους 12 περίπου μήνες αυξήθηκε σε πάνω από 24 μήνες. Αυτό οφείλεται κυρίως στη χρησιμοποίηση των νέων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων (oxaliplatin, irinotecan, capecitabine) καθώς και των φαρμάκων στοχευμένης θεραπείας (bevacizumab, cetuximab, panitumumab).

Η χρησιμοποίηση θεραπευτικών συνδυασμών με τα νέα κυτταροτοξικά φάρμακα είχε ως αποτέλεσμα αύξηση των ποσοστών ανταπόκρισης στη θεραπεία, αύξηση του χρόνου μέχρι την επιδείνωση της νόσου, καθώς και της συνολικής επιβίωσης των ασθενών, με μεταστατική νόσο.

Η καλύτερη γνώση της μοριακής βιολογίας του καρκίνου του παχέος εντέρου τα τελευταία χρόνια έχει οδηγήσει στη δημιουργία νέων βιολογικών φαρμάκων στοχευμένης

θεραπείας, τα οποία στοχεύοντας συγκεκριμένους στόχους του καρκινικού κυττάρου μεταβάλλουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό του.

Οι δύο κυριότερες κατηγορίες τέτοιων φαρμάκων, τα οποία χρησιμοποιούνται ήδη στην καθημέρα πράξη, είναι οι ανταγωνιστές των υποδοχέων επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor – EGFR) και του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial growth factor- VEGF). Εναντίον του EGFR χρησιμοποιούνται σήμερα τα μονοκλωνικά αντισώματα Cetuximab και Panitumumab και εναντίον του VEGF το μονοκλωνικό αντίσωμα Bevacizumab. Η προσθήκη τους στα κυτταροτοξικά φάρμακα της χημειοθεραπείας βελτίωσε τα ποσοστά ανταπόκρισης, το χρόνο μέχρι την επιδείνωση της νόσου και σε μερικές περιπτώσεις τη συνολική επιβίωση[19].

Μια άλλη πολύ σημαντική εξέλιξη στη θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου είναι η αύξηση του ποσοστού των ασθενών με μεταστάσεις στο ήπαρ ή και στους πνεύμονες που υποβάλλονται σε μεταστασιεκτομές, με αποτέλεσμα μακροχρόνια επιβίωση σε υψηλό ποσοστό των ασθενών αυτών (5ετής επιβίωση 27-58%)[20].

Εξατομίκευση της θεραπείας.

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου, όπως και όλες οι κακοήθειες, δεν εκφράζει την ίδια συμπεριφορά ως προς τις ιδιότητες του σε όλους τους νοσούντες. Πιο συγκεκριμένα, με τη βοήθεια της Μοριακής Βιολογίας, εντοπίζονται διαφορές σε μοριακό επίπεδο από άτομο σε άτομο, οι οποίες διαφοροποιούν τη νόσο, τόσο όσον αφορά την πρόγνωση, όσο και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Η ανεύρεση αξιόπιστων προγνωστικών και προβλεπτικών δεικτών στον καρκίνο του παχέος εντέρου έχει καθιερώσει την ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο K-RAS ως προβλεπτικό δείκτη για τη θεραπεία με τους anti- EGFR βιολογικούς παράγοντες καθώς και μοριακούς δείκτες, όπως για παράδειγμα τη μικροδορυφορική αστάθεια (MSI).

Η εξατομίκευση της θεραπείας θα προσφέρει στους ασθενείς το βέλτιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα με τη μικρότερη τοξικότητα, ενώ αποφεύγεται η ανώφελη οικονομική επιβάρυνση του συστήματος υγείας.

1.2.4. Μοριακό μοντέλο καρκινογένεσης στο παχύ έντερο.

Κλινικά και ιστοπαθολογικά στοιχεία δείχνουν ότι όλα σχεδόν τα καρκινώματα δημιουργούνται σε έδαφος προϋπάρχοντων αδενωμάτων. Το μοντέλο που επικρατεί σήμερα, όσον αφορά τα μεταλλακτικά γεγονότα που απαιτούνται για την κακοήγη εξαλλαγή, περιγράφηκε τη δεκαετία του 90' από τους Fearon και Vogelstein[21]. Σύμφωνα με αυτό, η καρκινογένεση στο παχύ έντερο προκύπτει από μια σειρά γενετικών αλλαγών σε ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια και απαιτούνται μεταλλαγές σε τουλάχιστον 4-5 γονίδια για τον κακοήγη μετασχηματισμό.

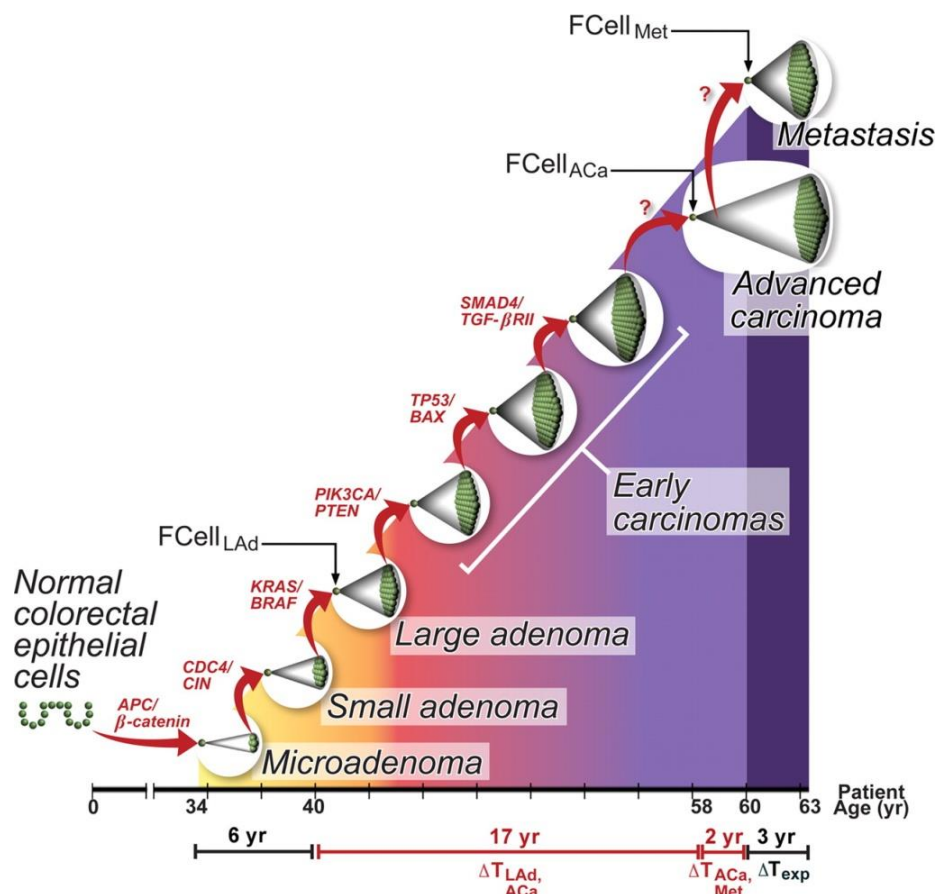
Πιο συγκεκριμένα, το πρώτο στάδιο στη διαδικασία της καρκινογένεσης του παχέος εντέρου φαίνεται να είναι η μεταλλαγή του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *APC*, που εδράζεται στον μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 5 (5q). Η μεταλλαγή του *APC* είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση του υπερπολλαπλασιαζόμενου επιθηλίου του παχέος εντέρου και την ανάπτυξη πρώιμου αδενώματος. Συχνά έχουμε και διαταραχές της μεθυλίωσης του DNA που οδηγούν σε αδυναμία συμπίκνωσης των χρωμοσωμάτων κατά τη διάρκεια της μίτωσης και εμφάνιση ανευπλοειδιών.

Στα σχετικά πρώιμα γεγονότα της καρκινογένεσης εντάσσονται και οι μεταλλαγές των ογκογονιδίων *ras* και ιδιαίτερα του γονιδίου *K-ras*, που εδράζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 12 (12p). Αυξητικό πλεονέκτημα στα πρώιμα αδενώματα δίνουν και οι μεταλλαγές που ενεργοποιούν το γονίδιο *c-src* (κυτταρικό ομόλογο του γονιδίου του ιού που προκαλεί το σάρκωμα rous).

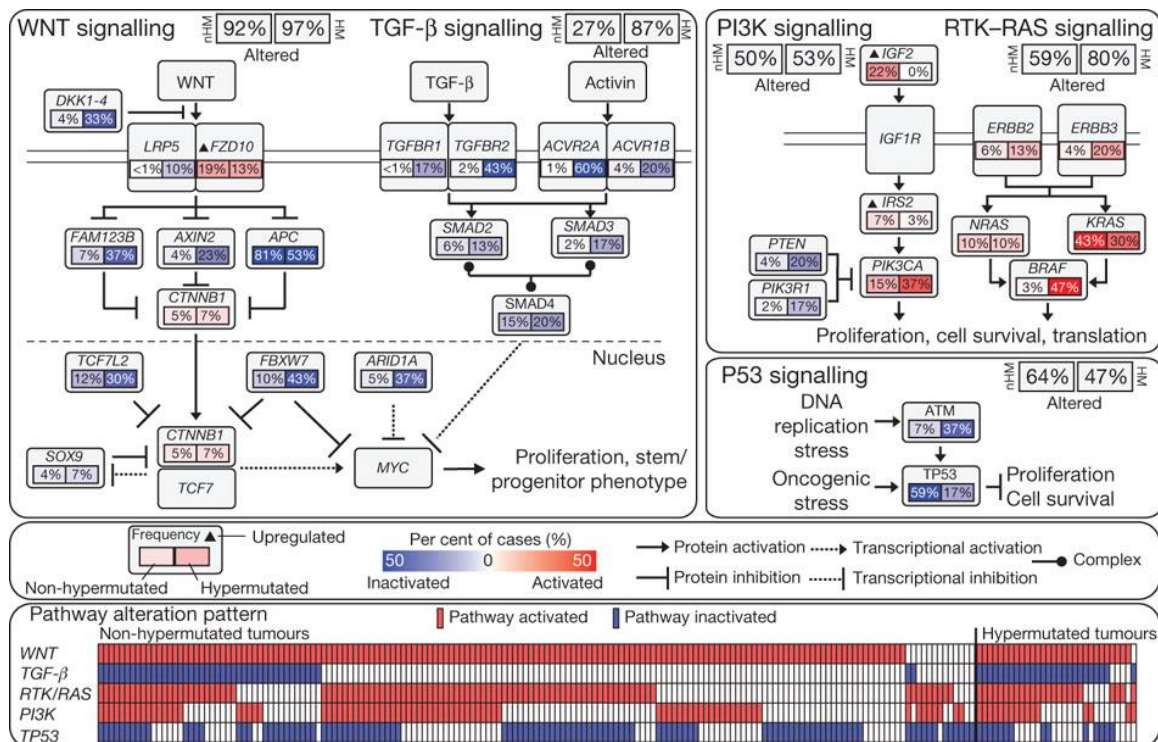
Η απώλεια των αλληλομόρφων στα χρωμοσώματα 18q και 17p, όπου εδράζονται τα ογκοκατασταλτικά γονίδια *DCC* και *p53* αντίστοιχα, συμβαίνει συνήθως σε πιο προχωρημένα στάδια της καρκινογένεσης και προκαλούν τον κακοήγη μετασχηματισμό των αδενωμάτων σε διηθητικά καρκινώματα.

Τέλος, η συσσώρευση επιπλέον γενετικών αλλοιώσεων και η ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση άλλων ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων αντίστοιχα αυξάνουν το βαθμό κακοήθειας των όγκων και την ικανότητά τους να δίνουν μεταστάσεις.

Είναι πάντως σήμερα αποδεκτό ότι η συνολική συσσώρευση των γενετικών αλλαγών και όχι η χρονολογική σειρά εμφάνισής τους είναι υπεύθυνη για τον καθορισμό των βιολογικών ιδιοτήτων του όγκου [22].



Εικόνα 3 : Στάδια εντερικής ογκογένεσης [22].



Εικόνα 4: Μονοπάτια επαγωγής εντερικής ογκογένεσης.

1.3.ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι η ανασκόπηση της πρόσφατης βιβλιογραφίας, ώστε να αξιολογηθεί η συσχέτιση του εντερικού μικροβιοκόσμου με την ανάπτυξη καρκινογένεσης στο παχύ έντερο και με την ανταπόκριση στις αντικαρκινικές θεραπείες, αποσκοπώντας σε πιθανά ευρήματα που θα λειτουργήσουν θετικά ως προς τη πρόληψη της ογκογένεσης, την βελτιστοποίηση των ογκολογικών θεραπειών και την εύρεση πιθανών κλινικών βιοδεικτών, ωφέλιμων για πρόωμη ανίχνευση και διάγνωση καρκίνου στο παχύ έντερο.

1.4. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΜΕΛΕΤΩΝ

Για τον σκοπό της μελέτης αυτής, πραγματοποιήθηκε εκτενής αναζήτηση για κλινικές κι επιδημιολογικές μελέτες, στη βάση δεδομένων PubMed/MEDLINE, για τη τελευταία δεκαετία, δηλαδή από το 2010 έως και το 2020. Επιπλέον, έγινε αναζήτηση και σχετικών ανασκοπήσεων για την τελευταία πενταετία καθώς και συμπληρωματική αναζήτηση των παραπομπών τους.

Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν για την αναζήτηση ήταν: Colorectal cancer, gut microbiome, gut dysbiosis, anticancer therapies, prevention, nutrition, metabolic/oncogenic pathways

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΟΔΟΥ ΚΑΙ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ

Η στρατηγική αναζήτησης σχεδιάστηκε να συμπεριλαμβάνει και να εστιάζει σε τρία βασικά στοιχεία: α) τον εντερικό μικροβιόκοσμο και τους μηχανισμούς βακτηριακής ογκογένεσης στο παχύ έντερο β) ποικιλία ερευνών παρέμβασης (μετα-αναλύσεις, κλινικές μελέτες, παρεμβάσεις κλπ), γ) αποτελέσματα (π.χ. επίδραση εντερικής δυσβίωσης και διατροφικών προτύπων στον κίνδυνο ανάπτυξης ογκογένεσης, επίδραση δυσβίωσης στην αποτελεσματικότητα των αντικαρκινικών θεραπειών και την επαγόμενη από αυτές συμπτωματολογία και τέλος τη χρήση προ-, πρε- βιοτικών και συμβιωτικών στην αποτελεσματικότητα της αντικαρκινικής θεραπείας). Οι μελέτες θα πρέπει να στοχεύουν στη συσχέτιση της εντερικής δυσβίωσης με την ογκογένεση στο παχύ έντερο, με την έκβαση της αντικαρκινικής θεραπείας, και με τη διατροφή. Τα άρθρα που επιλέχθηκαν ήταν αποκλειστικά στην Αγγλική γλώσσα. Δεν τέθηκαν περιορισμοί ως προς το σχεδιασμό

της μελέτης, τη διάρκεια, την περίοδο παρακολούθησης, τις στρατηγικές παρέμβασης, την κατάσταση ελέγχου και την γεωγραφική τοποθεσία.

Εφαρμόστηκαν τα ακόλουθα κριτήρια αποκλεισμού:

- α) συνδυαστικές μελέτες που είχαν πολλούς συγχυτικούς παράγοντες
- β) μελέτες που δεν ανέφεραν αποτελέσματα, όπως αλλαγές στη νεοπλασματική διαδικασία

ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΛΕΤΩΝ

Με τη βοήθεια του προγράμματος διαχείρισης βιβλιογραφικών αναφορών EndNote X9, έγινε συγχώνευση όλων των αποτελεσμάτων της αναζήτησης από τις διάφορες πηγές και αφαίρεση των διπλότυπων (duplicates).

Στη συνέχεια έγινε έλεγχος των τίτλων και των περιλήψεων όλων των αναφορών, απομόνωση των δυνητικά κατάλληλων μελετών και ανάγνωση του πλήρους κειμένου τους. Οι μελέτες που πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής, απομονώθηκαν.

ΕΞΑΓΩΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Τα χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθηκαν για την ανασκόπηση των χαρακτηριστικών των συμπεριλαμβανόμενων μελετών αναφέρονται σε συνοπτικούς πίνακες. Τα δεδομένα που εξήχθησαν περιλάμβαναν α) τα χαρακτηριστικά κάθε μελέτης (διάρκεια, έτος δημοσίευσης, αριθμός συμμετεχόντων), β) τα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, γ) τα καταληκτικά σημεία.

ΣΥΝΘΕΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Λόγω της ετερογένειας των μελετών σε σχέση με το σχεδιασμό των μελετών, τις παρεμβάσεις, τους συμμετέχοντες, τις μετρήσεις και τα αποτελέσματα, δεν διεξήχθη μετά-ανάλυση για να εκτιμηθεί το συνολικό μέγεθος επίδρασης της εντερικής δυσβίωσης με την ογκογενετική διαδικασία, την αντικαρκινική θεραπεία και τη διατροφή. Τα ευρήματα επομένως κατέληξαν να χρησιμοποιηθούν για μια περιγραφική συστηματική ανασκόπηση, στην οποία αξιολογήθηκαν τα επίπεδα αποδεικτικών στοιχείων, ως προς τα αποτελέσματα (πχ πιθανοί βιοδείκτες εντερικής ογκογένεσης), ως προς τον τύπο των μελετών και ως προς την εμπλοκή άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων.

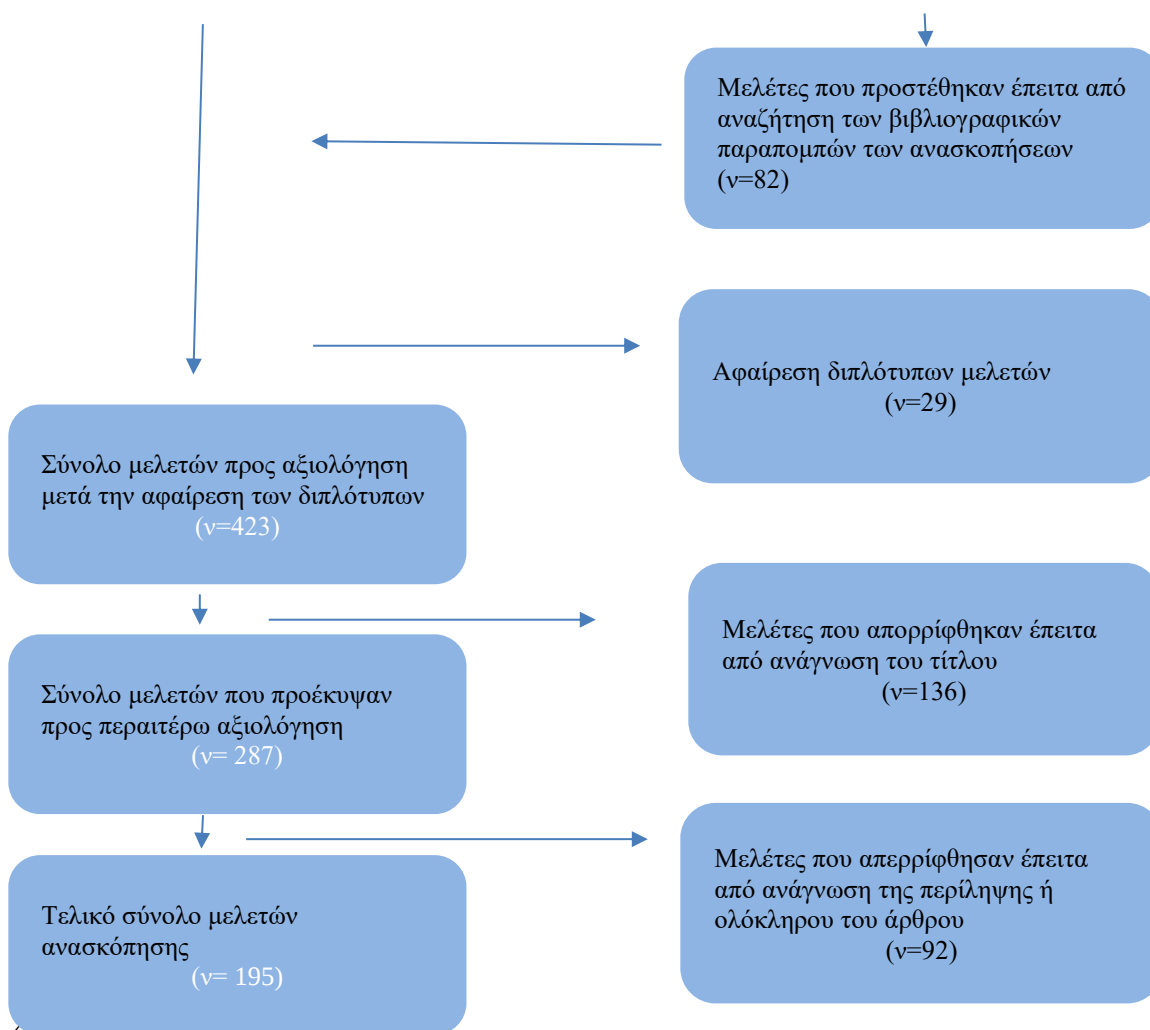
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΛΕΤΩΝ

Σύνολο δοκιμών παρέμβασης που προέκυψαν από την αναζήτηση
($n = 370$)

επτάμβριος 2020

Σύνολο ανασκοπήσεων που προέκυψαν από την αναζήτηση
($n = 310$)



Γράφημα 1 : Γράφημα ροής διαδικασίας ανασκόπησης βιβλιογραφικών αναφορών.

Η διαδικασία επιλογής των μελετών της ανασκόπησης, φαίνεται συνοπτικά στο γράφημα 1. Η αρχική αναζήτηση της βάσης δεδομένων απέδωσε 370 δημοσιεύσεις δοκιμών παρέμβασης και 310 ανασκοπήσεις. Από τον έλεγχο των βιβλιογραφικών παραπομπών των ανασκοπήσεων, προστέθηκαν επιπλέον 82 δοκιμές παρέμβασης. Κατόπιν της αφαίρεσης διπλότυπων μελετών με τη βοήθεια του προγράμματος EndnoteX9, προέκυψαν 423 άρθρα προς αξιολόγηση. Μετά από την αναθεώρηση των τίτλων και των περιλήψεων ή και των δύο, το σύνολο μειώθηκε στις 195.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ**

2.1. Εντερική δυσβίωση – συμβολή στη διαδικασία καρκινογένεσης.

Η εντερική δυσβίωση, δηλαδή η αύξηση επιβλαβών παθογόνων για τον άνθρωπο έναντι των μη παθογόνων, φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην ογκογένεση. Σήμερα η σύγχρονη ερευνητική κοινότητα υποστηρίζει πως η ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου προκύπτει σταδιακά από διαταραχή στη σύσταση του εντερικού μικροβιοκόσμου, η οποία οφείλεται κυρίως στη διατροφή, στις γενετικές μεταβολές ογκογονιδίων και ανοσο-κατασταλτικών γονιδίων και σε άλλους παράγοντες που θα αναλυθούν παρακάτω εκτενέστερα [3].

Εντούτοις, δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο εάν η εντερική δυσβίωση και ο καρκίνος παχέος εντέρου έχουν σχέση αιτίου ή αιτιατού, δηλαδή εάν η εντερική δυσβίωση είναι αποτέλεσμα της ανάπτυξης του όγκου στο παχύ έντερο ή αν υπάρχει αιτιολογική έκθεση στους μικροοργανισμούς πριν την έναρξη της εντερικής καρκινογένεσης[23]. Παρ' όλα αυτά είναι αδιαμφισβήτητη η συσχέτιση της εντερικής δυσβίωσης με την έναρξη ογκογένεσης, και την εξέλιξη σε κακοήγη νεοπλασία[3].

Ένας από τους κυριότερους μηχανισμούς στη διαδικασία της ογκογένεσης είναι η φλεγμονή εφόσον ευνοείται η βακτηριακή επέκταση στο νεοπλασματικό ιστό, προάγοντας έτσι την έκκριση φλεγμονωδών κυτταροκινών οι οποίες βοηθούν στην ανάπτυξη του νεοπλάσματος.

Όλο και περισσότερα δεδομένα υποδηλώνουν ότι συγκεκριμένες ομάδες βακτηρίων ευνοούν τη διαδικασία καρκινογένεσης, ενώ άλλες ομάδες δρουν προστατευτικά ως προς την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα, καρκινογόνο δράση εκφράζουν οι ομάδες βακτηρίων μέσω της πυροδότησης φλεγμονωδών αποκρίσεων ή της παραγωγής τοξινών, επιβλαβών στα εντεροκύτταρα[3].

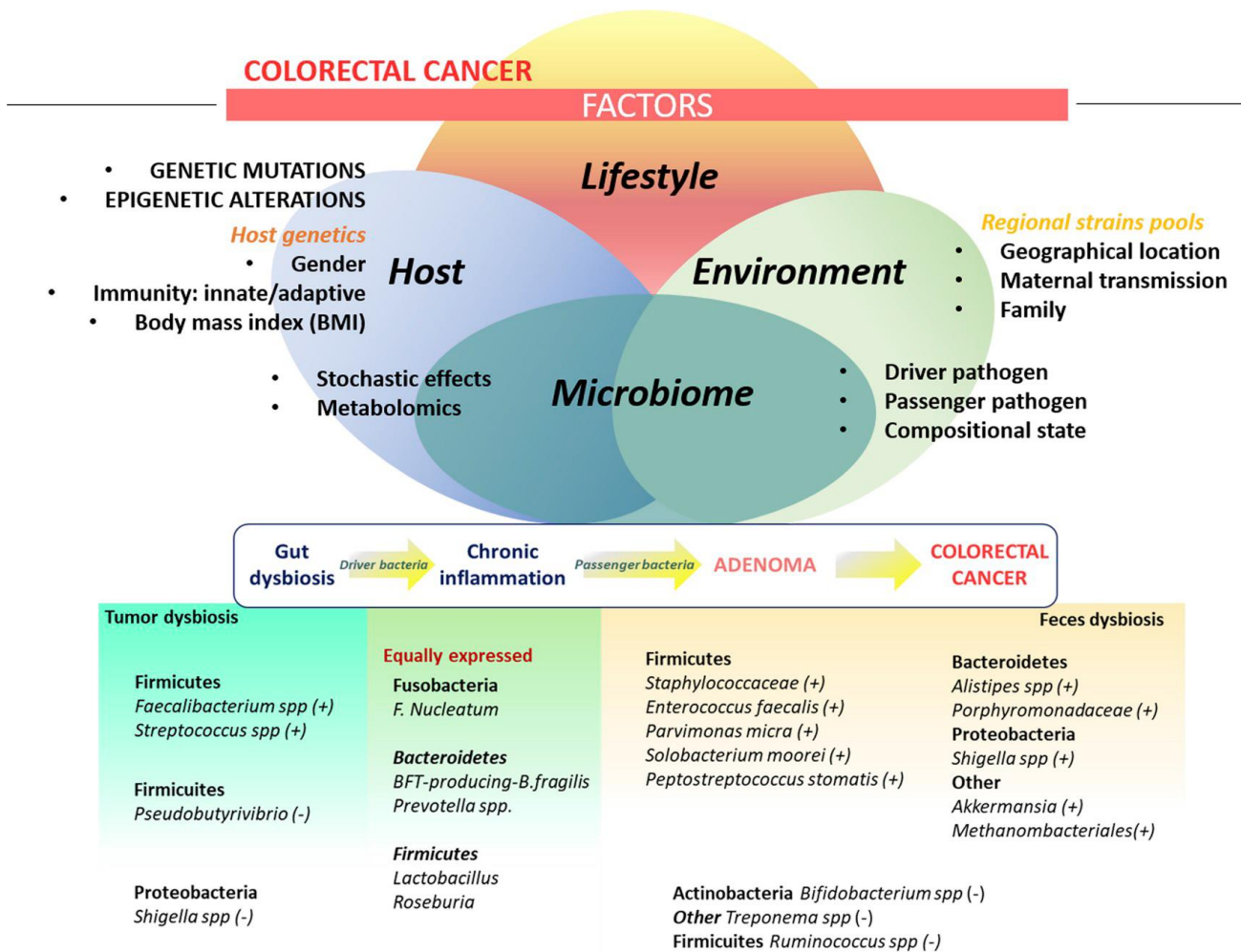
2.1.1. Εντερική δυσβίωση στο παχύ έντερο.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση του εντερικού μικροβιόκοσμου είναι η γενετική προδιάθεση του ατόμου, ο τρόπος ζωής συμπεριλαμβανομένης της δίαιτας, της

άσκησης, της διάρκειας ύπνου, κ.λπ., καθώς και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες. Οι παραπάνω παράμετροι επιδρούν στην κατάσταση υγείας / ασθένειας των ατόμων.

Αναφορικά με την επίδραση του εντερικού μικροβιόκοσμου στην πολυσταδιακή διαδικασία της καρκινογένεσης, η εντερική δυσβίωση οδηγεί σε αποικισμό οδηγών-βακτηρίων (όπως θα αναλυθεί παρακάτω) με αποτέλεσμα την χρόνια φλεγμονή των εντεροεπιθηλιακών κυττάρων. Η φλεγμονή αλλάζει το μικροπεριβάλλον και τα βιοφίλμ, επιτρέποντας ένα νέο αποικισμό από βακτήρια-επιβάτες, γεγονός που επάγει καρκινογενετικές διαδικασίες από την αδενωμάτωση έως και το σχηματισμό όγκου[3].

Σε καταστάσεις εντερικής δυσβίωσης, στην περιοχή του όγκου παρατηρείται η ύπαρξη αφθονίας των γενών *Bacteroides* και *Prevotella* [24]. Κάποια συγκεκριμένα είδη βακτηρίων φαίνεται να ευθύνονται για την πρόκληση φλεγμονωδών αποκρίσεων ή και για την παραγωγή τοξινών που καταστρέφουν άμεσα τα κύτταρα του εντέρου. Για παράδειγμα στελέχη του *Bacteroides fragilis* και του *Enterococcus faecalis* παράγουν εντεροτοξίνες (όπως η fragylisin) και δραστικές ρίζες οξυγόνου, οι οποίες προκαλούν οξειδωτική βλάβη, επάγουν τη φλεγμονή και βλάπτουν τον εντερικό φραγμό. Επιπλέον, το *B. fragilis* ενεργοποιεί την πυρηνική σηματοδότηση της β-κατενίνης και επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.



Εικόνα 5: Εντερική δυσβίωση στον καρκίνο παχέος εντέρου [3].

2.1.2. Μεμονωμένα βακτήρια και ογκογένεση.

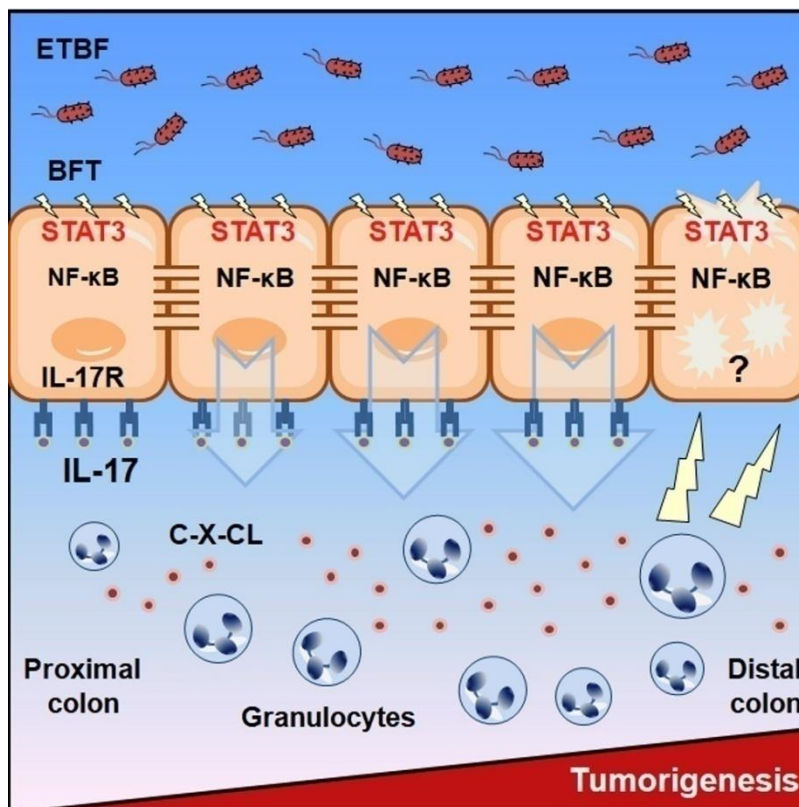
Οι πιο εκτενώς μελετημένοι μικροοργανισμοί στη διαδικασία καρκινογένεσης στο έντερο είναι οι εξής:

Το εντεροτοξιογονικό *Bacteroides fragilis* (ETBF)

Η υπεράξηση του εντεροτοξιογονικού *Bacteroides fragilis* (ETBF) θεωρείται άμεσα προ-ογκογόνος και αποτελεί ένα από τα επικρατέστερα παθογόνα (pathobionts) που ανιχνεύονται σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου. Το ETBF ανιχνεύεται στο ~90% των ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου και μόλις στο ~50% των υγιών ατόμων σύμφωνα με την έρευνα του Sears, Garret et al[25].

Οι μηχανισμοί με τους οποίους το ETBF επάγει την ογκογένεση μελετήθηκαν εκτενώς σε ζωικά πρότυπα ποντικών. Φάνηκε ότι το ETBF επάγει την παραγωγή δραστικών ριζών

οξυγόνου οι οποίες έχουν άμεσα βλαπτική επίδραση στη δομή του DNA. Επιπλέον, φάνηκε ότι η Εντεροτοξίνη του *B. fragilis* (BFT), η οποία είναι μια εξαρτώμενη από ψευδάργυρο τοξίνη μεταλλοπρωτεάσης, είναι υπεύθυνη για την αναδιαμόρφωσης της E-καδερίνης. Η τελευταία είναι μια ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη, η οποία κατόπιν αναδιαμόρφωσης της δομής της ενεργοποιεί τη σηματοδοτική οδό *Wnt/β-κατενίνης* και την επαγωγή μονοπατιών της προφλεγμονώδους κυτταροκίνης IL-7, η οποία με τη σειρά της ευνοεί την κυτταρική επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό[26, 27], αλλά και την αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού καρκινικών εντεροκυττάρων και της επαγωγής της έκφρασης του πρωτο-ογκογόνου MYC[27]. Η απώλεια της E-καδερίνης αυξάνει τη διαπερατότητα των μονοστοιβάδων από εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Η αυξημένη αυτή εντερική διαπερατότητα πριν από την ανάπτυξη του όγκου αποτελεί μια πρόιμη παθοφυσιολογική αλλαγή που συσχετίζεται με αρχόμενο καρκίνο παχέος εντέρου[27].



Εικόνα 6: Η τοξίνη *Bacteroides fragilis* διεγείρει την έναρξη ενός προκαρκινογόνου φλεγμονώδους καταρράκτη μέσω στόχευσης των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων [28].

Αναλυτικότερα, de novo έρευνες σε ποντίκια υποστηρίζουν πως η ογκογόνος δράση της BFT στα εντεροκύτταρα συγκλίνει με 3 κύριες βλεννογονικές προ-φλεγμονώδεις σηματοδοτικές οδούς: την NF-κB, το Stat3 και την IL-17R. Ο τοξικός παράγοντας του ETBF είναι η BFT, η οποία στοχεύει μέσω μετάδοσης σήματος εξαρτώμενου από γ-

σεκρετάση στις επιθηλιακές συνάψεις, μέσω σύνδεσης με κάποιο άγνωστο μέχρι στιγμής υποδοχέα. Η ενδογενής παραγωγή IL-17 και η ενεργοποίηση του Stat3 στα ανοσοκύτταρα και τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα δρουν παράλληλα με στόχο την επαγόμενη από ETBF ογκογένεση. Η ενεργοποίηση της σηματοδότησης του NF-κΒ στα εντεροκύτταρα από την IL-17 πυροδοτεί την έκφραση C-X-C χημειοκινών. Συγκεκριμένα πρώτα ενεργοποιείται η CXCL-1 για να επάγει την αναδιάταξη των πολυμορφοπύρηνων ανώριμων μυελοειδικών κυττάρων που εκφράζονται από την CXCR-2, ενώ παράλληλα ευνοείται η ογκογένεση οφειλόμενη στην ETBF. Οι μελέτες αυτές πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα ποντικών αρνητικών στη μετάλλαξη APC που αποικίζονται από το παθογόνο εντεροτοξικό *Bacteroides fragilis*[27, 29].

Συγκεκριμένα, σε μελέτη που πραγματοποίησε ο Liam Chung et al.[29] παρουσιάζεται ένα μοντέλο όπου η λοίμωξη με ETBF ενεργοποιεί ένα συγκεκριμένο καταρράκτη κυτταρικών αλληλεπιδράσεων που ξεκινούν από τη δράση της εντεροτοξίνης του *B.fragilis* στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα την παραγωγή κυτταροκινών[27] όπως η IL-17 από τα βλεννογονικά ανοσολογικά κύτταρα [29]. Τα ανοσοκύτταρα αλληλεπιδρούν με τα εντεροεπιθηλιακά κύτταρα για να ξεκινήσουν μια ανοσολογική απάντηση που σχετίζεται με τον NF-κΒ, η οποία οδηγεί σε μυελοειδική εντερική βλεννογονική διήθηση (αυξημένη διαπερατότητα εντερικού φραγμού). Η επαγόμενη από την ETBF καρκινογένεση στο έντερο φαίνεται να συμβαίνει απουσία IL-6, IL-23 και IL-17R [29]. Η ενεργοποίηση της Stat3 στα ανοσοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα πραγματοποιείται κατόπιν αποίκισης με ETBF, ανεξάρτητα όμως από τη σηματοδότηση IL-17R [29]. Η ενεργοποίηση του Stat3 επάγει την έκκριση IL-17 από το βλεννογόνο, υποδηλώνοντας κατ' αυτό το τρόπο τη συνεισφορά της Th17 επίκτητης ανοσίας στην καρκινογένεση. Άλλωστε φαίνεται πως η ανοσοαπάντηση με IL-17 συσχετίζεται με κακή πρόγνωση για καρκίνο παχέος εντέρου[27, 30]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ενεργοποίηση του Stat3 που παρατηρείται κατόπιν αποίκισης του εντέρου με ETBF δεν φαίνεται να είναι άμεσα εξαρτώμενη από την BFT, δεδομένου ότι οι *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι η BFT δεν είναι ικανή να επάγει την ενεργοποίηση του Stat3 από τα δενδριτικά κύτταρα του μυελού των οστών ή από τα HT29 εντερικά καρκινικά κύτταρα του ανθρώπου[31, 32]. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρ' ότι η Stat3 είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση ογκογένεσης, ωστόσο δεν είναι ικανή να πυροδοτήσει από μόνη της εξαρτώμενη από την ETBF ογκογένεση.

Η χρονική σειρά των γεγονότων σε αυτό το προτεινόμενο μοντέλο ογκογένεσης που επάγεται από την ETBF είναι η εξής:

1) Το εντεροτοξικό *Bacteroides fragilis* (ETBF) παράγει την εντεροτοξίνη B.fragilis (BFT), που προκαλεί πρωτεολυτική θραύση της E-καδερίνης και συμβάλλει στην αύξηση της διαπερατότητας του εντερικού φραγμού καθώς επίσης και την ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού Wnt / β -κατενίνης και NF- κ B .

2) Η δυσλειτουργία του εντερικού φραγμού επάγει την ενεργοποίηση των μυελοειδικών κυττάρων της περιοχής, γεγονός που συμβάλλει άμεσα στην γρήγορη αύξηση της IL-17 , που χαρακτηρίζεται από την συσσώρευση Th17, $\gamma\delta$ T17 και ILC3. Λόγω της συσσώρευσης κυτταροκινών στην περιοχή που προκάλεσε η ETBF, το Stat3 ενεργοποιείται στο υπόστρωμα των ανοσοκυττάρων του βλεννογόνου [29], το οποίο με τη σειρά του επάγει την παραγωγή IL-17 και συνεπώς την ενεργοποίηση του Stat3 και στα εντεροεπιθηλιακά κύτταρα[26].

3) Οι οδοί σηματοδότησης IL-17 / IL-17R και BFT συγκλίνουν στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα για να ενεργοποιήσουν ένα καταρράκτη NF- κ B στο έντερο, με αποτέλεσμα την παραγωγή C-X-C χημειοκινών, συμπεριλαμβανομένου και της CXCL1 (την αντίστοιχη IL-8 στους ανθρώπους).

(4) Μολονότι ο εντερικός φραγμός αποκαθίσταται προοδευτικά ως προς την ακεραιότητα του, η υπάρχουσα ETBF διατηρεί την παραγωγή IL-17 και χημειοκινών, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση των μυελοειδικών ανοσοκατασταλτικών κυττάρων (MDSC) περιφερικά στο παχύ έντερο, συμπεριλαμβανομένων υψηλών ποσοστών πολυμορφοπύρηνων μυελοειδικών ανοσοκατασταλτικών κυττάρων (PMN-MDSC).

(5) Οι ογκογονικές ιδιότητες του BFT, συμπεριλαμβανομένου του ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού των καρκινικών εντεροεπιθηλιακών κυττάρων και της βλάβης του DNA, πιθανολογείται ότι επιτρέπουν την ταχεία απώλεια του δευτέρου αλληλόμορφου του APC (απώλεια ετεροζυγωτίας, LOH) και τον σχηματισμού μικροαδενώματος. Η συσσώρευση MDSC στο παχύ έντερο παρέχει αυξητικούς παράγοντες που προάγουν την αύξηση του αδενώματος.

Fusobacterium nucleatum.

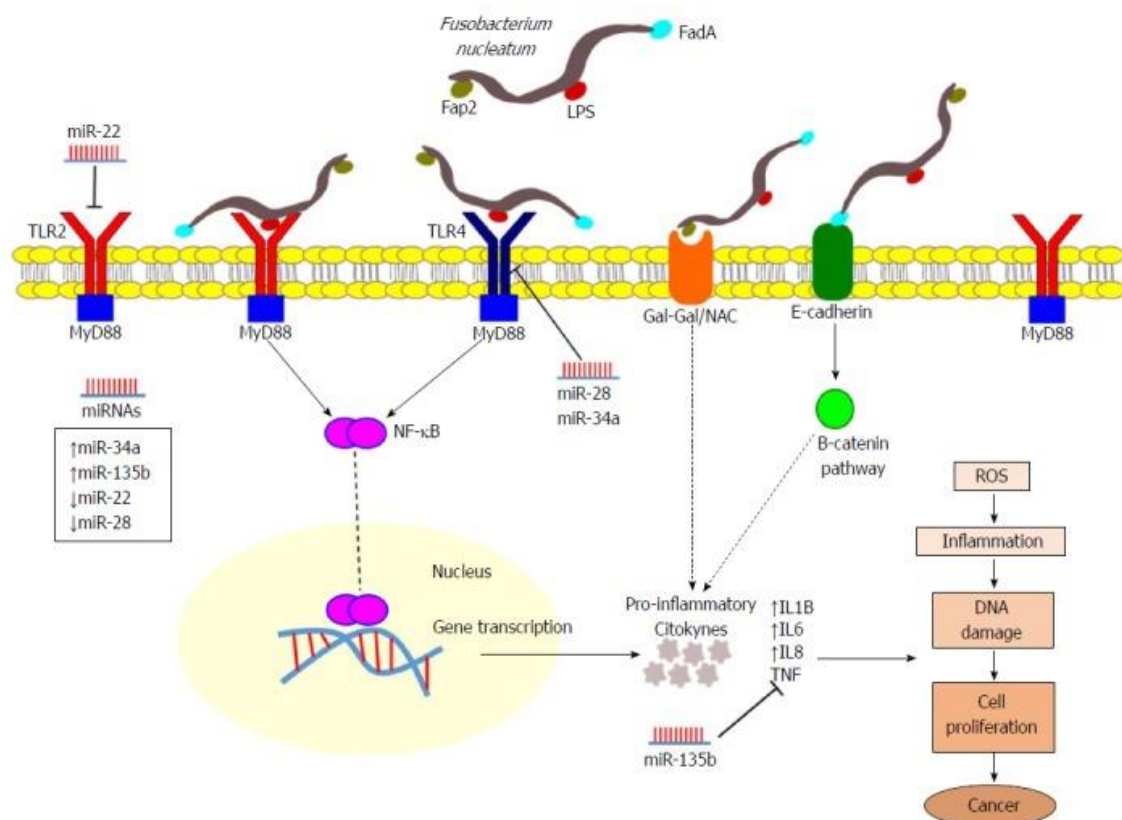
Ερευνητικά δεδομένα δείχνουν πλέον να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) και του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου. Ομοίως με το *B.fragilis*, το *F. nucleatum* φαίνεται να παίζει κεντρικό ρόλο στη διαμόρφωση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, κυρίως μέσω της επαγωγής φλεγμονώδους διαδικασίας.

Συγκεκριμένα, το *F. nucleatum* προσκολλάται άμεσα και διεισδύει στα εντεροεπιθηλιακά κύτταρα, κυρίως μέσω προσκόλλησης της FadA πρωτεΐνης η οποία αλληλεπιδρά με την E-καδερίνη προκαλώντας αλλαγές στη δομή της β-κατενίνης και στη σηματοδότηση του Wnt[3].

Το κλασικό σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt, έχει φανεί ότι ελέγχει την αυτοανανέωση των Ενήλικων Αρχέγονων Κυττάρων (EAK) και συμβάλλει στη διατήρηση του μικροπεριβάλλοντός τους, σε συνεργασία με τα μονοπάτια της οστικής μορφογενετικής πρωτεΐνης (bone morphogenetic protein, BMP), και του Notch. Οι BMPs και οι ανταγωνιστές τους είναι γνωστό ότι εμπλέκονται στον έλεγχο της διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης σε διάφορα όργανα, ενώ έχουν παρατηρηθεί διαταραχές τους κατά την καρκινογένεση. Ειδικότερα, οι BMPs δρουν ως αρνητικοί ρυθμιστές των AK, παρεμποδίζοντας την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό τους. Διαταραχές των μονοπατιών Wnt, Notch και BMP σχετίζονται με τα Καρκινικά Αρχέγονα Κύτταρα (KAK) και την ανάπτυξη νεοπλασιών του εντέρου.

Το *F. nucleatum* αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου, διότι προκαλεί αύξηση της έκφρασης φλεγμονωδών μεσολαβητών μέσω μιας πιθανής ενεργοποίησης των TLR2 / TLR4 υποδοχέων, μέσω μορίων miRNA. Παρατηρήθηκε ότι σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου με παρουσία του *F.nucleatum* είναι συχνότερες οι μεταλλάξεις του KRAS γονιδίου και συσχετίστηκαν με μεγαλύτερη έκφραση του miR-21 σε περιπτώσεις αδενώματος, ενώ η IL8 φάνηκε να μεταβάλλεται σε περιπτώσεις καρκίνου του εντέρου με μεγάλη μικροδορυφορική αστάθεια [33].

Σύμφωνα με άλλες μελέτες το *F. nucleatum* φαίνεται ότι έχει την ικανότητα να επιταχύνει την ογκογένεση σε *ApcMin/+* ποντίκια, όπως και να οδηγεί σε μυελοκυτταρική διήθηση σε περιπτώσεις εντερικών όγκων [34].



Εικόνα 7: Απεικονίζονται οι αλληλεπιδράσεις του *Fusobacterium nucleatum* στον καρκίνο παχέος εντέρου.

Το *F. nucleatum* παρουσιάζει τους παράγοντες λοιμογόνου δράσης FadA και Fap2 και λιποπολυσακχαριτών (LPS), οι οποίοι αναγνωρίζονται από υποδοχείς τύπου Toll (TLR2 και TLR4) που μεσολαβούν για την εισβολή του *F. nucleatum* και την προαγωγή του καρκίνου του παχέος εντέρου. Η FadA, μια πρωτεΐνη επιφανειακής προσκόλλησης, προσδένεται στην E-καδερίνη σε εντερικά κύτταρα καρκίνου παχέος εντέρου, ενεργοποιώντας την σηματοδότηση B-κατενίνης. Η Fap2, η οποία είναι ευαίσθητη στη γαλακτόζη, προσδένεται στο Gal-GalNAC, συμβάλλοντας θετικά στη διεισδυτική ικανότητα του *F. nucleatum*. Η οδός TLR2 / TLR4 / MYD88 ενεργοποιείται σε απόκριση του *F. nucleatum*, οδηγώντας στην ενεργοποίηση του NF-κΒ, ενός παράγοντα μεταγραφής που εμπλέκεται στη ρύθμιση της έκφρασης πολλών γονιδίων, οδηγώντας σε αυξημένα επίπεδα έκφρασης ογκογονιδίων και προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών, κυρίως ιντερλευκίνης (IL) 1 B, IL6, IL8 και παράγοντα νέκρωσης όγκου, προκαλώντας την παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου, οι οποίες στη συνέχεια οδηγούν σε φλεγμονή και βλάβη DNA με επακόλουθη την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου. Επιπλέον, αυτές οι οδοί μπορεί να βρίσκονται υπό τη ρύθμιση διαφορετικά εκφρασμένων microRNAs[33] [35].

Streptococcus gallolyticus

Η ταυτοποίηση του *S. gallolyticus* subspecies *gallolyticus* (πρώην *S. bovis*, biotype I) στην κυκλοφορία του αίματος υπήρξε ισχυρός προγνωστικός παράγοντας εντερικής παθογένεσης, συχνά σχετιζόμενη με αδενώματα στο κόλον ή καρκίνο, για σχεδόν 40 χρόνια. Στην πραγματικότητα, οι θετικές σε *S. gallolyticus* καλλιέργειες αίματος ορίζουν ως απαραίτητη τη κλινική εξέταση του παχέος εντέρου για παθολογικά ευρήματα. Παρότι είναι σπάνια η ανίχνευση *S. gallolyticus* στο αίμα ατόμων με νεοπλασία παχέος εντέρου, δηλαδή λιγότερο από 1%, ωστόσο σε μοριακές αναλύσεις έχει ανιχνευτεί DNA του εν λόγω βακτηρίου στο ~ 20-50% των ασθενών με καρκινώματα παχέος εντέρου, σε σύγκριση με <5% των ιστών αναφοράς. Παρά τις επιστημονικές τεκμηριώσεις σχετικά με τον αποικισμό του *S. gallolyticus* στον ξενιστή σε περιπτώσεις καρκινωμάτων του παχέος εντέρου, είναι αβέβαιο εάν ο *S. gallolyticus* είναι απλώς ευκαιριακός εισβολέας λόγω της χαλάρωσης του εντερικού φραγμού ή εάν συμβάλλει, μέσω ειδικών μηχανισμών μολυσματικότητας στον μετασχηματισμό στο κόλον. Ο *S. gallolyticus*, σε σύγκριση με άλλα μέλη του συμπλέγματος *S. bovis*, διαθέτει την πρωτεΐνη pilus (κωδικοποιημένη από το γονίδιο pil1 τοπικά) με περιοχή σύνδεσης κολλαγόνου, η οποία του προσδίδει πλεονέκτημα ανάπτυξης κάτω από μεταβολικές συνθήκες σχετιζόμενες με όγκο παχέος εντέρου. Φαίνεται ότι μετατοπίζεται μέσω παρακυτταρικής επιθηλιακής οδού και σχετίζεται με αυξημένη φλεγμονώδη σηματοδότηση συμπεριλαμβανομένου του PtgS2 (COX-2). Όλα τα παραπάνω υποδηλώνουν ότι ο *S. gallolyticus* είναι έτοιμος να αποικίσει και να εισβάλει σε όγκους του παχέος εντέρου, ενώ παράλληλα παρουσιάζει την ικανότητα ενίσχυσης της ανάπτυξης του όγκου μέσω φλεγμονωδών σημάτων. Σε *in vivo* μελέτες ανίχνευσης φαίνεται πως η έκθεση στον *S. gallolyticus* δεν χαρακτηρίζει την πλειονότητα των ατόμων με ορθοκολικό καρκίνο παχέος εντέρου (CRC). Έτσι, η συμβολή του *S. gallolyticus* στην παθογένεση του CRC στον άνθρωπο περιορίζεται πιθανώς σε ένα υποσύνολο ατόμων, στα οποία μπορεί να ενισχύσει την ανάπτυξη του όγκου[27].

Escherichia coli

Σε κλινικές μελέτες παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση της παρουσίας *E. Coli* σε βιοψίες ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου, σε αντίθεση με το δείγμα αναφοράς υγιών ατόμων.

Πιο συγκεκριμένα, το ενδοκυτταρικό *E.coli* βρέθηκε σε 81% από τα 16 δείγματα αδενώματος ή καρκινώματος παχέος εντέρου, ενώ στις βιοψίες ελέγχου η παρουσία του βακτηρίου ήταν μηδενική. Δύο ομάδες *E. coli* έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον αναφορικά με την παθογένεση του CRC, το γονοτοξικό *E. coli* και το στενά προσκολλημένο *E. coli*. Μεταξύ πιθανών γονοτοξικών *E. coli*, τα στελέχη του B2 *E.coli* φαίνεται να προκαλούν βλάβες στο DNA μέσω της έκφρασης γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα (του νησιδίου συνθετάσης πολυκετιδίων (pks) που περιλαμβάνουν και τη κολιβακτίνη γονοτοξίνη. Η υπόθεση ότι το *E. coli* προάγει την καρκινογένεση του παχέος εντέρου ενισχύεται από δεδομένα σε μελέτες ζωικών προτύπων που υποβλήθηκαν σε αγωγή με αζοξυμεθάνιο, παρατηρείται αποικισμός με το στέλεχος *E. coli* pks+. Η αποκοπή του pks από το στέλεχος του *E.coli* με το οποίο μολύνονται τα πειραματόζωα συσχετίζεται με μείωση της βλάβης DNA, του αριθμού των όγκων και την εισβολή βακτηρίων, αλλά όχι με τη φλεγμονή. Έτσι, η καρκινογένεση στο παραπάνω μοντέλο απαιτεί την ύπαρξη φλεγμονής και επιπλέον έναν ειδικό παράγοντα μολυσματικότητας βακτηρίων. Ένα στέλεχος του *Enterococcus faecalis* φάνηκε ικανό να προκαλέσει φλεγμονή αλλά όχι ογκογένεση στο έντερο στο ίδιο μοντέλο ζωικού πρότυπου. Άλλα δεδομένα δείχνουν ότι ο τύπος της φλεγμονής παίζει ρόλο στη διευκόλυνση των βιολογικών νεοπλασματικών γεγονότων, με τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις Th1 και Th17 να είναι γενικά αντι- και προκαρκινογόνες, αντίστοιχα. Ο χαρακτήρας της φλεγμονής του παχέος εντέρου που προκαλείται από το *E. coli* κι είναι pks θετικός ή αρνητικός δεν προσδιορίστηκε σε αυτό το μοντέλο και, επομένως, είναι πιθανό η αποκοπή του τμήματος του DNA που περιέχει το pks να είχε ως αποτέλεσμα τη μετατροπή του φλεγμονώδους περιβάλλοντος από προ-καρκινογόνο σε αντι-καρκινογόνο. Περιορισμένα δεδομένα σε ανθρώπους υποδηλώνουν ότι το *E. coli* θετικό στην κολιβακτίνη είναι το πιο συχνά απαντώμενο σε ασθενείς με CRC και φλεγμονώδη εντερική νόσο και εντοπίζεται σε δείγματα κοπράνων σε βρέφη στα οποία φαίνεται ο αποικισμός να είναι «επίμονος» μέχρι και την ηλικίας των 18 μηνών.

Άλλα είδη *E.coli* με καθορισμένους ή απροσδιόριστους γονοτοξικούς παράγοντες έχουν επίσης απομονωθεί από τον βλεννογόνο του παχέος εντέρου αν και υπάρχουν λίγα δεδομένα αναφορικά με μελέτες σε ανθρώπους. Το εντεροπαθογόνο *E.coli* (EPEC) που εμφανίζει χαρακτηριστική προσκόλληση στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα (επίσης γνωστό για την ιδιότητα προσκόλλησης και δημιουργία βλάβης), είναι γνωστό ότι αποτελεί συχνή αιτία οξείας και επίμονης διάρροιας σε παιδιά, ενώ παράλληλα έχει επίσης προταθεί ως δυνητικά καρκινογόνο μέσω της επίδρασης που πιθανά ασκεί στις πρωτεΐνες

που παίρνουν μέρος στον μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών του DNA. Το EPEC ανιχνεύθηκε στο 25% των 20 ιστών αδενοκαρκινώματος, αλλά όχι σε φυσιολογικούς ιστούς παχέος εντέρου από τα ίδια άτομα. Συνολικά, το *E. coli* που εμπεριέχει ομάδες γονιδίων *pks* αποτελεί τον ισχυρότερο υποψήφιο *E. coli* το οποίο συμβάλει στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου[27].

Enterococcus faecalis

Τα στελέχη του *E. faecalis* διαφέρουν ως προς την ικανότητά τους να παράγουν δραστικές ρίζες οξυγόνου, οι οποίες δρουν επιβλαβώς στο DNA και συμβάλλουν στη δημιουργία γονιδιωματικής αστάθειας. Τα στελέχη *E. faecalis* που παράγουν εξωκυτταρικά ανιόντα υπεροξειδίου έχουν προταθεί ότι παίρνουν μέρος στην έναρξη του CRC. Πειραματικές μελέτες που χρησιμοποιούν ένα στέλεχος *E. faecalis* με από του στόματος χορήγηση, υποδηλώνουν ότι η καρκινογένεση επαγόμενη από το *E. faecalis* οφείλεται στην πρόκληση μακροφάγων του βλεννογόνου για την παραγωγή και διάχυση κλαστογόνων (χρωμοσωμικοί παράγοντες θραύσης) όπως το hydroxynonenal, ή 4-hydroxy-2-nonenal (το C₉H₁₆O₂), μία α,β-πολυακόρεστη αλδεΐδη και παράγεται μέσω του μηχανισμού υπεροξειδωσίας των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, και μεσολαβεί στη βλάβη του DNA. Η πιθανή ογκογονικότητα ορισμένων στελεχών *E. faecalis* υποστηρίζεται περαιτέρω από παρατηρήσεις ότι το *E. faecalis* που παράγει υπεροξείδιο προκαλεί έντονη περιφερική κολίτιδα, βλάβη στο DNA και καρκίνο σε ποντίκια H10 - / - ελεύθερα μικροοργανισμών, ενώ η έλλειψη υπεροξειδίου του *E. faecalis* προκαλεί φλεγμονή αλλά όχι σχηματισμό όγκου[27].

2.2.Υποθέσεις βακτηριακής ογκογένεσης στο παχύ έντερο .

Η πολυκετιδική συνθετάση του *Escherichia coli* (*pks*+ *E.coli*) και το *Enterococcus faecalis* πιθανολογείται ότι επάγουν την ογκογένεση μέσω παραγωγής ουσιών ικανών να προκαλέσουν μεταλλάξεις στο DNA, όπως είναι η γονοτοξίνη colibactin και το υπεροξείδιο του υδρογόνου αντίστοιχα για τα δυο βακτήρια. Παρότι το *E.coli* και το *Enterococcus faecalis* έχουν μελετηθεί εκτενώς σε ζωικά πρότυπα και παρ' ότι το καθένα ξεχωριστά έχει συσχετισθεί με καρκίνο παχέος εντέρου στον άνθρωπο, ωστόσο δεν έχει επιβεβαιωθεί σε καμία ακόμα από τις υπάρχουσες μελέτες ότι το καθένα ξεχωριστά έχει ογκογόνο δυναμικό, το οποίο ευθύνεται για την ανάπτυξη και εξέλιξη της νεοπλασματικής διαδικασίας [23].

Πέρα από την έρευνα μεμονωμένων παθογόνων ειδών και τη συσχέτιση τους με καρκίνο παχέος εντέρου, όλο και περισσότερες μελέτες εστιάζουν στη διερεύνηση ολόκληρων των κοινοτήτων μικροοργανισμών, υπόθεση η οποία είναι αδιαμφισβήτητα πολλά υποσχόμενη[23].

Υπάρχει σημαντική διακύμανση και διαφορετικότητα ως προς τη βακτηριακή σύσταση των εντερικών μικροβιόκοσμων μεταξύ των νοσούντων, πράγμα που επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι δεν υπάρχει συγκεκριμένο βακτηριακό είδος το οποίο να έχει αναφερθεί καθολικά σε όλους τους ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου, παρά το εξαιρετικό ενδιαφέρον για τον προσδιορισμό ογκο-μικροβιώματος[23, 27].

Η πρώτη συσχέτιση του εντερικού μικροβιοκόσμου με καρκίνο παχέος εντέρου αναφέρθηκε το 1975 όταν παρατηρήθηκε αύξηση των περιπτώσεων εμφάνισης αδενωμάτων στο παχύ έντερο σε ζωικά πρότυπα αρουραίων ελεύθερων βακτηρίων σε σύγκριση με τους συμβατικούς αρουραίους. Θεωρείται πλέον ως κοινά αποδεκτό το γεγονός ότι οι ασθενείς με CRC έχουν διαφορετική σύσταση εντερικού μικροβιοκόσμου σε σύγκριση με υγιή άτομα.

Ποικιλία υποθέσεων έχουν προταθεί για να εξηγήσουν το ρόλο της ισορροπίας του εντερικού μικροβιοκόσμου στην καρκινογένεση. Υπάρχουν δύο μοντέλα για να εξηγήσουν τη συμβολή του εντερικού μικροβιοκόσμου στην παθογένεση του καρκίνου παχέος εντέρου. Στο πρώτο μοντέλο, τα βακτήρια του εντέρου δρουν ως «οδηγοί» με προ-καρκινογόνα χαρακτηριστικά που μπορεί να προκαλέσουν ανάπτυξη καρκίνου παχέος εντέρου προκαλώντας βλάβη στο επιθηλιακό DNA και τα οποία στη συνέχεια θα μπορούσαν να αντικατασταθούν από τα βακτήρια «επιβάτες» τα οποία έχουν την ικανότητα να ευνοούν ή να εμποδίζουν την καρκινογένεση, δίνοντας έτσι αυξητικό πλεονέκτημα στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Εν αντιθέσει με το πρώτο μοντέλο, κάποιοι ερευνητές προτείνουν ότι παθογόνοι-δυσβιωτικοί τύποι μικροοργανισμών είναι υπεύθυνοι για τη λειτουργική ανισορροπία, η οποία με τη σειρά της πυροδοτεί παρατεταμένες προ-φλεγμονώδεις αποκρίσεις και αλλαγή στον κυτταρικό επιθηλιακό σχηματισμό, οδηγώντας σε ανάπτυξη καρκινογένεσης[36-38].

Το δεύτερο μοντέλο λαμβάνει υπόψη το γενετικό υπόβαθρο του ξενιστή, που επιτρέπει την εντερική δυσβίωση, προκαλώντας προφλεγμονώδεις αποκρίσεις και επιθηλιακό κυτταρικό μετασχηματισμό για να οδηγήσει τελικά σε καρκίνο. Αρκετές μελέτες σε ασθενείς με

καρκίνο παχέος εντέρου, όπως επίσης και σε ζωικά πρότυπα συνέδεσαν την εντερική δυσβίωση στον όγκο και στο γειτονικό βλεννογόνο με καρκίνο. Η δυσβίωση του εντερικού μικροβιοκόσμου περιλαμβάνει την επέκταση και την εξάντληση ορισμένων ειδών. Συγκεκριμένοι ιοί εντοπίστηκαν επίσης σε δείγματα κοπράνων από ασθενείς με CRC σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Ορισμένοι ιικοί δείκτες συσχετίστηκαν με μειωμένη επιβίωση σε ασθενείς CRC. Επιπλέον, το *Fusobacterium nucleatum*, ένα gram αρνητικό αναερόβιο, είναι το πιο διαδεδομένο βακτήριο του εντέρου σε ασθενείς με CRC και το οποίο επιβεβαιώνεται σε διάφορες μελέτες[39].

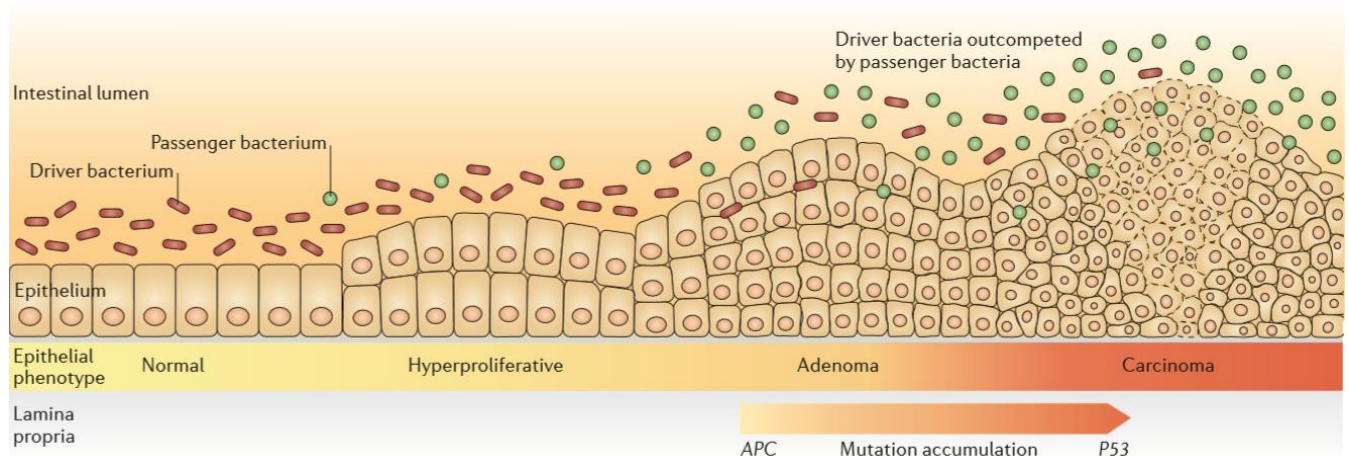
Χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής σε ποντίκια με ξενομόσχευμα CRC προκάλεσε όχι μόνο μείωση του πληθυσμού του *Fusobacterium*, αλλά και μείωση του κυτταρικού καρκινικού πολλαπλασιασμού και της συνολικής ανάπτυξης του όγκου. Το *Fusobacterium nucleatum* έχει προταθεί ως προγνωστικός βιοδείκτης στην ανάπτυξη CRC, καθώς τα υψηλά επίπεδα του στους καρκινικούς ιστούς συσχετίζονται με σημαντικά μικρότερη επιβίωση. Αναφέρονται παραλλαγές στη μεθοδολογία των μελετών για τον εντερικό μικροβιόκοσμο σε CRC, και κυρίως αναφορικά με τη φύση της δειγματοληψίας (κόπρανα έναντι βλεννογόνου ιστού) ή διαφορές στο στάδιο ή την εντόπιση της νόσου[39].

Αναλυτικότερα, σύμφωνα με την υπόθεση «θεωρία οδηγού-επιβάτη»[25] τα βακτήρια που βρίσκονται στο μικροπεριβάλλον (γηγενή βακτήρια) που ορίζονται ως βακτήρια-οδηγοί, προκαλούν βλάβη στο DNA των επιθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα να ευνοείται η έναρξη καρκινογένεσης. Σε δεύτερο χρόνο, η εξελισσόμενη ογκογένεση μεταβάλλει το μικροπεριβάλλον της περιοχής, ευνοώντας τον πολλαπλασιασμό των ευκαιριακών παθογόνων βακτηρίων (termed bacterial passengers). Συνεπώς, αυτό το μοντέλο υποστηρίζει ότι η εξέλιξη της νόσου προκαλεί αλλαγές στο μικροπεριβάλλον ως αποτέλεσμα του αναπτυσσόμενου όγκου, και τα υπάρχοντα βακτήρια αντικαθίστανται από άλλα τα οποία δημιουργούν ευνοϊκότερες συνθήκες, ικανές να επηρεάσουν θετικά την ογκογενετική διαδικασία. Οι βακτηριακοί οδηγοί φαίνεται να εξαφανίζονται από τον καρκινικό ιστό καθώς ανταγωνίζονται από τα βακτήρια επιβάτες, προσδίδοντας έτσι ακόμα μεγαλύτερο αναπτυξιακό πλεονέκτημα στο μικροπεριβάλλον του όγκου.

Η υπόθεση αυτή προτείνει, ουσιαστικά, ότι τα βακτήρια-οδηγοί και τα βακτήρια-επιβάτες έχουν διαφορετική χρονική συσχέτιση με την καρκινογένεση παχέος εντέρου και ως εκ τούτου φέρονται να έχουν διαφορετικό ρόλο στη διαδικασία της παθογένεσης[3, 25].

Αναλυτικότερα, το μοντέλο βακτηρίου οδηγού-επιβάτη για την πρόκληση καρκίνου του παχέος εντέρου περιγράφεται ως κάτωθι:

Ο εντερικός βλεννογόνος των ασθενών που διατρέχουν κίνδυνο ορθοκολικού καρκίνου (CRC) είναι εγγενώς αποικισμένος από παθογόνα μέλη του γένους *Bacteroides* (όπως το εντεροτοξικό *Bacteroides fragilis* (ETBF)) ή της οικογένειας *Enterobacteriaceae* ή από άλλα βακτήρια που μπορούν να λειτουργήσουν ως «οδηγοί» στον καρκίνο παχέος εντέρου. Αυτοί οι οδηγοί προκαλούν φλεγμονή, αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και / ή παραγωγή γονοτοξικών ουσιών που συμβάλλουν στη συσσώρευση μεταλλάξεων στη διαδικασία εξέλιξης του αδενώματος- καρκινώματος. Η αλληλουχία μεταλλάξεων αρχίζει στο γονίδιο APC, προκαλώντας την αλλαγή του φυσιολογικού ιστού σε αδένωμα και ολοκληρώνεται με μεταλλάξεις στο P53 για να οδηγήσει σε καρκίνωμα. Η ογκογόνος διαδικασία συνοδεύεται από ρήξη και αιμορραγία του καρκινικού ιστού, γεγονός που μεταβάλλει το μικροπεριβάλλον όπως και την επιλεκτική πίεση. Αυτές οι αλλαγές διευκολύνουν τη σταδιακή αντικατάσταση των "βακτηρίων-οδηγών" από «επιβάτες», που συνίστανται σε ευκαιριακά παθογόνα (*Fusobacterium* ή *Streptococcus* spp.), συμβιωτικά ή προβιοτικά βακτήρια (π.χ. μέλη της οικογένειας *Coriobacteriaceae*) ή άλλα βακτήρια με ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στην εξειδίκευση του όγκου. Η πρόοδος του όγκου μπορεί είτε να κατασταλεί (από τα προβιοτικά βακτήρια-επιβάτες) είτε να προωθηθεί (από επιβλαβή βακτήρια-επιβάτες) ως αποτέλεσμα της αλλαγής της σύστασης του αποικισμού μικροοργανισμών[25].



Εικόνα 8: Το μοντέλο οδηγού-επιβάτη για την ανάπτυξη καρκινογένεσης στο παχύ έντερο. [25]

2.3. Εντερικά βιοφίλμ στον καρκίνο παχέος εντέρου.

Τα βακτηριακά βιοφίλμ είναι σύνθετα οικοσυστήματα που αποτελούνται από πολυποίκιλια συσσωματώματα διαφόρων βακτηρίων ενσωματωμένα σε μια εξωκυτταρική πολυμερή μήτρα, αποτελούμενη κυρίως από πολυσακχαρίτες καθώς και από πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα και λιπίδια.

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, τα εντερικά βιοφίλμ ορίστηκαν ως εισβολείς της βακτηριακής κοινότητας στην εσωτερική βλεννογονική στιβάδα, η οποία εκτείνεται τουλάχιστον σε απόσταση 200 μm κατά μήκος της επιθηλιακής επιφάνειας του παχέος εντέρου. Η συσχέτιση των εντερικών βιοφίλμ με τον καρκίνο παχέος εντέρου στον άνθρωπο αναφέρθηκε το 2014, όταν ανακαλύφθηκε ότι τα εντερικά βιοφίλμ αποτελούσαν ένα σχεδόν καθολικό χαρακτηριστικό του καρκίνου στο δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου.

Είναι ενδιαφέρον ότι οι καρκίνοι στο ορθό δεν ήταν μοναδικά ευαίσθητοι στο σχηματισμό βιοφίλμ, καθώς περίπου το 17% (6/35) των καρκίνων του αριστερού παχέος εντέρου εμφάνιζαν παρόμοια βιοφίλμ. Ακόμη πιο περίεργο είναι ότι 13% (15/120) των βιοψιών κολονοσκόπησης που συλλέχθηκαν από υγιείς εθελοντές εμπεριείχαν επίσης βιοφίλμ, αν και οι βακτηριακές συνθέσεις αυτών των βιοφίλμ ήταν τυπικά λιγότερο πυκνές και λεπτότερες από τις τεράστιες δομές τους σε όγκους ασθενών με καρκίνο παχέος εντέρου. Τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα κάτω από τα βιοφίλμ στους αντίστοιχους φυσιολογικούς ιστούς ασθενών με CRC ή σε φυσιολογικές εντερικές βιοψίες υγιών ατόμων εμφάνισαν αλλοίωση επιθηλίου η οποία συμπίπτει με μια προ-ογκογόνο κατάσταση. Αυτές οι αλλοιώσεις καταδείκνυαν μειωμένη ή ανακαταταξιωμένη E-καδερίνη, αυξημένη παραγωγή IL-6, ενεργοποιημένη Stat3 καθώς και αυξημένο επιθηλιακό πολλαπλασιασμό[23].

Όλα τα εντερικά βιοφίλμ τα οποία σχετίζονται με καρκίνο παχέος εντέρου αποτελούνται από ποικίλους μικροοργανισμούς. Έτσι, φαίνεται ότι η βακτηριακή οργάνωση και λειτουργία των βιοφίλμ στους ογκολογικούς ασθενείς, όσον αφορά το είδος και / ή τα στελέχη, θα παρέχει νέες πληροφορίες για τους μηχανισμούς ανάπτυξης εντερικής ογκογένεσης [23].

Σύμφωνα με τον Raskov et al. τα εντερικά βακτηριακά βιοφίλμ τροποποιούν τη φυσιολογική σύσταση του βλεννογόνου μέσω μεταβολομικής αλλαγής προκαλούμενης από την αυξητική ρύθμιση (upregulation) του μεταβολισμού της πολυαμίνης. Οι πολυαμίνες υπό φυσιολογικές συνθήκες φαίνεται να έχουν καλή συμβίωση με τους

γειτονικούς ιστούς. Ο σχηματισμός των βιοφίλμ, ακόμα και σε φυσιολογικούς εντερικούς ιστούς, έχει συσχετισθεί με αυξημένο εντερικό κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η συσχέτιση της αλληλεπίδρασης των μεταβολιτών βακτηριακής πολυαμίνης και ξενιστή με τον σχηματισμό εντερικών βιοφίλμ και τον αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, δημιουργώντας προ-ογκογόνες συνθήκες, έχει αποτελέσει αντικείμενο πολυάριθμων ερευνών. Ομοίως, φαίνεται ότι η έκφραση του γονιδίου ODC (αποκαρβοξυλάσης της οριθίνης), του γονιδίου SAAT (spermidine/spermine N1-acetyltransferase) επηρεάζονται από τον εντερικό μικροβίοκοσμο σε ασθενείς με καρκίνο.

Η αυξημένη παραγωγή μεταβολιτών της πολυαμίνης, που προκύπτει από τα εντερικά βιοφίλμ, σχετίζεται με αύξηση των πληθυσμιακών ομάδων *Clostridia* συμπεριλαμβανομένων των *Sporobacter*, *Peptostreptococcaceae* και *Ceilonellaceae*, αλλά και με μείωση των πληθυσμιακών ομάδων *Bacteroidales*[40]. Σε θεωρητικό επίπεδο, η αποικοδόμηση της βλέννης από παθογόνα έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό βιοφίλμ επί της επιθηλιακής επιφάνειας, την εισβολή δυνητικών βακτηρίων-οδηγών στα τμήματα των κρυπτών, τις ανεπιθύμητες ανοσολογικές αντιδράσεις, τον επιταχυνόμενο πολλαπλασιασμό και τον αυξημένο κίνδυνο επιβλαβών μεταλλάξεων. Έτσι, η εισβολή βιοφίλμ βαθιά στις εντερικές κρύπτες αναμένεται να επιταχύνει την καρκινογένεση. Επίσης, τα βακτήρια όπως το ETBF και το *Fusobacterium nucleatum* μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα συμβατικής χημειοθεραπείας και των αναστολέων σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού. Τα βιοφίλμ στο δεξί τμήμα του εντέρου μπορούν να εξηγήσουν μερικές από τις διαφορές στην ανταπόκριση στη θεραπεία μεταξύ δεξιά και αριστερά εντοπιζόμενου καρκίνου παχέος εντέρου. [41].

Παρόλα αυτά, ούτε το καρκινογόνο δυναμικό των εντερικών βιοφίλμ στους ανθρώπους, ούτε ένας σαφής αιτιολογικός ρόλος για κάθε βακτήριο του εντέρου δεν έχει ακόμα καθοριστεί[5]. Η τρέχουσα έρευνα σε αναστολείς των εντερικών βιοφίλμ μπορεί να αποδειχθεί πολύτιμη για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων για μελλοντική πρόληψη και θεραπεία του καρκίνου παχέος εντέρου [41].

Μηχανισμοί επαγωγής βακτηριακής ογκογένεσης.

Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί βακτηριακής ογκογένεσης περιλαμβάνουν την αναστολή, μεταβολή ή επιδείνωση των φυσιολογικών αποκρίσεων ξενιστή όπως η απόπτωση, η φλεγμονή και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Εναλλακτικά, τα βακτήρια μπορούν επίσης

να προάγουν τον καρκίνο μέσω της παραγωγής δευτερογενών μεταβολιτών, όπως οι δραστικές ρίζες οξυγόνου ή να έχουν άμεσες επιδράσεις στον κυτταρικό μετασχηματισμό μέσω της παραγωγής ογκογόνων τοξινών.

Μελέτες δείχνουν ότι ο εντερικός μικροβίοκοσμος μέσα από την αλληλεπίδραση του με τον ξενιστή έχει την ικανότητα να ασκεί τόσο επιβλαβή, όσο και προστατευτικό ρόλο, σχετικά με την ανάπτυξη του καρκίνου παχέος εντέρου, ανάλογα με τη σύσταση του σε μικροοργανισμούς [42].

2.4. Χρόνια φλεγμονή και βακτηριακή ογκογένεση.

Η σχέση μεταξύ φλεγμονής και ογκογένεσης έχει περιγραφεί από το 1863, όταν ο Rudolph Virchow διατύπωσε την υπόθεση ότι ο καρκίνος αναπτύσσεται σε θέσεις χρόνιας φλεγμονής, και την ονόμασε «υπόθεση χρόνιου ερεθισμού». Σήμερα, η συσχέτιση της φλεγμονής και του καρκίνου είναι πλέον καθιερωμένη. Ωστόσο, οι μηχανισμοί και τα επαγωγικά μονοπάτια δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί. Η μόλυνση ενεργοποιεί τη φλεγμονή για να καταπολεμήσει τον παθογόνο εισβολέα. Τα πολυμορφοπύρρηνα φαγοκύτταρα τυπικά είναι συνήθως τα πρώτα κύτταρα που μεταβαίνουν στο σημείο της μόλυνσης και χρησιμεύουν ως ισχυροί παραγωγοί προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών που ενισχύουν την ανταπόκριση με την προσέλευση περισσότερων ανοσοκυττάρων. Τα κύτταρα αυτά παράγουν αυξημένα ποσά δραστικών ριζών οξυγόνου που μπορούν να βλάψουν τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA, οδηγώντας σε αυξημένες μεταλλάξεις στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα και τελικά σε μεταβολές στον κυτταρικό θάνατο. Παρότι αρχικά η βακτηριακή μόλυνση θεωρείτο οξεία κατάσταση, πλέον είναι σαφές ότι πολλά γνωστά βακτήρια είναι ικανά να αλληλεπιδρούν μακροχρόνια με τον ξενιστή, οδηγώντας σε χρόνιες λοιμώξεις που συνοδεύονται από φλεγμονή.

Φλεγμονώδεις μεσολαβητές επαγόμενοι από τη δράση της βακτηριακής κοινότητας αποτελούν ο TNF-α (tumor necrosis factor-α), η IL-1 (ιντερλευκίνη-1) ή ακόμα και οι λιποπολυσακχαρίτες αυτοί καθ' αυτοί μπορούν να οδηγήσουν στην επαγωγή της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων NF-κΒ, οι οποίοι αποδεδειγμένως λαμβάνουν μέρος στη διαδικασία της καρκινογένεσης λόγω της επαγόμενης από αυτούς φλεγμονής. Αναλυτικά, σε ένα μη διεγερμένο κύτταρο, η οικογένεια των παραγόντων μεταγραφής NF-κΒ δεσμεύονται στην οικογένεια μορίων αναστολής της IκΒ, πράγμα που αποτρέπει την μετατόπιση στον πυρήνα. Η ενεργοποίηση αυτής της οδού σηματοδότησης οδηγεί στη διέγερση του συμπλέγματος IKK, το οποίο φωσφορυλιώνει τις ανασταλτικές πρωτεΐνες

IκB, οδηγώντας αυτές σε αποικοδόμηση εξαρτώμενη από την ουβικιτίνη (ubiquitin). Στη συνέχεια απελευθερώνονται οι πρωτεΐνες NF-κB, επιτρέποντας τη μετατόπιση στον πυρήνα, με αποτέλεσμα να διευκολύνουν τη μεταγραφή των γονιδίων στόχων. Μερικά από τα γονίδια που στοχεύουν οι πρωτεΐνες, κωδικοποιούν τις φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, συμπεριλαμβανομένων των IL-1β, IL-6 και VEGF, γεγονός που οδηγεί σε θετική ανατροφοδότηση της φλεγμονώδους διαδικασίας. Επιπλέον, αντιαποπτωτικά γονίδια, όπως αυτά της οικογένειας Bcl2, υφίστανται αυξητική ρύθμιση από την NF-κB, εμποδίζοντας τον κυτταρικό κύκλο. Περαιτέρω, η έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου μεταβάλλεται (π.χ., οι κυκλίνες υφίστανται αυξητική ρύθμιση και οι αναστολείς του κυτταρικού κύκλου υφίστανται μειούμενη ρύθμιση).

Το NF-κB διαδραματίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη όγκου επαγόμενου από χρόνιες φλεγμονώδεις διεργασίες, εφόσον δημιουργεί ένα περιβάλλον ευνοϊκό για μεταλλάξεις και ταυτόχρονα αποτρέπει τα κατεστραμμένα κύτταρα να ακολουθήσουν τη φυσιολογική αποπτωτική διαδικασία, δύο βασικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων.

Οι δραστικές ρίζες οξυγόνου και αζώτου παράγονται επίσης από τα φλεγμονώδη επιθηλιακά κύτταρα σε καταστάσεις στρες που προκύπτει από την έκθεση των κυττάρων σε βακτηριακές τοξίνες ή σε χρόνια βακτηριακή λοίμωξη. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έναρξη και εξέλιξη της καρκινογένεσης εφόσον επιδρούν άμεσα, προκαλώντας αλλοίωση στο DNA, οδηγώντας σε μεταλλάξεις, διαγραφές, χρωμοσωμική αστάθεια και τελικά σε καρκινογένεση. Επιπλέον, οι δραστικές μορφές οξυγόνου ευνοούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αναστέλλουν την απόπτωση μέσω ενεργοποίησης των παραγόντων μεταγραφής MAPK, AP-1 και NP-κB. Η ασυμπτωματική χρόνια βακτηριακή λοίμωξη στο παχύ έντερο, όπου διεισδύει η βακτηριακή κοινότητα στην εσωτερική στιβάδα βλέννης, προτείνεται ως ικανή να επάγει χρόνια φλεγμονή, καταλήγοντας σε έναν καταρράκτη γεγονότων που δημιουργούν ένα προκαρκινογόνο μικροπεριβάλλον[42].

2.5.Ογκογόνοι βακτηριακοί μεταβολίτες και τοξίνες.

Εκτός από την έμμεση βακτηριακή λοίμωξη, υπάρχουν επίσης άμεσοι βακτηριακοί μηχανισμοί ογκογένεσης. Μέσω των μεταβολικά σύνθετων διεργασιών τους, τα βακτήρια παράγουν αντιδρώντα είδη, όπως τα παράγωγα του μοριακού οξυγόνου, συμπεριλαμβανομένων των υπεροξειδίων, υπεροξειδίου του υδρογόνου και ριζών

υδροξυλίου. Αυτές οι ελεύθερες ρίζες συμβάλλουν στη γονιδιακή αστάθεια από τους μηχανισμούς που συζητήθηκαν παραπάνω. Εναλλακτικά, έχουν εντοπιστεί αρκετές βακτηριακές τοξίνες που προβλέπεται να είναι καρκινογόνες. Αυτές οι τοξίνες έχουν την ικανότητα να τροποποιούν τη φυσιολογία του ξενιστή, οδηγώντας είτε σε άμεση καταστροφή του DNA, αύξηση κυτταρικού πολλαπλασιασμού και / ή διακοπή κυτταρικής διαφοροποίησης και απόπτωσης. Ένα καλά μελετημένο παράδειγμα είναι το CagA του *Helicobacter pylori*, το οποίο θεωρείται ότι είναι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου που συνδέει τη μόλυνση από *H. pylori* με την ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου. Η CagA δεσμεύει την κυτταρική φωσφατάση της τυροσίνης, SHP2, οδηγώντας σε αναδιαμόρφωση της κυτταρικής δομής. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι στοχεύει σε πολλαπλές πρωτεΐνες του ξενιστή που ρυθμίζουν τη φλεγμονή και αρκετές μελέτες υποδηλώνουν ότι έχει την ικανότητα να ενεργοποιεί τη σηματοδότηση των NF-κΒ και β-κατενίνης. Πρόσφατα, η CagA συσχετίστηκε άμεσα με οδό καταστολής της ογκογένεσης όταν αποδείχτηκε ότι αντιστέκεται στη δράση του καταστολέα όγκου ASPP2 και τροποποιεί τη δράση του, προάγοντας έτσι την κυτταρική επιβίωση. Τα στελέχη του *H. pylori* που εκφράζουν ενεργό VacA τοξίνη σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του στομάχου [40]. Η VacA τοξίνη έχει αποδειχθεί ότι διεγείρει τον Αγγειακό Ενδοθηλιακό Αυξητικό Παράγοντα (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, αναστέλλει την φυσιολογική απόπτωση, ενώ καταστέλλει την ανοσοαπόκριση του ξενιστή ευνοώντας τον μακροχρόνιο αποικισμό επιβλαβών μικροοργανισμών και αυξάνοντας τον κίνδυνο μετασχηματισμού. Η τοξίνη από το βακτήριο *Pasteurella multocida* είναι γνωστό ότι δρα ως ένα πολύ ισχυρό μιτογόνο και αναστολέας της απόπτωσης. Η τοξίνη του *P. multocida* είναι μια τοξίνη AB η οποία ενεργοποιεί τις πρωτεΐνες G μέσω της λειτουργίας της διαμιδάσης, επηρεάζοντας τις καθοδικές οδούς σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένης της κυτταροπλασματικής MAPK και της JAK-STAT. Ένα άλλο παράδειγμα βακτηριακής τοξίνης είναι το CDT. Αυτή η γονοτοξίνη παράγεται από διάφορα βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων επιλεγμένων στελεχών των *Escherichia coli*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Helicobacter hepaticus* και *Helicobacter cinaedi*, καθώς και άλλα εντερο-ηπατικά στελέχη του *Helicobacter* spp. Το CDT αποτελείται από τρεις υπομονάδες, εκ των οποίων το ένα, CdtB, λειτουργεί όμοια με τη DNάση των θηλαστικών με άμεση βλάβη στο DNA του ξενιστή. Μια άλλη οικογένεια γονοτοξινών στον CRC μπορεί να βρεθεί στο γονοτοξικό νησίδιο της *E. coli* PKS. Σε αυτή την περιοχή του DNA κωδικοποιείται η κολιβακτίνη, η οποία είναι ικανή να προκαλέσει

απευθείας διάλυση της DNA διπλής έλικας τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Επιπλέον, η εξάλειψη του γονοτοξικού νησιδίου PKS από ένα στέλεχος *E. coli* φαίνεται να μειώνει το ογκογόνο δυναμικό του. Άλλες πιθανές ογκογενείς τοξίνες είναι: CNF-1 και CIF σε *E. coli* και η BFT. Από αυτή την ομάδα, οι τοξίνες που παράγονται από το *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ή *Bacteroides fragilis* έχουν ισχυρή παθογόνο δράση και συνεισφέρουν στην εντερική ογκογένεση. Ένα σταθερό χαρακτηριστικό αυτών των βακτηριακών καρκινογόνων μηχανισμών είναι ότι, είτε με άμεσες είτε έμμεσες μεθόδους, παρεμβαίνουν στις βασικές ευκαρυωτικές διεργασίες[42].

Πίνακας 2: Ογκογόνες βακτηριακές τοξίνες και η σχέση τους με τον καρκίνο παχέος εντέρου σε ανθρώπους[42]

Τοξίνη	Βακτηριακό είδος	Πιθανός ογκογενετικός μηχανισμός	Μελέτες σε CRC σε ανθρώπους	Πηγές
PMT	<i>Pasteurella multocida</i>	Ενεργοποιεί τις Rho GTPases, επηρεάζοντας την κυτταρική σηματοδότηση και τον πολλαπλασιασμό	Δεν είναι διαθέσιμα	[43-45]
CDT	<i>Escherichia coli</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Helicobacter</i> spp., <i>Shigella</i> spp., <i>Salmonella</i> spp., <i>Haemophilus</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp.	Μια υπομονάδα του CDT που ονομάζεται Cdtb (για δέσμευση υπομονάδας) δρα ως DNAάση βλάπτοντας άμεσα το DNA του ξενιστή	Δεν είναι διαθέσιμα	[46, 47]
Colibactin	<i>E. coli</i>	Προκαλεί άμεση διάσπαση των διπλών κλώνων του DNA, <i>in vivo</i> και <i>in vitro</i>	67 and 21% των ατόμων με CRC (n = 21) και του δείγματος αναφοράς (n = 24), αντίστοιχα, ήταν θετικοί στη PKS+ <i>E. coli</i>	[48-50]
MAP	<i>Citrobacter rodentium</i>	Στοχεύει στα μιτοχόνδρια του ξενιστή, προκαλεί διαταραχή του επιθηλιακού φραγμού και κυτταροσκελετική αναδιάταξη	Δεν είναι σχετικές. Το <i>Citrinobacter rodentium</i> είναι παθογόνο μόνο των ζωικών	[47]

				προτύπων ποντικών.	
CNF	<i>E. coli</i> , <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Τροποποιεί τη σηματοδότηση, αναστέλλει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου	Rho	Δεν υπάρχουν διαθέσιμα	[51]
CIF	<i>E. coli</i> , <i>Burkholderia pseudomallei</i> , <i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Photorhabdus luminescens</i> and <i>Photorhabdus asymbiotica</i>	Αναστέλλει την απόπτωση		Δεν υπάρχουν διαθέσιμα	[52]
BFT	<i>Bacteroides fragilis</i>	Διασπά την Ε-καδερίνη, οδηγεί σε πυρηνική σηματοδότηση Wnt / β-κατενίνης, οδηγώντας σε αυξημένο πολλαπλασιασμό επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου. Άμεση βλάβη στο DNA στα επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου. Προκαλεί ογκογονική φλεγμονή του βλεννογόνου Stat3 / Th17 και σηματοδότηση των κυττάρων. Επάγει την οξειδάση της σπερμίνης και την κυτταρική σηματοδότηση του NF-κΒ	E-	38 και 12% των ατόμων με CRC (n = 73) και του δείγματος αναφοράς (n = 59), αντίστοιχα ήταν θετικοί στην ανίχνευση ETBF	[31, 53-57]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΥ ΣΤΙΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

3. Αντικαρκινικές θεραπείες για τον καρκίνο παχέος εντέρου στην κλινική πράξη.

Επειδή ο καρκίνος παχέος εντέρου αποτελεί ετερογενή ασθένεια, στην σύγχρονη κλινική πράξη συνηθίζεται η πραγματοποίηση γενετικής ανάλυσης του όγκου με σκοπό την επιλογή της κατάλληλης αντικαρκινικής θεραπείας ή συνδυασμό θεραπειών. Η ανοσοθεραπεία χρησιμοποιείται σε μόνο ένα μικρό υποσύνολο ασθενών των οποίων ο όγκος χαρακτηρίζεται από φαινότυπο υψηλής μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-H). Η χειρουργική εκτομή αποτελεί συνήθως θεραπεία εκλογής για τα στάδια I-III τοπικά εντοπιζόμενου ορθοκολικού καρκίνου, ενώ η χημειοθεραπεία και ειδικά η θεραπεία με φθοροουρακίλη αποτελεί συνήθως θεραπεία για τον μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου [6, 39, 58].

Οι μικροδορυφόροι είναι επαναλαμβανόμενες ακολουθίες 2-5 ζευγών βάσεων κατά μήκος του DNA και διασκορπίζονται σε όλο το γονιδίωμα. Η υψηλή μικροδορυφορική αστάθεια (MSI-H) αναφέρεται στο υψηλό ποσοστό σωματικών μεταλλάξεων που συσσωρεύονται και σχετίζονται με την απενεργοποίηση του συστήματος επιδιόρθωσης βλαβών στη μία αλυσίδα του DNA (Mismatch repair MMR), το οποίο είναι υπεύθυνο για την αναγνώριση και επιδιόρθωση βλάβης. Η απενεργοποίηση του μηχανισμού MMR (dMMR) μπορεί να προκύψει είτε από μεταλλάξεις των γονιδίων *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* και *PMS2* στη βλαστική γραμμή, όπως στο σύνδρομο Lynch (ή αλλιώς κληρονομικός καρκίνος του παχέος εντέρου (HNPCC)) ή με σποραδική υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου *MLH1*. Ασθενείς με κληρονομικό καρκίνο παχέος εντέρου ή σποραδικό MSI-H / dMMR τείνουν να έχουν την ίδια πρόγνωση. Η συχνότητα του MSI-H είναι 15-20% συνολικά σε ασθενείς με ορθοκολικό καρκίνο και 5% σε μεταστατικό ορθοκολικό καρκίνο [59]. Η αναγνώριση όγκων ως MSI-H φαίνεται πλέον να αποτελεί αξιόπιστο δείκτη πρόγνωσης για τη διαχείριση της θεραπείας καρκίνου παχέος εντέρου, ιδίως για τη θεραπεία με οξαλιπλατίνη ή ιρινοτεκάνη και πρόσφατα αποδείχθηκε εξίσου αξιόπιστος δείκτης και για την ανοσοθεραπεία [60-62].

Μέχρι στιγμής, οι επιλογές ανοσοθεραπείας οι οποίες είναι εγκεκριμένες από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) και προτείνονται για ασθενείς με

μεταστατική νόσο καρκίνου παχέος εντέρου με MSI-H είναι τρεις. Η ανοσοθεραπεία στοχεύει μόρια ανοσολογικών σημείων ελέγχου τα οποία απαιτούνται για την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως το κυτταροτοξικό αντιγόνο που σχετίζεται με T-λεμφοκύτταρα 4 (CTLA-4), η πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1) και ο προσδέτης της (PD-L1).

Το 2017, το pembrolizumab (Keytruda), ένα εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα που εμποδίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ του PD-1 και των μορίων πρόσδεσης του, εγκρίθηκε από τον FDA για τη θεραπεία του MSI-H/dMMR καρκίνου παχέος εντέρου, όπου είχε προηγηθεί συνδυασμένη θεραπεία με φθοροπυριμιδίνη, οξαλιπλατίνη και ιρινотеκάνη. Επίσης για οποιαδήποτε άλλη μη ελεγχόμενη ή μεταστατική περίπτωση MSI-H/dMMR συμπαγών όγκων που εξελίχθηκαν, παρά τις προηγούμενες θεραπείες και δεν έχουμε άλλη θεραπευτική επιλογή[39, 63].

Το Nivolumab (Opdivo) αποτελεί αναστολέα του ανοσοποιητικού σημείου PD-1, το οποίο έλαβε επιτυχώς έγκριση από τον FDA τον Αύγουστο του 2017 για χορήγηση σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου MSI-H ή προχωρημένο dMMR κατόπιν προσπάθειας με χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση της νόσου.

Η τελευταία ανοσοθεραπευτική προσέγγιση αποτελεί συνδυασμό ανοσοθεραπευτικών φαρμάκων η οποία εγκρίθηκε από το FDA τον Ιούλιο του 2018 και αναφέρεται στο συνδυασμό του Nivolumab (Opdivo) και του ipilimumab (Yervoy) σε MSI-H CRC. Το Ipilimumab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει στο σημείο ελέγχου CTLA-4 υποδοχέα, και αποδείχθηκε ότι δρα συνεργιστικά με το Nivolumab προσδίδοντας αυξημένες αντικαρκινικές ιδιότητες στα T-κύτταρα σε περιπτώσεις μελανώματος και μικροκυτταρικού καρκινώματος πνεύμονα [64, 65]. Σε κλινική δοκιμή φάσης 2 στην οποία συμμετείχαν 119 ασθενείς με MSI-H CRC, το Nivolumab συνδυαστικά με το ipilimumab παρουσίασε υψηλότερα ποσοστά απόκρισης (55%), υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης απουσία εξέλιξης της νόσου (71%) με αυξημένη λειτουργικότητα (85%) στους 12 μήνες, και σημαντική βελτίωση στη λειτουργικότητα, τη συμπτωματολογία και την ποιότητα ζωής σύμφωνα με τον ασθενή, σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με Nivolumab[66]. Η δοκιμή περιλάμβανε κυρίως ασθενείς οι οποίοι δεν παρουσίασαν σημαντική ανταπόκριση ή παρουσίασαν τοξικότητα στη θεραπεία με φθοροπυριμιδίνη και οξαλιπλατίνη ή ιρινотеκάνη, και καταλήγει στο συμπέρασμα ότι το nivolumab και το ipilimumab θα

μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως επιλογή θεραπείας πρώτης γραμμής για τους ασθενείς με MSI-H CRC.

3.1. Ανοσοθεραπεία.

Είναι πλέον ευρέως γνωστή η σημασία του εντερικού μικροβιοκόσμου στην ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία, όπως και στην τοξικότητα αυτής. Συγκεκριμένα, μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκαν αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού (Immune Checkpoint Inhibitor- ICIs) με anti-PD-1 στοχευόμενη στους επιθηλιακούς όγκους ανοσοθεραπεία έδειξε ότι παρ' ότι οι μηχανισμοί με τους οποίους επιδρά ο εντερικός μικροβιόκοσμος στην αποτελεσματικότητα των ICIs δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί, ωστόσο επιβεβαιώνεται ο κεντρικός ρόλος της απομακρυσμένης ρύθμισης των λεμφικών και μυελοειδικών κυττάρων από τον εντερικό μικροβιόκοσμο[67, 68]. Τα μονοκλωνικά αντισώματα που ανήκουν στην κατηγορία αναστολέων σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού (ICIs) στοχεύουν στην πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου PD-1 και στον προσδέτη της (PD-L1), εμφανίζοντας αποτελεσματική αντινεοπλασματική δράση σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα, μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, σε Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, σε σάρκωμα και καρκίνο παχέος εντέρου[69, 70].

Πλέον, φαίνεται πως η πρωτογενής αντίσταση στους ICIs μπορεί να οφείλεται στην εντερική δυσβίωση που προκαλείται από τη νεοπλασματική νόσο ή την ταυτόχρονη λήψη αντιβιοτικών[68, 71]. Σε ζωικά πρότυπα ελεύθερα βακτηρίων και σε αυτά που είχαν υποβληθεί σε αντιβιοτική θεραπεία πραγματοποιήθηκε μεταμόσχευση κοπράνων (FMT) από ασθενείς με καρκίνο οι οποίοι είχαν ανταποκριθεί στους αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού. Στα ζωικά αυτά πρότυπα παρατηρήθηκε βελτιωμένη αντινεοπλασματική επίδραση των anti- PD-1. Αντιθέτως, όταν πραγματοποιήθηκε μεταμόσχευση κοπράνων από μη ανταποκριθέντες στη θεραπεία ασθενείς, η αγωγή απέτυχε να έχει εξίσου καλές αντινεοπλασματικές ιδιότητες[68].

Σε δείγμα κοπράνων από νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ κλινικής ανταπόκρισης στους ICIs και της αφθονίας του γένους *Akkermansia muciniphila*. Μετά από μεταμόσχευση κοπράνων από μη ανταποκριθέντες δότες, σε κλινική μελέτη χορηγήθηκε per os συμπλήρωμα με *A. muciniphila*, το οποίο αποκατέστησε την

αποτελεσματικότητα του PD-1-blockade με τρόπο εξαρτώμενο από την IL-12, αυξάνοντας την πρόσληψη λεμφοκυττάρων CCR9 + CXCR3 + CD4 + στα στρώματα του όγκου[68].

Σε μια άλλη μελέτη, στα ποντίκια ελεύθερα βακτηρίων και στα ποντίκια που έχουν υποβληθεί σε αγωγή με αντιβιοτικά παρατηρήθηκε απουσία απόκρισης στον κυτταροτοξικό T-λεμφοκυτταρικό αντιγόνο-4 (CTLA-4) αντισωματικό αναστολέα, σε σύγκριση με τα ζωικά πρότυπα με φυσιολογικό εντερικό μικροβιόκοσμο. Τα *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides fragilis* και *Burkholderia cepacia* απομονώθηκαν και συσχετίστηκαν με αποτελεσματική απόκριση στο anti-CTLA-4 και με λιγότερες παρενέργειες της θεραπείας. Η αποκατάσταση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας μετά την από του στόματος χορήγηση σε ποντίκια *Bacteroides spp*[70, 72], εξηγήθηκε από την αύξηση των ώριμων ενδοθηλιακών δενδριτικών κυττάρων με την αύξηση της απόκρισης Th1 σε διηθούντες λεμφαδένες. Πλέον είναι ευρέως γνωστό ότι η τοξικότητα της θεραπείας anti-CTLA-4 επηρεάζεται από την βακτηριακή σύνθεση του εντέρου.

Αρκετές μελέτες εξέτασαν κατά πόσο επηρεάζεται η ανταπόκριση των anti-PDL-1 από τη σύνθεση του εντερικού μικροβιοσκόσμου. Στις εν λόγω μελέτες το *Bifidobacterium spp.* συνδέθηκε με αποτελεσματική ανταπόκριση στον anti-PDL-1[69]. Η χορήγηση *Bifidobacterium spp.* σε ποντίκια αποκατέστησε την αποτελεσματικότητα της θεραπευτικής αγωγής μέσω αύξησης της IFN- γ που προάγει την παραγωγή CD8⁺ T-κυττάρων στον όγκο [67, 68, 73, 74]. Επιπλέον, η σύνθεση του εντερικού μικροβιοκόσμου θα μπορούσε να προβλέψει την ανταπόκριση ή όχι στη θεραπεία επιθηλιακών όγκων με PD-1 / PD-L1. Για παράδειγμα, μελέτη που πραγματοποίησαν οι Gopalakrishnan et al. έδειξε ότι υπάρχουν αυξημένες συγκεντρώσεις στο έντερο από είδη του γένους *Faecalibacterium* σε ασθενείς που ανταποκρίνονταν στην anti- PD-L1 ανοσοθεραπεία, ενώ τα *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Escherichia coli* και *Anaerotruncus colihominis* ανιχνεύονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις σε μη ανταποκρινόμενους στη θεραπεία ασθενείς [67]. Η αποτελεσματική απόκριση στη θεραπεία σε ποντίκια ελεύθερα βακτηρίων φαίνεται να συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα δενδριτικών κυττάρων (DC), IFN- γ + CD8 + και / ή CD4 + αντικαρκινικών T-κυττάρων και χαμηλότερα επίπεδα ενδομυϊκών CD4 + FoxP3 + Tregs [67, 68, 73, 74]. Επιπλέον στα πλαίσια επαλήθευσης της σημασίας της σύστασης του εντερικού μικροβιοκόσμου στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ICIs σε ασθενείς με μελάνωμα, πρόσφατη μελέτη κατέδειξε ότι η χρήση αντιβιοτικών κατά τη

διάρκεια των πρώτων 30 ημερών της θεραπείας με ICIs συσχετίστηκε με βραχύτερη επιβίωση ελεύθερης νόσου, σε σχέση με ασθενείς που δεν έλαβαν αντιβιοτική αγωγή[71].

Σε άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ζωικά πρότυπα ποντικών και στην οποία υποστηρίζεται ότι ο εντερικός μικροβιόκοσμος ρυθμίζει την απόκριση στην ανοσοθεραπεία με anti PD-1 σε ασθενείς με μελάνωμα, προτείνεται ότι οι ασθενείς με «ευνοϊκή» σύσταση εντερικού μικροβιοκόσμου (π.χ. υψηλή ποικιλότητα και αφθονία σε *Ruminococcaceae* / *Faecalibacterium*) έχουν ενισχυμένες συστηματικές και αντικαρκινικές ανοσολογικές αποκρίσεις που προκαλούνται από αυξημένη αντιγονοπαρουσίαση και βελτιωμένη λειτουργία T-κυττάρων στο περιβάλλον περιφερικά όσο και εντοπισμένα στο σημείο του όγκου. Αντίθετα, οι ασθενείς με εντερική δυσβίωση (π.χ., χαμηλή ποικιλότητα μικροοργανισμών και αυξημένα ποσά *Bacteroidales*) έχουν εξασθενημένες συστηματικές και αντινεοπλασματικές ανοσολογικές αποκρίσεις που προκαλούνται από περιορισμένη ενδομυϊκή λεμφοειδή και μυελοειδή διείσδυση και εξασθενημένη ικανότητα αντιγονοπαρουσίασης [67]. Η πολυπλοκότητα της αλληλεπίδρασης βακτηρίων με την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή στην αντινεοπλασματική αγωγή παρουσιάζεται και στη μελέτη του Pulo et al. Ο ερευνητής παρατήρησε ραγδαία αύξηση της αποτελεσματικότητας της επίκτητης ανοσίας με CD8⁺ T-κύτταρα μετά από ακτινοβολήση ζωικών πρότυπων με μελάνωμα, έπειτα από μετατόπιση εντερικών βακτηρίων στους μεσεντέριους λεμφαδένες [75]. Η απελευθέρωση των βακτηριακών λιποπολυσακχαριτών (LPS) που προκλήθηκε από την ακτινοβολήση ενεργοποίησε την έμφυτη ανοσοαπόκριση, με διέγερση της οδού TLR4 και έπειτα ενίσχυσε τα αντικαρκινικά CD8⁺ T-κύτταρα. Αντιθέτως, η αντιβιοτική θεραπεία και η εξουδετέρωση των πολυσακχαριτών (με πολυμυξίνη B) συσχετίστηκε με μειωμένη αντικαρκινική ανταπόκριση. Η συσχέτιση του εντερικού μικροβιόκοσμου στη μεταφορά των αντι-καρκινικών T-κυττάρων πρόσφατα επιβεβαιώθηκε και στο B-λέμφωμα, στον καρκίνο τραχήλου και πνεύμονα, με μελέτες που έγιναν σε ποντίκια.

Διαφορετική μελέτη σε ζωικά πρότυπα με μελάνωμα κατέδειξε ότι η αντιβιοτική αγωγή μειώνει την αποτελεσματικότητα της ανοσοθεραπείας με ολιγοδεοξυνουκλεοτίδια (ODN) αντι-IL-10 / CpG [76]. Η μειωμένη απόκριση οφείλεται στη μείωση του φορτίου μικροοργανισμών στο έντερο, οδηγώντας στη μείωση των μονοκυττάρων που παράγουν προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες στον όγκο[76].

Η στρατηγική στόχευσης του εντερικού μικροβιοκόσμου στις αντικαρκινικές θεραπείες με σκοπό την ενίσχυση της αποτελεσματικότητάς τους, αποτελεί πολλά υποσχόμενη προσέγγιση [71, 77]. Η αντικαρκινική αυτή προσέγγιση δεν έχει ακόμα εδραιωθεί διότι οι σχετικές έρευνες περιορίζονται σε προκλινικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε ποντίκια τα οποία φέρουν έκτοπους όγκους και έχουν ήδη υποβληθεί σε διαδικασίες ανοσολογικής επεξεργασίας πριν από τη μεταφορά τους στον νέο ξενιστή. Αυτά τα μοντέλα δεν αντικατοπτρίζουν επαρκώς τις συνεχώς μεταβαλλόμενες αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο ανοσολογικό σύστημα και τον όγκο κατά τη διάρκεια εξάλειψης του καρκίνου, στα στάδια ισορροπίας και διαφυγής. Για μια βαθύτερη κατανόηση των υποκείμενων μοριακών μηχανισμών, πιθανώς θα χρειαστούν εξανθρωπισμένα ζωικά μοντέλα ή μοντέλα αυθόρμητης ογκογένεσης [71].

3.2. Ακτινοθεραπεία.

Σήμερα, δεν υπάρχει αμφιβολία πως η ιονίζουσα ακτινοβολία προκαλεί βλάβη στο DNA μέσω της μεταφοράς ενέργειας και της επακόλουθης παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) κι αζώτου (RNS)[78, 79]. Παράλληλα, η ανοσοθεραπεία ευνοεί τις τοπικές ανοσογόνες επιδράσεις, όπως είναι ο θάνατος ανοσολογικών κυττάρων κατά του όγκου, ενεργοποιώντας τη τοπική και συστηματική φλεγμονώδη διαδικασία με σκοπό την ανοσορύθμιση. Η ακτινοθεραπεία, ουσιαστικά, διεγείρει τη φυσική ανοσία. Ο Barker et al, υπογράμμισε την ενεργοποίηση απελευθέρωσης κυτταροκινών έκφρασης όπως η IL-1 και TNF-α και τη "στρατολόγηση" ανοσοκυττάρων μετά τις συνεδρίες ακτινοθεραπείας. Ωστόσο, η ανταπόκριση των ασθενών στην εν λόγω θεραπεία φαίνεται να χαρακτηρίζεται ως ετερογενής, με σημαντική μεταβλητότητα. Η μεγάλη αυτή ετερογένεια θα μπορούσε να οφείλεται σε κάποιο βαθμό στην ετερογένεια του εντερικού μικροβιοκόσμου των ασθενών[78]. Μελέτη που διεξήγαγε ο Cui et al. διερεύνησε την επίδραση του κιρκάδιου ρυθμού στη δράση της ολόσωμης ακτινοθεραπείας ζωικών προτύπων, λαμβάνοντας υπόψιν τη σύνθεση του εντερικού μικροβιοκόσμου[80]. Διαπίστωσαν ότι τα ποντίκια με φυσιολογικούς κύκλους 12 ωρών σκότους/ 12 ωρών φωτός είχαν σημαντικά μεγαλύτερη επιβίωση σε σχέση με εκείνα με διαφορετικούς κύκλους (8 ωρών σκότους / 16 ωρών φωτός ή 16 ωρών φωτός / 8 ωρών σκότους). Αυτό συσχετίστηκε με μεταβολές των βακτηριακών εντερικών κοινοτήτων, πράγμα που θα μπορούσε να αποτελεί μέρος των μηχανισμών αντίστασης στην ακτινοθεραπεία. Περιγράφεται επίσης, στην ίδια μελέτη, η συσχέτιση μεταξύ εντερικών βακτηριακών κοινοτήτων και της ευαισθησίας στη τοξικότητα της

ακτινοθεραπείας ποντικών. Ζωικά πρότυπα τα οποία υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση κοπράνων (FMT) παρουσίασαν αυξημένο ρυθμό επιβίωσης, μεγαλύτερο αριθμό περιφερικών λευκών αιμοσφαιρίων και βελτιωμένη λειτουργία γαστρεντερικού σωλήνα και εντερικής επιθηλιακής ακεραιότητας. Παρά την αυξημένη αγγειογένεση, η FMT δεν επιτάχυνε τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων *in vivo*, γεγονός που μπορεί να εξεταστεί ως θεραπευτική προσέγγιση για τη μείωση της ακτινοτοξικότητας και τη βελτίωση της πρόγνωσης αυτών των ασθενών[81]. Μια άλλη υπόθεση αφορά τη σχέση ακτινοπροστασίας και αυτοφαγίας, η οποία έχει ήδη προταθεί εδώ και σχεδόν 20 χρόνια [82]. Οι Digomann et al. διαπίστωσαν ότι το επίπεδο έκφρασης ορισμένων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην αυτοφαγία συσχετίστηκε με την κλινική πρόγνωση των ασθενών. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου, που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία[83, 84]. Ο εντερικός μικροβιόκοσμος εμπλέκεται στην ρύθμιση της αυτοφαγίας. Συγκεκριμένα, η αφθονία του *Fusobacterium nucleatum* φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αντίσταση στη χημειοθεραπεία μέσω του μηχανισμού αυτοφαγίας[85]. Εντούτοις, μέχρι σήμερα, δεν έχει δημοσιευθεί ικανός αριθμός μελετών σχετικά με τη δυναμική επίδραση της εντερικής δυσβίωσης στην ακτινοευαισθησία, μέσω ρύθμισης της αυτοφαγίας, ούτως ώστε να προχωρήσουμε σε συμπεράσματα με καθολικό χαρακτήρα.

Η μετακτινική συμπτωματολογία, δηλαδή η τοξικότητα αυτής, επηρεάζουν την ποιότητα ζωής του ασθενούς και αποτελούν αναπόσπαστη παράμετρο για τη λήψη της θεραπευτικής απόφασης. Σε καρκίνο πύελου, όπου η ακτινοβόληση αποτελεί θεραπεία εκλογής, οι Ferreira et al. [86] κατάφεραν να δείξουν στενή σχέση μεταξύ της σύνθεσης του εντερικού μικροβιοκόσμου και της ακτινοεπαγόμενης εντεροπάθειας. Η αφθονία από τα είδη των γενών *Clostridium*, *Roseburia* και *Phascolarctobacterium* ήταν σημαντικά αυξημένη σε ασθενείς με ακτινοεπαγόμενη εντεροπάθεια. Το *Propionibacterium* spp. συσχετίστηκε αντιστρόφως ανάλογα με τα επίπεδα IL-15, τα οποία βρέθηκαν μειωμένα σε ασθενείς με ακτινοεπαγόμενη εντεροπάθεια [87]. Είναι πλέον αποδεκτό ότι η ιονίζουσα ακτινοβολία είναι υπεύθυνη για την εντερική δυσβίωση σε αρκετές παθολογικές καταστάσεις όπως μετά από πυελική ακτινοβόληση με συνοδή εντεροτοξικότητα [86-88]. Μια άλλη κλινική μελέτη κατέδειξε σημαντική αλλοίωση του λόγου *Firmicutes* : *Bacteroidetes* μετά από πυελική ακτινοβόληση σε ασθενείς που εμφάνισαν διάρροια [89]. Σε διαφορετική μελέτη φάνηκε ότι η επικουρική ακτινοβόληση θα μπορούσε να μεταβάλει τη φαινοτυπική τοξικότητα συγκεκριμένων βακτηρίων όπως το *Pseudomonas aeruginosa*, οδηγώντας σε

αυξημένη δραστηριότητα κολλαγενάσης, καταστροφή του κολλαγόνου με συνέπεια τον θάνατο επιθηλιακών κυττάρων και πλήρη καταστροφή μονοστιβάδας[90]. Όλες οι παραπάνω μελέτες οδήγησαν στο ίδιο συμπέρασμα: η εντερική δυσβίωση θα μπορούσε να αποτελέσει χρήσιμο βιολογικό δείκτη για την πρόβλεψη και πρόληψη της ακτινοεπαγόμενης εντεροπάθειας ή άλλων επιπλοκών, ενώ σε επίπεδο παρέμβασης, η μεταμόσχευση κοπράνων πιθανόν να αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στην μείωση της ακτινοτοξικότητας[81].

Συμπερασματικά, επιβεβαιώνεται ότι ο εντερικός μικροβιόκοσμος θα μπορούσε να ρυθμιστεί αντιστοίχως για τη θωράκιση της συστημικής ανοσοαπόκρισης στην ακτινοθεραπεία και της πιθανής επαγόμενης τοξικότητας[91]. Ωστόσο, η άμεση επίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου στην αποτελεσματικότητα της ακτινοθεραπείας δεν έχει ακόμη αποδειχθεί [92]. Απαιτούνται περαιτέρω προκλινικές και κλινικές μελέτες για τον εντοπισμό των βακτηριακών πληθυσμών που εμπλέκονται στην αντίσταση στην ακτινοθεραπεία για τη διεξαγωγή μηχανιστικών υποθέσεων.

3.3. Χειρουργική αντιμετώπιση.

Η πιθανή επίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου στο χειρουργικό αποτέλεσμα έχει αποδειχθεί μόνο στον καρκίνο παχέος εντέρου, πιθανώς λόγω της άμεσης αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικροοργανισμών του εντέρου και της θέσης εκτομής. Η ανάπτυξη προληπτικών στρατηγικών με σκοπό τη μείωση μετεγχειρητικών επιπλοκών παραμένει μια πρόκληση για τους γιατρούς [93-97]. Την πιο κοινή απειλητική για τη ζωή επιπλοκή αποτελεί η διαρροή από αναστομώσεις. Παρά τις βελτιώσεις στην περιεγχειρητική ιατρική περίθαλψη και πολλές μελέτες αφιερωμένες στην τεχνική ή στην αναστομωτική ρύθμιση, τα ποσοστά διαρροών από αναστομώσεις έχουν παραμείνει σχεδόν αμετάβλητα τις τελευταίες δεκαετίες, με ποσοστό εμφάνισης έως και 19% των μετεγχειρητικών ασθενών[98-101]. Ο δυναμικός ρόλος του εντερικού μικροβιοκόσμου στην παθογένεση των διαρροών λόγω αναστόμωσης είναι όλο και πιο προφανής[102-107]. Ο Blain et al. Σε μελέτη του αναφέρει ότι παρεντερική χορήγηση πενικιλίνης προστατεύει το ιχαιμικό έντερο από τη νέκρωση, ενώ ένα ευρέος φάσματος αντιβιοτικό μπορεί να έχει ακόμα αποδοτικότερη προστατευτική δράση[108]. Η επίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου στις διαρροές λόγω αναστόμωσης προτάθηκε αρχικά τη δεκαετία του 1950 από τους Cohn et al., οι οποίοι ανέφεραν μείωση των ρυθμών διαρροής μετά από ενδοαυλική χορήγηση αντιβιοτικών σε ζωικό πρότυπο σκύλου με εντερική αναστόμωση[109]. Πολλές μελέτες

έχουν διερευνήσει το ρόλο ενός παρασκευάσματος αντιβιοτικού με από του στόματος λήψη στην εκλεκτική χειρουργική του ορθού και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει πιθανώς σημαντική προστατευτική επίδραση από μετεγχειρητικές επιπλοκές, συμπεριλαμβανομένης της διαρροής από αναστομώσεις[110]. Εντούτοις, οι βακτηριακές υπογραφές που σχετίζονται με διαρροές λόγω αναστομώσεων και οι εμπλεκόμενοι μηχανισμοί έχουν μελετηθεί ελάχιστα. Πρόσφατα, με τη χρήση της αλληλουχίας 16S MiSeq σε δείγματα ιστών ορθοπρωκτικής αναστόμωσης, οι van Praagh et al. ανέφεραν ότι η ανάπτυξη διαρροών λόγω αναστομώσεων συνδέεται με χαμηλή βακτηριακή ποικιλομορφία, με υψηλή αφθονία των κυρίαρχων οικογενειών *Bacteroidaceae* και *Lachnospiraceae* και χαμηλή αφθονία του *Prevotella oralis* [111].

Μετά την ορθοπρωκτική χειρουργική επέμβαση, η αποκατάσταση της ακεραιότητας του επιθηλιακού φραγμού ορίζεται ως καίριας σημασίας για την καλή αναστομωτική θεραπεία [112]. Όταν υπάρχει έλλειψη επαφής, τα υποκείμενα στρώματα εντερικού ιστού καθίστανται υπερβολικά εκτεθειμένα σε καταστρεπτικούς ενδογενείς παράγοντες, όπως είναι τα βακτήρια, τα οποία ενδέχεται να θέσουν σε κίνδυνο την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, ενδεχομένως οδηγώντας σε ανάπτυξη διαρροών λόγω αναστομώσεων [112]. Μελέτες αναφέρουν ότι οι επικουρικές θεραπείες και το χειρουργικό στρες μπορούν να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση λοιμογόνων βακτηριακών ομάδων υπεύθυνων για βλάβες στους ιστούς, υποστηρίζοντας έτσι τον πιθανό ρόλο του εντερικού μικροβιοκόσμου στις θεραπευτικές διαταραχές των εντερικών αναστομώσεων [90, 113, 114]. Πρόσφατα, οι Olivas et al. ανέφεραν σημαντική αύξηση στα ποσοστά διαρροών λόγω αναστομώσεων μετά από ακτινοβολία και εντερική αναστόμωση σε αρουραίους εμβολιασμένους με *Pseudomonas aeruginosa*, ένα ευκαιριακό παθογόνο που συναντάται και προσβάλλει συχνά τους νοσηλευόμενους ασθενείς[90]. Διαπίστωσαν, επίσης, ότι η επικουρική ακτινοβολία θα μπορούσε να μεταβάλει τη φαινοτυπική μολυσματικότητα συγκεκριμένων βακτηρίων, μετασχηματίζοντας έτσι τον φαινότυπο του εμβολιασμένου αρουραίου με *Pseudomonas aeruginosa* σε περισσότερο διηθητικό, ο οποίος αναστέλλει την αναστόμωση[90]. Η διαρροή λόγω αναστομώσεων σε ακτινοβολημένο και εμβολιασμένο ιστό παρεμποδίστηκε χρησιμοποιώντας τροποποιημένη πολυαιθυλενογλυκόλη. Η χορήγηση κλυσμάτων βουτυρικού μετεγχειρητικά μετά από αριστερή κολεκτομή σε ζωικά πρότυπα ενίσχυσε επίσης την αναστομωτική επούλωση παρουσιάζοντας αυξημένη σύνθεση και ωρίμανση κολλαγόνου. Το γεγονός αυτό πιθανολογείται ότι οφείλεται στην αναστολή της δράσης των παθογόνων στελεχών του *Pseudomonas aeruginosa*[115-117]. Άλλη μελέτη σε ζωικά

πρότυπα κατέδειξε ότι μετά από κολεκτομή οι αρουραίοι που εμφάνισαν διαρροές λόγω αναστομώνσεων σε αποαγγειοποιημένες αναστομές αποικίζονταν στη θέση αναστόμωσης από στελέχη του *Enterococcus faecalis*, παρουσιάζοντας υψηλή δραστηριότητα κολλαγενάσης, ενώ οι θεραπευόμενοι αποστομωτικοί ιστοί αποικίζονταν από *Enterococcus faecalis* και χαμηλή έκφραση κολλαγενάσης[118]. Τα στελέχη του *E.faecalis* με υψηλή δραστηριότητα κολλαγενάσης ήταν σε θέση να αποδομούν άμεσα το κολλαγόνο I και να διασπούν εμμέσως το κολλαγόνο IV με ενεργοποίηση της μεταλλοπρωτεϊνάσης 9 του ιστού του ξενιστή (MMP9). Η παρεμπόδιση αυτή της δραστηριότητας κολλαγενάσης, είτε με την εκρίζωση του *E. faecalis* από το παχύ έντερο χρησιμοποιώντας αντιβιοτικά είτε με τη φαρμακολογική καταστολή της δραστηριότητας κολλαγενάσης MMP9, φάνηκε να εμποδίζει αποτελεσματικά τις διαρροές στις αποαγγειωμένες αναστομές. Αντίθετα, καλά αγγειοποιημένες αναστομές που εμβολιάστηκαν με *E. faecalis*, οι οποίες παρουσίαζαν υψηλή δραστηριότητα κολλαγενάσης, εμφάνισαν υψηλότερα ποσά διαρροών λόγω αναστομώνσεων, παρόμοια με εκείνα των αποαγγειωμένων αναστομώνσεων[118].

3.4. Χημειοθεραπεία.

Ο εντερικός μικροβιόκοσμος φαίνεται πως εμπλέκεται στην αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας μέσω πολλαπλών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένων του μεταβολισμού ξενοβιοτικών ουσιών, των ανοσολογικών αλληλεπιδράσεων και της τροποποιημένης σύνθεσης βακτηριακών κοινοτήτων[119]. Ο εντερικός μικροβιόκοσμος είναι σε θέση να τροποποιήσει άμεσα τις ξενοβιοτικές ουσίες όπως είναι τα αντικαρκινικά φάρμακα ή να επιδράσει στον μεταβολισμό τους. Η συμμετοχή του μικροβιώματος στον μεταβολισμό ξενοβιοτικών ουσιών φαίνεται να συσχετίζεται με αυξημένη τοξικότητα της χημειοθεραπευτικής ουσίας, οδηγώντας σε μείωση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας[120-123].

Η σοβαρότερη πιθανή περίπτωση τοξικότητας που σχετίζεται με το θάνατο αναφέρθηκε στην Ιαπωνία μετά από 5-FU, όπου εμπλεκόταν το *Bacteroides* spp. Τα *bacteroides*, τα κυρίαρχα μέλη του εντερικού μικροβιοκόσμου, αυξάνουν το ρυθμό μετατροπής της sorivudine στο ενδιάμεσο BVU, το οποίο αναστέλλει την αποικοδόμηση της 5-FU και έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη συγκέντρωση της εν λόγω ουσίας στο αίμα και κατ' επέκταση αυξημένη τοξικότητα[121, 124]. Επιπρόσθετα, τα είδη του γένους *Bacteroides* και άλλα βακτήρια που παράγουν β-γλυκουρονιδάση, όπως είναι τα *Faecalibacterium*

prausnitzii και το *Clostridium* spp., έχουν συσχετιστεί με συσσώρευση του ενεργού μεταβολίτη της ιρινοτεκάνης (SN-38) στο έντερο, οδηγώντας σε διάρροια[120, 122].

Αξίζει να σημειωθεί πως τα ποντίκια ελεύθερα βακτηρίων (GF) παρουσιάζουν μικρότερη εντερική βλάβη μετά τη χορήγηση ιρινοτεκάνης, υποδεικνύοντας έτσι το ρόλο του εντερικού μικροβιοκόσμου στις παρενέργειες της χημειοθεραπείας [125]. Επιπλέον, τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα φαίνεται να επιδρούν άμεσα στη σύνθεση του μικροβιοκόσμου στο έντερο και τη στοματική κοιλότητα. Συγκεκριμένα, μετά από τη θεραπεία, παρατηρείται μείωση της ποικιλομορφίας των μικροοργανισμών και εντερική δυσβίωση, γεγονός που θα μπορούσε να επιδεινώσει τις σοβαρές παρενέργειες της θεραπείας σε ζωικά πρότυπα και ανθρώπους. Συγκεκριμένα, μελέτες σε ποντίκια έχουν δείξει ότι θεραπεία με 5-FU προκαλεί εντερική δυσβίωση, με συνοδή αύξηση των ειδών του γένους *Staphylococcus* και *Clostridium* και μείωση των ειδών που ανήκουν στα *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus* και *Bacteroides* [126]. Σοβαρές παρενέργειες, όπως η βλεννογονίτιδα που επάγεται από τη δοξορουβικίνη ή 5-FU ή την ιρινοτεκάνη, έχουν συσχετιστεί με δυσβίωση εντέρου και στοματικής κοιλότητας[126-128].

Συμπερασματικά, η χημειοθεραπεία φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη εντερικής δυσβίωσης, γεγονός που επιδεινώνει τις σοβαρές παρενέργειες της θεραπείας[129-134]. Αυτή η υπόθεση έχει ενισχυθεί από πρόσφατες μελέτες που δείχνουν ότι η τροποποίηση της βακτηριακής σύνθεσης μέσω της διατροφής ή συμπληρωμάτων προβιοτικών θα μπορούσε να μειώσει την τοξικότητα και τις παρενέργειες της χημειοθεραπείας [123, 135, 136].

Εκτός από το ρόλο που διαδραματίζει στην ανάπτυξη τοξικότητας, ο εντερικός μικροβιόκοσμος φαίνεται πως επηρεάζει και την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας, όπως υποδεικνύεται σε ζωικά πρότυπα με συμπαγείς όγκους όπως είναι το μελάνωμα, ο καρκίνος του πνεύμονα, του εντέρου και το σάρκωμα [137-141]. Οι μηχανισμοί που έχουν περιγραφεί μέχρι στιγμής για να εξηγήσουν την επίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου στην αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας εστιάζουν στην απομακρυσμένη ανοσολογική ρύθμιση και τη μεταβίβαση βακτηρίων σε όργανα με λεμφική παροχέτευση. Σε μελέτη του Iidaetal [137] εξετάσθηκε η ανάπτυξη ανοχής στη χημειοθεραπεία με οξαλιπλατίνη (OXA) σε καρκίνωμα και σε λέμφωμα παχέος εντέρου, σε ποντίκια ελεύθερα βακτηρίων ή σε ποντίκια που είχαν λάβει αντιβιοτική αγωγή, σε σύγκριση με ποντίκια που είχαν φυσιολογικό εντερικό μικροβιόκοσμο και είχαν ελεγχθεί

για την απουσία συγκεκριμένων παθογόνων (SPF). Αν και δεν έχουν προσδιορισθεί συγκεκριμένα βακτηριακά είδη, ωστόσο έχει αποδειχθεί η σημασία των δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS) που παράγουν τα μυελοειδή αντικαρκινικά κύτταρα ως ένδειξη αποτελεσματικότητας της OXA [137]. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν με την εφαρμογή θεραπείας με κυκλοφωσφάμιδη (CTX), η οποία χρησιμοποιείται για τη θεραπεία λεμφωμάτων και συμπαγών όγκων κι είναι γνωστό ότι ρυθμίζει το ανοσολογικό μικροπεριβάλλον του όγκου μειώνοντας τα ρυθμιστικά T-κύτταρα (Tregs) και αυξάνοντας τα κύτταρα Th1 και Th17 [138-140]. Η αποτελεσματικότητα της CTX έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται αρνητικά με τη δυσβίωση που προκαλείται από αντιβιοτική αγωγή. Οι συγγραφείς υπογραμμίζουν τον θετικό ρόλο-κλειδί τόσο του *Enterococcus hirae* όσο και του *Barnesiella intestinihominis* στην απόκριση στη θεραπεία με CTX σε ποντίκια που δεν έλαβαν αντιβιοτικά. Έχει αποδειχθεί ότι ο *E.hirae* μετακινείται από το έντερο στους λεμφαδένες και επάγει Th1 και παθογόνες Th17 αποκρίσεις οι οποίες έχουν σημαντική αντικαρκινική δραστηριότητα στη θεραπεία με CTX. Το *B. intestinihominis*, το οποίο συσσωρεύεται στο έντερο, βελτιώνει τα επίπεδα κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων Th1 και Tc1 στη συστηματική κυκλοφορία του υποπληθυσμού CD8+ κυτοτοξικών T-κυττάρων. Τα τελευταία συσχετίζονται με αύξηση γδ T λεμφοκυττάρων εμφύτευσης (TIL) στον όγκο και επαγωγή παραγωγής IFN-γ η οποία θα μπορούσε επίσης να αυξήσει την αποτελεσματικότητα της αντινεοπλασματικής θεραπείας με CTX [138, 139].

Η αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας μπορεί επίσης να διαμορφωθεί άμεσα από τα βακτήρια τα οποία βρίσκονται μέσα στον όγκο, μέσω των ενεργών μεταβολικών λειτουργιών τους[142-145]. *In vitro* μελέτες κατέδειξαν μειωμένη αντικαρκινική αποτελεσματικότητα των αναλόγων νουκλεοσιδίου πυριμιδίνης σε κυτταρικές σειρές που έχουν μολυνθεί με *Mycoplasma hyorhinitis*. Πράγματι, αυτοί οι αντικαρκινικοί παράγοντες μπορούν να αποικοδομηθούν στα καρκινικά κύτταρα μέσω της φωσφορυλάσης της θυμιδίνης που διαθέτουν κάποια στελέχη του *Mycoplasma hyorhinitis*[142]. Η κυτταροστατική δράση των φαρμάκων αποκαταστάθηκε από έναν ειδικό αναστολέα της μυκοπλασματικής φωσφορυλάσης της θυμιδίνης [146]. Επιπρόσθετα, έχει φανεί ότι τα πρωτεοβακτήρια, εμπλέκονται στην αντίσταση στη γεμισταβίνη (GTB) και στην οξαλιπλατίνη (OXA) σε όγκους καρκίνου παχέος εντέρου σε ποντίκια [145]. Η παρουσία αυτών των βακτηρίων και ο ρόλος τους στη δραστηριότητα της αντικαρκινικής αγωγής μGTB έχουν αναφερθεί στο αδενοκαρκίνωμα του προστάτη, σε κλινικές μελέτες στον άνθρωπο[143, 144]. Ο μικροβιόκοσμος που βρίσκεται τοπικά μέσα στον όγκο μπορεί να

επηρεάσει και έμμεσα την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας, μέσω διαμόρφωσης της έμφυτης ανοσίας. Στην πραγματικότητα, έχει αποδειχθεί ότι η χημειοανθεκτικότητα στην 5-FU ή στην OXA προκύπτει από την ενεργοποίηση της αυτοφαγίας από *Fusobacterium nucleatum* σε κυτταρικές σειρές του παχέος εντέρου (HCT116 και HT29), σε ζωικά πρότυπα ποντικών αλλά και σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου[85]. Η διέγερση αυτή της αυτοφαγίας εξαρτάται από την διέγερση της έμφυτης οδού ανοσίας TLR4 / MyD88. Η σχέση μεταξύ της αντίστασης στην 5-FU και στον αποικισμό με *F.nucleatum* έχει πλέον επιβεβαιωθεί κι από άλλες μελέτες σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου[147]. Πρακτικά, φαίνεται να εμπλέκεται η ενεργοποίηση της οδού TLR4 / NF-κΒ η οποία οδηγεί σε υπερέκφραση του BIRC3 (Baculoviral IAP Repeat Containing 3), μέλος πρωτεϊνών αναστολέων της απόπτωσης που είναι γνωστό ότι εμπλέκεται στην αντίσταση στη χημειοθεραπεία σε αρκετές μορφές καρκίνου[147, 148]. Όλα αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι ο εντερικός μικροβιόκοσμος αποτελεί ένα σημαντικό βιολογικό δείκτη που πρέπει να εξεταστεί για τη βελτίωση χημειοθεραπευτικής αντικαρκινικής προσέγγισης. Χρειάζεται να διεξαχθούν περαιτέρω κλινικές μελέτες για την αξιολόγηση αυτών των καινοτόμων δεικτών.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΕ ΤΟΥΣ ΟΠΟΙΟΥΣ ΕΠΙΔΡΑ Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ Ο ΕΝΤΕΡΙΚΟΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η ισορροπημένη κατανάλωση των μακροθρεπτικών της τροφής, δηλαδή των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και του λίπους, είναι εξαιρετικής σημασίας για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης και την εύρυθμη λειτουργία του ανθρώπινου σώματος. Ωστόσο, η απουσία ισορροπίας και η διαταραχή στο μεταβολισμό των μακροθρεπτικών συστατικών της τροφής έχει συσχετισθεί με εντερική δυσβίωση, η οποία όπως αναλύεται και εκτενέστερα παραπάνω αποτελεί ουσιαστικό πρόδρομο για καρκινογένεση. Παρακάτω αναλύεται ο ρόλος της διαίτας και της σύστασης του εντερικού μικροβιοκόσμου στον κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου παχέος εντέρου.

4.1. Διαιτητικές Ίνες.

Ο πρώτος ο οποίος πρότεινε τον προστατευτικό ρόλο των διαιτητικών ινών στο έντερο ήταν ο Burkitt. Τη δεκαετία του '50, δουλεύοντας στην Ανατολική Αφρική παρατήρησε τη σχέση μεταξύ της παραδοσιακής αφρικανικής διατροφής, η οποία περιείχε 50-100g διαιτητικών ινών την ημέρα και την απουσία παθήσεων του εντέρου μη φλεγμονώδους αιτιολογίας, ιδιαίτερα του καρκίνου του παχέος εντέρου [149]. Το ανθεκτικό άμυλο, όπως και περίπου το 20% του δυνητικά εύπεπτου αμύλου που καταναλώνεται εισέρχονται στο παχύ έντερο και υποβάλλονται σε σακχαρολυτική ζύμωση από τα περισσότερα βακτήρια, και ιδιαίτερα από τα *Bacteroides* spp., *Lactobacillus* spp., και *Bifidobacterium* spp.[150]. Η διεργασία αυτή αποδίδει ως τελικά προϊόντα: λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs), αέρια (όπως διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), υδρογόνο (H₂), μεθάνιο (CH₄)) και τέλος, αιθανόλη. Το οξικό, το προπιονικό και το βουτυρικό οξύ αποτελούν τα τρία κύρια SCFAs.

Παρότι και τα τρία SCFAs συμβάλουν στην υγεία του εντερικού βλεννογόνου, εντούτοις το βουτυρικό φαίνεται να έχει ισχυρότερη προστατευτική δράση έναντι στον καρκίνο παχέος εντέρου. Παράγεται κυρίως από *Clostridia clusters XIVa* και *IV* του φύλου *Firmicutes*[151]. Το βουτυρικό αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας για τα εντεροκύτταρα και έχει ρυθμιστικό ρόλο στη διαδικασία επιθηλιακού πολλαπλασιασμού[152]. Έχουν προταθεί πολλοί πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων το βουτυρικό οξύ ασκεί προστατευτική δράση έναντι στην ανάπτυξη καρκίνου παχέος εντέρου. Το βουτυρικό

ασκεί αντιπολλαπλασιαστική δράση μέσω της ενεργοποίησης του μοριακού καταρράκτη απόπτωσης και διακόπτει την ανάπτυξη του όγκου μέσω της υπερακετυλίωσης της ιστόνης[153, 154]. Δρα κατασταλτικά στην ανάπτυξη του όγκου μέσω ενίσχυσης της έκφρασης του γονιδίου p53 και της αρνητικής επίδρασης στη σηματοδότηση του αυξητικού παράγοντα-β (TGF-β) και αυξάνει την ανοσογονικότητα των καρκινικών κυττάρων (καλύτερος έλεγχος της ποιότητας του όγκου) [153-155]. Οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του βουτυρικού οφείλονται στην καταστολή του πυρηνικού παράγοντα NF-kB, ενός παράγοντα μεταγραφής που ελέγχει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν προφλεγμονώδεις αποκρίσεις και φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α) και το οξείδιο του αζώτου. Από την άλλη πλευρά, το οξικό και το προπιονικό απορροφώνται σε μεγάλο βαθμό συστηματικά και αποτελούν μόρια κλειδιά στη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων[156, 157].

4.2. Κόκκινο και επεξεργασμένο κρέας.

Το κόκκινο και το επεξεργασμένο κρέας περιέχουν μια σειρά προκαρκινογόνων συστατικών, τα οποία δρουν είτε άμεσα είτε έμμεσα, μέσω των τελικών μεταβολιτών τους[158]. Η υψηλή περιεκτικότητα του κόκκινου κρέατος σε πρωτεΐνες και αίμη έχει αποδειχθεί επιβλαβής για τον βλεννογόνο του παχέος εντέρου. Η πρωτεολυτική ζύμωση των υπολειμμάτων κρέατος από τα βακτήρια του παχέος εντέρου, όπως τα *Bacteroides* spp. και *Clostridium* spp. οδηγεί σε παραγωγή φλεγμονωδών και προκαρκινογόνων τελικών προϊόντων όπως οι νιτροζαμίνες, τα λιπαρά οξέα διακλαδισμένης αλύσου, οι φαινολικές ενώσεις (φαινόλες και ρ-κρεσόλη) και οι ινδολικές ενώσεις από αμινοξέα με αρωματικούς δακτυλίους. Η αίμη επιδρά αρνητικά στα εντεροκύτταρα δεδομένου ότι αναστέλλει την απόπτωση και ενισχύει την υπερπλασία των κρυπτών, προωθώντας έτσι τον πολλαπλασιασμό του εντερικού επιθηλίου.

Επιπλέον, αρκετές καρκινογόνες χημικές ουσίες όπως οι πολυ-κυκλικοί-αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH) και οι ετεροκυκλικές αμίνες (HCA) σχηματίζονται κατά το μαγείρεμα του κόκκινου κρέατος σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Οι κυτταροτοξικές αυτές ουσίες παράγονται κυρίως μέσω βακτηριακού ενζυματικού μετασχηματισμού κατόπιν αποκαρβοξυλίωσης των αρωματικών αμινοξέων και N-νιτροποίησης[159]. Τα μεταβολικά παράγωγά τους μπορούν να προκαλέσουν αλκυλίωση των βάσεων DNA και σχηματισμό προσθηκών, δηλαδή είναι ικανές να προκαλέσουν μεταλλάξεις στο γονιδίωμα, προάγοντας την καρκινογένεση[160].

Τα αμινοξέα του κόκκινου κρέατος είναι πλούσια σε θείο, γεγονός που ευνοεί την ανάπτυξη βακτηρίων υπεύθυνων που μειώνουν τις συγκεντρώσεις θείου (SRBs, π.χ. *Desulfovibrio vulgaris*). Τα βακτήρια αυτά μετατρέπουν το αέριο H_2 που παράγεται κατά τη διάρκεια της σακχαρολυτικής ζύμωσης σε ένα φλεγμονώδες και γονοτοξικό τελικό προϊόν, το υδρόθειο (H_2S)[161]. Η βλαπτική επίδραση του H_2S έγκειται στο ότι εμποδίζει την οξειδάση του κυτοχρώματος, αναστέλλει τη σύνθεση βλέννης, καταστέλλει τη χρήση του βουτυρικού και προωθεί τη μεθυλίωση του DNA δημιουργώντας ελεύθερες ρίζες[162]. Επιπλέον, τα SRBs καταστέλλουν την αύξηση των μεθανογόνων όπως είναι *Methanobrevibacter smithii*, το οποίο μετατρέπει το τοξικό H_2 στο μη τοξικό αέριο μεθάνιο το οποίο εκπνέεται μέσω της αναπνοής [163].

4.3. Λίπη.

Σύμφωνα με τους Devkota et. al., ζωικά πρότυπα ποντικών τα οποία ακολούθησαν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος (37% των συνολικών θερμίδων) αύξησαν την ηπατική σύνθεση πλούσιων σε θείο συζευξέων ταυρίνης από χολικά οξέα, γεγονός που ευνόησε την ανάπτυξη του *Bilophila wadsworthia* στο παχύ έντερο. Το τελευταίο μέσω της συμμετοχής του στην παραγωγή υδρόθειου (H_2S), προκάλεσε οξεία κολίτιδα στα ποντίκια [164]. Η κατανάλωση αυξημένων ποσοτήτων λίπους διεγείρει την έκκριση, την εντεροηπατική κυκλοφορία και την απομάκρυνση των πρωτογενών χολικών οξέων, του χολικού οξέος (CA) και του χηνοδεοξυχολικού οξέος (CDA)[165]. Συνεπώς, οι υψηλές συγκεντρώσεις CA και CDA προωθούν την 7-α υδροξυλίωση του *Clostridial* spp. πραγματοποιώντας έτσι αφυδρογόνωση, θείωση και 7α-αφυδροξυλίωση αποδίδοντας τα δευτερογενή χολικά οξέα της χολής: δεοξυχολικό οξύ (DCA) και λιθοχολικό οξύ (LCA)[166]. Τα δευτερογενή χολικά οξέα έχουν αποδειχθεί ότι είναι αντι-αποπτωτικά και γονοτοξικά μέσω μηχανισμών δράσης του οξειδωτικού στρες, της δημιουργίας, ουσιαστικά, αντιδραστικών ριζών οξυγόνου και καταστολή της απόκρισης p53 προς δημιουργία βλάβης του DNA και επαγωγής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Σύμφωνα με τους Bernstein et al. η προσθήκη δευτερογενών χολικών οξέων στο πόσιμο νερό αρουραίων έχει την ικανότητα πρόκλησης αυθόρμητης καρκινογένεσης, η οποία θα μπορούσε να αποκλειστεί με ταυτόχρονη χορήγηση αντιοξειδωτικών[167].

4.4. Ο ρόλος του εντερικού μικροβιόκοσμου και της διατροφής στη μεσολάβηση αύξησης κινδύνου για καρκίνο παχέος εντέρου.

Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις από *in vitro* και *in vivo* μελέτες που υποδηλώνουν ότι τα διατροφικά πρότυπα διαμορφώνουν τη δυναμική σύνθεση και την ποικιλομορφία των βακτηριακών κοινοτήτων στο παχύ έντερο. Σε μια σειρά μελετών που εξετάστηκε η επίδραση του εντερικού μικροβιόκοσμου στον διατροφικό κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου παχέος εντέρου, αναλύθηκαν τα διατροφικά πρότυπα, βιοψίες βλεννογόνου του παχέος εντέρου, κόπρανα, συγκέντρωση υδρογόνου και μεθανίου της αναπνοής, δευτερογενή χολικά οξέα παχέος εντέρου και συγκεντρώσεις SCFAs μεταξύ ατόμων που ανήκουν σε διαφορετικούς πληθυσμούς κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου παχέος εντέρου, δηλαδή σε Αφροαμερικανούς (υψηλός κίνδυνος), Καυκάσιοι Αμερικανοί (μέτριος κίνδυνος) και ντόπιους Αφρικανούς (χαμηλή επίπτωση καρκίνου παχέος εντέρου)[168-172].

Οι Αφροαμερικανοί σημείωσαν ότι καταναλώνουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη πρωτεΐνη και λίπος, κρέας, κορεσμένο λίπος, χοληστερόλη, καθώς και υψηλότερο ασβέστιο, βιταμίνη Α και βιταμίνη C, ενώ αναφέρουν παρόμοια πρόσληψη φυτικών ινών σε σχέση με τους γηγενείς Αφρικανούς [170]. Επιπλέον, οι Αφροαμερικανοί είχαν σημαντικά υψηλότερα ποσά H_2 στην αναπνοή, και υψηλότερους πληθυσμούς βακτηρίων που πραγματοποιούν 7-άλφα αφυδροξυλίωση στα κόπρανα. Παρατηρήθηκε αυξημένος ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού στις κρύπτες του παχέος εντέρου, γεγονός που αποτελεί βιοδείκτη κινδύνου για ανάπτυξη εντερικής καρκινογένεσης. Από την άλλη πλευρά, οι γηγενείς Αφρικανοί που ακολουθούσαν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε σύνθετους υδατάνθρακες και ανθεκτικό άμυλο είχαν υψηλότερη συγκέντρωση μεθανίου αναπνοής και περισσότερους πληθυσμούς *Lactobacilli* στα κόπρανα, μεγαλύτερα ποσά SCFAs και συγκεντρώσεις βουτυρικού παχέος εντέρου σε σύγκριση με τους Καυκάσιους Αμερικανούς και τους Αφροαμερικανούς. Στις ομάδες των Αμερικανών παρατηρήθηκε σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα 2-μεθυλβαλερικού στο έντερο, ένα λιπαρό οξύ διακλαδισμένης αλύσου που προέρχεται από τη ζύμωση των πρωτεϊνών[172]. Ενδιαφέρουσα παρατήρηση αποτελεί ότι οι γηγενείς Αφρικανοί, παρά τη χαμηλότερη διατροφική πρόσληψη φυλλικού οξέος, βιταμίνης B12 και βιοτίνης, η αντίστοιχη συγκέντρωση των παραπάνω στο έντερο δεν ήταν αντιστοίχως χαμηλή, υποδεικνύοντας έτσι την *de novo* σύνθεση των ουσιών αυτών από τους μικροοργανισμούς του εντέρου. Όσον αφορά τη διατροφική πρόσληψη λίπους και τα δευτερογενή χολικά οξέα κοπράνων, οι Αφροαμερικανοί είχαν 3-4 φορές υψηλότερη περιεκτικότητα σε LCA, DCA και CA στο παχύ έντερο σε σχέση με τους γηγενείς Αφρικανούς, αλλά είχαν παρόμοιες τιμές συγκρίνοντας τους με τους Καυκάσιους Αμερικανούς[172]. Οι Αφροαμερικανοί φαίνεται

να εκφράζουν περισσότερο τον «εντερότυπο 1» και οι Αφρικανοί να εκφράζουν τον «εντερότυπο 2», με μεγαλύτερη αφθονία αποικοδομητών αμύλου, όπως οι *Dialister*, *Oscilispora*, *Succinivibrio*, το *Xylanibacter* και βουτυρικού[172]. Οι διατροφικοί παράγοντες φαίνεται να διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διαμόρφωση των βακτηριακών κοινοτήτων του εντέρου, όπως αποδεικνύεται από την ισχυρή συσχέτιση της μακροχρόνιας κατανάλωσης πλούσιας σε πρωτεΐνες και ζωικής προέλευσης λιπαρών με την αφθονία του είδους *Bacteroides* (εντερότυπος 1) και εκείνης των υδατανθράκων με την αφθονία του *Prevotella* (εντερότυπος 2)[173]. Μελέτη έδειξε ότι τα παιδιά της υπαίθρου στην Αφρική παρουσίασαν μια μοναδική αφθονία βακτηρίων που ανήκουν στα γένη *Prevotella* και *Xylanibacter* (τα οποία απουσιάζουν από τους Ευρωπαίους ομολόγους τους) τα οποία είχαν γονίδια ζύμωσης κυτταρίνης και ξυλάνης. Εικάζεται ότι το τελευταίο αποτελεί αποτέλεσμα δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες. Η προσαρμογή πραγματοποιήθηκε πιθανώς για να καλύψει την μέγιστη εκχύλιση μεταβολικής ενέργειας από τις φυτικές ίνες που καταναλώνει ο εν λόγω πληθυσμός [174].

Οι περισσότεροι ενήλικες νοτιοαφρικανικοί της υπαίθρου παρουσίασαν αυξημένα ποσά *Prevotella* στα κόπρανα, όπως και αποικοδομητές αμύλου (*Succinivibrio* και *Oscillospira*) που αντικατοπτρίζουν την υψηλή κατανάλωση πολυσακχαριτών από φυτικής προέλευσης πηγές. Εξίσου εντυπωσιακές ήταν οι διαφορές στην ποικιλομορφία των μεθανογενών αρχαίων των κοπράνων (MA) και των SRBs. Οι ιθαγενείς Αφρικανοί βρέθηκαν να έχουν μεγαλύτερα ποσά και ποικιλομορφία μεθανογενών αρχαίων και διακριτούς πληθυσμούς SRBs σε σύγκριση με τους Αμερικανούς και τους Ευρωπαίους ομολόγους τους[175]. Καταλήγουμε έτσι στο συμπέρασμα ότι το εντερικό περιβάλλον είναι αυτό το οποίο καθορίζει τον συνολικό κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου, παρά μεμονωμένα ένα βακτήριο, ένας μεταβολίτης ή ένα θρεπτικό συστατικό[170].

4.5. Διατροφική παρέμβαση για τη διαμόρφωση της σύστασης εντερικού μικροβιοκόσμου και η επίδραση της στον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου παχέος εντέρου.

4.5.1. Διατροφικά πρότυπα.

Είναι αδιαμφισβήτητη, πλέον, η επίδραση των τροφίμων μεμονωμένα όπως και συνολικά των διατροφικών προτύπων στη σύνθεση του εντερικού μικροβιοκόσμου. Μελέτες σε ποντίκια έδειξαν ότι η αλλαγή της διατροφικής πρόσληψης λιπαρών από χαμηλή σε υψηλή

επιδρά στην διαμόρφωση της βακτηριακής ποικιλομορφίας σε μόλις μια ημέρα[176]. Σε υγιείς εθελοντές, όταν εξετάστηκε η επίδραση της μετάβασης από ένα «φυτικό» πρότυπο διατροφής (πλούσιο σε δημητριακά, όσπρια, φρούτα και λαχανικά) σε ένα «βασισμένο σε ζωικής προέλευσης πηγές» (πλούσιο, δηλαδή, σε κρέας, αυγά και τυρί) παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στη σύσταση του εντερικού μικροβιοκόσμου μέσα σε διάστημα μόλις πέντε ημερών [177]. Δίαιτα με βάση τα ζωικής προέλευσης τρόφιμα συσχετίστηκε με αφθονία ορισμένων μικροοργανισμών όπως το *Bilophila wadworthia* και με μειωμένα επίπεδα σακχαρολυτικών Firmicutes. Το *Bilophila wadworthia* είναι βακτήριο το οποίο συνδέεται με αυξημένη κατανάλωση διατροφικού λίπους, αυξημένη έκκριση χολικών οξέων και φλεγμονή στους βλεννογόνους. Σε μελέτη διάρκειας 10 ημερών ελεγχόμενης ως προς τη διατροφή, εξετάστηκε η βακτηριακή σύσταση των κοπράνων και παρατηρήθηκε αύξηση του είδους *Bacteroides* κατά κύριο λόγο σε άτομα που ακολουθούσαν δίαιτα πλούσια σε πρωτεΐνες και ζωικά λιπαρά και αύξηση του *Prevotella* σε άτομα που ακολουθούσαν δίαιτα πλούσια σε υδατάνθρακες και απλά σάκχαρα[173]. Σε κλινική μελέτη όπου τα άτομα άλλαξαν το διατροφικό τους πλάνο από υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά / χαμηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες ή σε χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος / υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες, παρατηρήθηκε αλλαγή στη σύνθεση του εντερικού μικροβιοκόσμου. Όμως η ομαδοποίηση ως προς τους εντερότυπους παρέμεινε σταθερή στη μελέτη, υποδηλώνοντας, έτσι, ότι χρειάζονται μακροχρόνιες διατροφικές αλλαγές για να επιτευχθεί βακτηριακή προσαρμογή και σημαντική αλλαγή στη σύνθεση των βακτηριακών κοινοτήτων.

Συνοπτικά, κλινικές μελέτες σε ανθρώπινα όπως και σε ζωικά πρότυπα δείχνουν ότι η ολοένα και μεγαλύτερη προσκόλληση σε μια δυτικού τύπου διατροφή εξηγεί την αύξηση του κινδύνου για καρκίνο παχέος εντέρου. Όμως, η δυτικοποίηση οδηγεί επιπλέον σε αλλαγές και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων, που θα μπορούσαν ανεξαρτήτως να αυξήσουν την έκθεση του ατόμου σε καρκινογόνες ουσίες και κατ' επέκταση τον κίνδυνο καρκινογένεσης. Σε μια προσπάθεια διερεύνησης του ρόλου της διατροφής μόνο, πραγματοποιήθηκε αλλαγή στη δίαιτα ομάδας Αμερικανών και αγροτών Αφρικανών για το χρονικό διάστημα των 2 εβδομάδων. Σκοπό της μελέτης αποτέλεσε η μέτρηση των αλλαγών ως προς τα βακτήρια των κοπράνων και του παχέος εντέρου, τους μεταβολίτες τους και τους φλεγμονώδεις και καρκινικούς βιοδείκτες στις βιοψίες του παχέος εντέρου. Η ανάλυση του μικροβιώματος έγινε με τη χρήση φυλογενετικής μικροσυστοιχίας γονιδίων 16S rRNA (Human Intestinal Tract Chip (HITChip)), η οποία καλύπτει πάνω από

1000 από τα πρόσφατα γνωστά βακτηριακά είδη του εντέρου στον άνθρωπο και έχει αποδειχθεί ότι παρέχει εξαιρετικά συναφή αποτελέσματα σχετικά με τη σύνθεση των βακτηρίων συγκρινόμενη με την αλληλουχία 16S ή μεταγονιδιώματος[178].

Η ομάδα των γηγενών Νοτιοαφρικανών ακολούθησε μια δυτικού τύπου διατροφή (51% λιπαρά, 27% πρωτεΐνες, 20% υδατάνθρακες, 3g φυτικών ινών ανά 1000kcal) και οι Αφροαμερικανοί ακολούθησαν μια παραδοσιακή αφρικανική διατροφή (17% λίπος, 15% πρωτεΐνη, 68% υδατάνθρακες, 21g φυτικές ίνες ανά 1000kcal). Το διατροφικό πλάνο υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες - χαμηλό σε λίπος επέφερε αύξηση του βουτυρικού οξέος κατά 2,5 φορές και μείωση των δευτερογενών χολικών οξέων κατά 70%. Από την άλλη πλευρά, η υιοθέτηση διατροφικού πλάνου χαμηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες - υψηλής σε λίπος, από τους γηγενείς Αφρικανούς είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του βουτυρικού οξέος στο έντερο κατά 50% και την αύξηση της συγκέντρωσης δευτερογενών χολικών οξέων κατά 400%. Ομοίως, διερευνήθηκε η λειτουργική ικανότητα των βακτηρίων στο σύνολό της, καθώς αρκετά βακτήρια μπορούν να μοιράζονται την ίδια λειτουργική ικανότητα. Το αποτέλεσμα ήταν ότι οι Αμερικανοί ιθαγενείς, που αρχικά είχαν μεγαλύτερη έκφραση του γονιδίου *bcoA* και του γονιδίου *mcrA*, κατά την ολοκλήρωση της έρευνας παρουσίασαν μείωση των γονιδιακών αυτών εκφράσεων, η οποία οφείλεται στην αλλαγή της διατροφής. Το γονίδιο *bcoA* κωδικοποιεί το ένζυμο βουτυρυλ-CoA ακετυλ CoA-τρανσφεράση, υπεύθυνο για το τελευταίο στάδιο της σύνθεσης βουτυρικού, ενώ το γονίδιο *mcrA* κωδικοποιεί το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για τη μεθανογένεση. Στο χρόνο μηδέν της μελέτης το γονίδιο *baiCD* που κωδικοποιεί το 7-α-αφυδροξυλιωτικό ένζυμο, υπεύθυνο για τη δευτερογενή παραγωγή χολικού οξέος, βρέθηκε χαμηλό, ενώ αυξήθηκε στους εθελοντές που υιοθέτησαν δίαιτα υψηλή σε λίπος. Παρόμοιες αλλαγές σημειώθηκαν στην ομάδα των Αφροαμερικανών. Σημαντικό εύρημα αποτέλεσε ότι οι αλλαγές στη σύσταση του εντερικού μικροβιοκόσμου συσχετίστηκαν με αντίστοιχες αλλαγές στους βλεννογονικούς βιοδείκτες για τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αλλαγή ως προς τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των επιθηλιακών βλεννογόνων (χρώση Ki67) και ανοσοϊστοχημικοί δείκτες φλεγμονής (CD3 + ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα και CD68 + μακροφάγα του εντερικού βλεννογόνου). Παρατηρήθηκε μείωση των προαναφερθείσων στους Αμερικανούς λόγω της «αφρικάνικης» δίαιτας, και αύξηση στους Αφρικανούς λόγω της δυτικού τύπου δίαιτας. Αυτά τα ευρήματα καθίστανται εξαιρετικά σημαντικά καθώς δείχνουν ότι όχι μόνο ο βακτηριακός μεταβολισμός του παχέος εντέρου ανταποκρίνεται γρήγορα στη

διατροφική τροποποίηση, αλλά και ότι αυτές οι βακτηριακές μεταβολικές αλλαγές συνοδεύονται από αλλαγές στο βλεννογόνο, και συνεπώς στην ευαισθησία σε νεοπλασματικές εξαλλαγές και στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, σε ένα χρονικό διάστημα μόλις 2 εβδομάδων.

4.5.2. Τεχνικές παρέμβασης στη σύσταση εντερικού μικροβιομόσμου μικροβιόκοσμου με σκοπό τη βελτίωση θεραπευτικής απόκρισης και της πρόγνωσης των ασθενών: Κλινικές δοκιμές

4.5.2.1. Προβιοτικά.

Τα προβιοτικά ορίζονται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) και τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) ως οι «ζωντανοί μικροοργανισμοί που όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες προσδίδουν όφελος στην υγεία του ξενιστή». Οι μικροοργανισμοί του ξενιστή περιλαμβάνουν τόσο αυτόχθονους μικροοργανισμούς (μέλη του εντερικού μικροβιόκοσμου του ξενιστή) όσο και αλλόχθονους μικροοργανισμούς (που χορηγούνται εξωγενώς όπως είναι τα προβιοτικά), οι οποίοι, ακόμη κι αν είναι παροδικοί, αποτελούν συστατικό του μικροβιοκόσμου του ξενιστή[179]. Πρόσφατη μετα-ανάλυση που αξιολόγησε την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των προβιοτικών σε ενήλικες και παιδιατρικούς ασθενείς διαγνωσθέντες με καρκίνο, έδειξε ότι τα προβιοτικά έχουν ευεργετικές επιδράσεις, ακόμα κι αν οι μηχανισμοί στους οποίους βασίζονται οι αντικαρκινικές τους ιδιότητες δεν έχουν πλήρως αποσαφηνιστεί μέχρι στιγμής[180]. Παρά το γεγονός ότι οι περισσότερες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην πιθανή ικανότητα των προβιοτικών να αναστέλλουν την ογκογένεση ή την τοξικότητα που σχετίζεται με τη θεραπεία του καρκίνου[181-183], ωστόσο μόνο περιορισμένος αριθμός μελετών έχει αξιολογήσει το δυναμικό των προβιοτικών στην ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των αντινεοπλασματικών θεραπειών[184].

Το 1993, μια πολυκεντρική τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη φάσης III, η οποία περιλάμβανε 223 ασθενείς με καρκίνωμα τραχήλου της μήτρας, έδειξε ότι ο συνδυασμός της ακτινοθεραπείας με θεραπευτική αγωγή η οποία περιλάμβανε στελέχη *Lactobacillus casei* που θανατώθηκαν με θερμότητα (LC9018) αύξησε την ανοσοαπόκριση των καρκινικών κυττάρων και έδρασε θετικά στην αντιμετώπιση της κακοήθους νεοπλασίας [185]. Ο συνδυασμός προβιοτικών-αντικαρκινικής θεραπείας έκτοτε αποτέλεσε πεδίο έρευνας στην επιστημονική κοινότητα. Πράγματι, ο εντερικός μικροβιόκοσμος φαίνεται

να κατέχει ρυθμιστικό ρόλο στην επισκευή βλαβών που προκαλούνται από την ακτινοβολία[186]. Μελέτη των Ciorba et al. έδειξε ότι το προβιοτικό στελέχος *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) προστατεύει τον εντερικό βλεννογόνο ζωικών προτύπων από την ακτινοεπαγόμενη τοξικότητα, οδηγώντας σε επανατοποθέτηση κυττάρων που εκφράζουν την κυκλοοξυγενάση 2.

Σε μια διπλή-τυφλή ελεγχόμενη με placebo δοκιμή στην οποία συμμετείχαν 490 ασθενείς, το προβιοτικό παρασκεύασμα VSL # 3, που περιλάμβανε οκτώ στελέχη βακτηρίων που παράγουν γαλακτικό οξύ (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*), φάνηκε να προστατεύει τους ασθενείς από την ανάπτυξη διαρροϊκής συμπτωματολογίας ως απότοκο της ακτινοβολίας [187]. Στην παρούσα φάση, ένας μεγάλος αριθμός μελετών που επικεντρώνονται στον ρόλο των προβιοτικών στην πρόληψη ανάπτυξης τοξικότητας ή τον περιορισμό της τοξικής συμπτωματολογίας από τις αντικαρκινικές θεραπείες βρίσκεται σε εξέλιξη[188]. Κάποιες από τις μελέτες, πάλι, επικεντρώνονται στη μείωση των παρενεργειών της ακτινοβολίας χωρίς να διερευνούν την άμεση επίδραση των προβιοτικών στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Σε μια τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη, οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία για την αντιμετώπιση ρινοφαρυγγικού καρκινώματος παρουσίασαν αυξημένη ανοσοποιητική απόκριση και μειωμένο ποσοστό χημειο- και ακτινο- επαγόμενης τοξικότητας, όπως εκφράζεται με στοματική βλεννογονίτιδα, αφότου έλαβαν ένα συνδυασμό προβιοτικών με σκοπό την πρόληψη της εντερικής δυσβίωσης. Πράγματι, ο προβιοτικός συνδυασμός αύξησε τον αριθμό των CD4 + T κυττάρων, CD8 + T κυττάρων και CD3 + T κυττάρων και μείωσε σημαντικά τη στοματική βλεννογονίτιδα [189]. Μελέτη που διεξήγαγε ο Wang et al. έδειξε ότι η χορήγηση του προβιοτικού στελέχους *Lactobacillus reuteri* ήταν ικανή να αναστείλει την ανάπτυξη και την εξέλιξη της κολίτιδας που σχετίζεται με τη θεραπεία με ICIs σε ζωικά πρότυπα ποντικών με μελάνωμα, χωρίς να επηρεάζουν την αντικαρκινική δράση της ανοσοθεραπείας[190].

Όσον αφορά τη χημειοθεραπεία, μελέτη των Viaud et al. σε ποντίκια με συμπαγείς όγκους διερεύνησε την επίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου στη δράση της θεραπείας με CTX. Παρατηρήθηκε διαταραχή στην ακεραιότητα του εντερικού βλεννογόνου στα ζωικά πρότυπα που έλαβαν CTX, η οποία σχετίστηκε με εντερική δυσβίωση[138].

Παρατηρήθηκε αντιστρόφως ανάλογη συσχέτιση του μεγέθους της νεοπλασίας σε ποντίκια ελεύθερα βακτηρίων και σε ποντίκια που είχαν λάβει αντιβιοτική αγωγή ταυτόχρονα την μειωμένη μετατροπή Th17 κυττάρων λόγω της χημειοθεραπείας. Στα ζωικά αυτά πρότυπα που είχαν υποστεί αγωγή με αντιβιοτικά χορηγήθηκε από του στόματος συμπλήρωμα με *Enterococcus hirae* και *Lactobacillus johnsonii*, οπότε και παρατηρήθηκε αυξημένος ρυθμός αποκατάστασης των κυττάρων Th17 κατόπιν θεραπείας με CTX [138]. Η από του στόματος χορήγηση *Enterococcus hirae* σε ζωικά πρότυπα με σάρκωμα υπό αντιβιοτική θεραπεία φάνηκε να αποκαθιστά την αποτελεσματικότητα της αντικαρκινικής θεραπείας με CTX προκαλώντας βελτιωμένη ανοσοαπόκριση των T-κυττάρων [139]. Συμπερασματικά, μέσα από τις παραπάνω μελέτες επισημαίνονται συγκεκριμένα κοινά στελέχη που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προβιοτικά σε συνδυασμό με τη θεραπεία CTX για να βελτιώσουν την απόκριση στη θεραπεία ογκολογικών ασθενών.

Όσον αφορά την ανοσοθεραπεία, είναι μεγάλος ο αριθμός των βακτηριακών στελεχών που συσχετίζονται με αυξημένη αποτελεσματικότητα των αναστολέων σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού (ICIs) σε ζωικά πρότυπα με καρκίνο[191]. Το 2013, μελέτη των Iida et al. έδειξε ότι η από του στόματος χορήγηση του *Alistipes shahii* σε ζωικά πρότυπα ποντικών που είχαν υποβληθεί σε αντιβιοτική θεραπεία ήταν υπεύθυνη για την αποκατάσταση της ικανότητας των μυελοειδών κυττάρων, σχετιζόμενων με τον όγκο, να παράγουν TNF σε ζώα που υποβάλλονται σε θεραπεία με αντι-IL-10R / CpG-ODN [137]. Όπως ανέφεραν οι Sivan et al. σε ζωικά πρότυπα με μελάνωμα, η χορήγηση *Bifidobacterium* συσχετίστηκε με επιβράδυνση της ανάπτυξης όγκου και παρουσίασε ευεργετικές αποκρίσεις στην αντι-PD-L1 θεραπεία[69]. Από του στόματος χορήγηση προβιοτικών που περιέχουν *Bifidobacterium* σε ζωικά πρότυπα με εντερική δυσβίωση αύξησε την αποτελεσματικότητα της αντικαρκινικής θεραπείας με αναστολείς PD-L1 και σχεδόν καταστάλθηκε η ανάπτυξη όγκου [69]. Το 2015, οι Vétizou et al. συνέκριναν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με αντι-CTLA-4 αντισώματα σε ζωικά πρότυπα με έκτοπους όγκους[70]. Η θεραπεία δεν είχε καμία επίδραση στα ζωικά πρότυπα που ήταν ελεύθερα βακτηρίων ή υπό αντιβιοτική αγωγή σε σύγκριση με τα ζωικά πρότυπα SPF. Διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση αντι-CTLA-4 θεραπείας σε ζωικά πρότυπα SPF (είναι ελεύθερα από συγκεκριμένα παθογόνα μικροβιακά στελέχη) μείωσε τη σχετική αφθονία των *Bacteroidales* και των *Burkholderiales*. Στα ζωικά πρότυπα που χορηγήθηκε από του στόματος συμπλήρωμα με *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*,

Burkholderia cepacia ή συνδυασμός *Bacteroides fragilis* και *Burkholderia cepacia* ανακτήθηκε η αντικαρκινική απόκριση στα αντισώματα CTLA-4. Οι Vétizou et al. επιβεβαίωσαν την κλινική συνάφεια των ευρημάτων τους εντοπίζοντας ασθενείς με μεγάλη συγκέντρωση των ειδών *Bacteroides* στο έντερο. Παρατήρησε ότι ο επιπολασμός των ασθενών με αυξημένη συγκέντρωση *Bacteroides* αυξήθηκε μετά τη θεραπεία. Πρόσφατα, οι Tanoue et al. σε μελέτη τους απομόνωσαν 11 κοινά στελέχη από υγιή άτομα, δότες κοπράνων, με ισχυρούς επαγωγείς της ιντερφερόνης τα οποία εκφράζουν αυξημένη παραγωγή CD8 T-κυττάρων στο έντερο ζωικών προτύπων[74]. Αυτά τα στελέχη ήταν τα *Ruthenibacterium lactatiformans*, *Eubacterium limosum*, *Fusobacterium ulcerans*, *Phascolarctobacterium) succinatutens*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides dorei*, *Paraprevotella xylaniphila*, *Parabacteroides distasonis*, *Parabacteroides johnsonii*, *Parabacteroides gordonii* και *Alistipes senegalensis*, τα οποία σπανίως είναι μειωμένα στα πλαίσια φυσιολογικού εντερικού μικροβιοκόσμου. Σε ζωικά πρότυπα ποντικών η χορήγηση των παραπάνω στελεχών ευνόησε την ανταπόκριση στη θεραπεία με αντι-PD-1 ή αντι-CTLA-4. Συνεπώς, η χορήγηση βακτηρίων μπορεί να ενισχύσει τους αναστολείς σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού και την χημειοαπόκριση μέσω της διέγερσης δενδριτικών κυττάρων για να εκκρίνουν IL-12 και να διαφοροποιήσουν τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα του όγκου [191].

Αρκετές κλινικές δοκιμές οι οποίες στοχεύουν στον εντερικό μικροβίοκοσμο μέσω της χορήγησης προβιοτικών στελεχών για τη βελτίωση της απόκρισης αντικαρκινικών θεραπειών είναι σε εξέλιξη. Το 2012 στην Ιταλία πραγματοποιήθηκε μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με placebo κλινική δοκιμή φάσης III στην οποία συμμετείχαν 160 ασθενείς με καρκίνο ορθού. Στην εν λόγω μελέτη αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του προβιοτικού παρασκευάσματος VSL# 3® στην αύξηση ανταπόκρισης του συνδυαστικού αντικαρκινικού σχήματος ταυτόχρονης εφαρμογής χημειοθεραπείας και πυελικής ακτινοθεραπείας. Δυστυχώς, δεν βρέθηκαν δημοσιευμένα περαιτέρω δεδομένα και συμπεράσματα της μελέτης (NCT01579591). Μια άλλη μελέτη στην οποία συμμετείχαν 20 ασθενείς με καρκίνο του μαστού χορηγήθηκε το σκεύασμα Primal Defense Ultra® Probiotic Formula (με εμπεριέχοντα στελέχη *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Bifidobacterium longum* και *Lactobacillus paracasei*) για 2–4 εβδομάδες και για 3 φορές

την ημέρα. Η χορήγηση αυτού του προβιοτικού σκευάσματος πριν από τη χειρουργική επέμβαση στοχεύει στην αξιολόγηση της ικανότητας των προβιοτικών να επηρεάζουν την αντικαρκινική ανοσολογική λειτουργία κατόπιν χειρουργικής εκτομής (NCT03358511). Μια τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη φάσης IV με επικεφαλής τον Δρ Correia η οποία ολοκληρώθηκε το 2016 (NCT01609660) έδειξε ότι η από του στόματος χορήγηση *Saccharomyces boulardii* για επτά ημέρες πριν από εκτομή παχέος εντέρου σε ασθενείς με ορθοκολικό καρκίνο οδήγησε στη μείωση φλεγμονωδών κυτταροκινών στον βλεννογόνο παχέος εντέρου και στη μείωση κινδύνου για μετεγχειρητική λοίμωξη [192]. Μια κλινική δοκιμή που στοχεύει στη βελτίωση της σύστασης εντερικού μικροβιοκόσμου μέσω χορήγησης προβιοτικών, με σκοπό την αύξηση της αποτελεσματικότητας του αναστολέα των ICIs είναι σε εξέλιξη και εκτιμάται να ολοκληρωθεί το καλοκαίρι του 2021. Αφορά δοκιμή φάσης I η οποία στοχεύει στην αξιολόγηση της επίδρασης του προβιοτικού στελέχους *Clostridium butyricum* CBM588 σε συνδυασμό με το Nivolumab και Ipilimumab στα πλαίσια θεραπείας ασθενών με καρκίνο των νεφρών (NCT03829111). Ξεκίνησε το 2019 και αναμένεται να ολοκληρωθεί το 2022, μια κλινική δοκιμή φάσης II με στόχο τη σύγκριση επίδρασης της χημειοθεραπείας στην επιβίωση των ασθενών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία για μεταστατικό καρκίνο παχέος εντέρου αναφορικά με τη λήψη προβιοτικού παρασκευάσματος με εμπορική ονομασία Weileshu® (NCT04021589).

Από τις παραπάνω μελέτες παρέχονται χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τα πιθανά στελέχη τα οποία βελτιώνουν την ανταπόκριση στην αντικαρκινική θεραπεία. Ωστόσο, μια βαθύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών στους οποίους βασίζουν τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες τα μεμονωμένα προβιοτικά στελέχη φαίνεται να είναι το επόμενο βήμα βελτιστοποίησης της χρήσης προβιοτικών σε συνδυασμό με τις αντικαρκινικές θεραπείες για την αντιμετώπιση της νόσου.

4.5.2.2. Πρεβιοτικά και Συμβιοτικά.

Πολλά συστατικά των τροφίμων λειτουργούν ως τροφή για τα βακτήρια του εντέρου, τα οποία μπορούν να καταβολιστούν σε ογκοκατασταλτικούς μεταβολίτες[193]. Τα πρεβιοτικά χρησιμοποιούνται από ειδικά βακτήρια του εντέρου και ορίζονται ως διαιτητικές ίνες μη εύπεπτες ή απορροφήσιμες από τον ξενιστή, που η κατανάλωσή τους επιφέρει ευεργετικά αποτελέσματα στον ξενιστή[193]. Εξωγενής χορήγηση τους αναμένεται να αυξήσει τον αποικισμό συγκεκριμένων βακτηρίων και συνεπώς των ειδικών μεταβολιτών τους στο έντερο, πράγμα που φαίνεται να δρα θετικά στην

αποτελεσματικότητα της αντικαρκινικής θεραπείας. Ωστόσο, η πιθανή επίδραση των πρεβιοτικών στις θεραπευτικές προσεγγίσεις εξαρτώνται από τα ήδη παρόντα ευεργετικά βακτήρια στο έντερο του ξενιστή. Έτσι, ο συνδυασμός προβιοτικών και πρεβιοτικών, γνωστός ως συμβιωτικά[179], φαίνεται να αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση.

Όπως περιγράφηκε παραπάνω, μικρή ποικιλομορφία εντερικών μικροοργανισμών συσχετίζεται ανεξάρτητα με κακή ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα [194] και με κακή έκβαση ασθενών υπό αλλογενή μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων[126]. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω δεδομένα, πρεβιοτικά και θεραπεία με συμβιωτικά θα μπορούσαν να εξεταστούν περαιτέρω για χορήγηση πριν και κατά τη διάρκεια της αντικαρκινικής θεραπείας για τη διατήρηση της ποικιλομορφίας και τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της[195].

Μια δημοσιευμένη μελέτη ασχολείται με τη δράση των προβιοτικών ή των συμβιωτικών στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των αντικαρκινικών θεραπειών. Αξιολογήθηκαν οι δράσεις των συμβιωτικών σε ασθενείς με κακοήθεις όγκους μαστού που υποβάλλονται σε θεραπευτική ή ανακουφιστική θεραπεία, όπου καταγράφηκαν η θνησιμότητα και η επίπτωση μετεγχειρητικών λοιμώξεων (NCT0146877). Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν μειωμένα ποσοστά μετεγχειρητικής θνησιμότητας και επιπλοκών σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μείγμα *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* και *Bifidobacterium bifidum* σε συνδυασμό με φρουκτοολιγοσακχαρίτες πριν και μετά τη χειρουργική επέμβαση[196]. Επιπλέον, το 2019 ξεκίνησε τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης II, η οποία αναμένεται να ολοκληρωθεί το 2024, όπου διερευνάται η επίδραση των προβιοτικών και των πρεβιοτικών κατά τη διάρκεια χορήγησης συνδυαστικού σχήματος χημειοθεραπείας-ακτινοθεραπείας σε ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα εντοπισμένο στην περιοχή του πρωκτού (NCT03870607).

Συμπερασματικά, τα πρεβιοτικά ή τα συμβιωτικά φαίνονται ικανά να βελτιώσουν το θεραπευτικό αποτέλεσμα στους ογκολογικούς ασθενείς, επιτρέποντας έτσι την ανάπτυξη νέων προσεγγίσεων αναφορικά με τις αντικαρκινικές θεραπείες.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ.

Η συχνότητα εμφάνισης νέων περιστατικών καρκίνου του παχέος εντέρου φαίνεται να είναι ιδιαίτερα αυξημένη τα τελευταία χρόνια. Συγκεκριμένα, ο WHO το 2018 κατάγραψε πάνω από 1,8 εκατομμύρια νέα περιστατικά παγκοσμίως, ενώ επίσης, ο καρκίνος παχέος εντέρου αποτελεί την 2^η και 3^η συχνότερα καταγραφόμενη νόσο σε γυναίκες και άνδρες αντίστοιχα [14].

Η εμπλοκή του εντερικού μικροβιόκοσμου σε πληθώρα μεταβολικών και οργανικών λειτουργιών αποτέλεσε το αρχικό ερέθισμα για την εν τω βάθει διερεύνηση των μικροοργανισμών του εντέρου αναφορικά με τον κίνδυνο ανάπτυξης διαφόρων νόσων, εκ των οποίων και ο καρκίνος, όπως και την επίδραση τους στην αποτελεσματικότητα των υπάρχουσων αντικαρκινικών θεραπειών.

Η χρήση των νέων μοριακών τεχνολογιών, της μεταγενομικής, διαδραμάτισε καθοριστικό ρόλο στην έρευνα των αλληλεπιδράσεων ξενιστή και εντερικού μικροβιόκοσμου[4].

Μέχρι στιγμής, δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο κατά πόσο η εντερική δυσβίωση αποτελεί αίτιο ή αιτιατό για την εμφάνιση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων[23]. Κάποιες μελέτες συνδέουν αιτιολογικά την εντερική δυσβίωση με την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών, όπως είναι και η νεοπλασματική νόσος, ενώ άλλες μελέτες με αναδρομικό χαρακτήρα, εστιάζουν κυρίως στη συσχέτιση της παρουσίας μεμονωμένων βακτηρίων σε ήδη εγκατεστημένες παθήσεις, [6, 9, 43-47, 51]. Οι παράγοντες, δε, που μπορούν να οδηγήσουν σε απώλεια ποικιλομορφίας και ομοιοστατικής λειτουργίας των μικροοργανισμών είναι η φλεγμονή, η δίαιτα, οι ξενοβιοτικές ουσίες, όπως επίσης και το διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο του ξενιστή[4].

Σύμφωνα με τους Fearon και Vogelstein, η καρκινογένεση στο παχύ έντερο προκύπτει από μια σειρά γενετικών αλλαγών σε ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια και απαιτούνται μεταλλαγές σε τουλάχιστον 4-5 γονίδια για τον κακοήγη μετασχηματισμό[21]. Ποικιλία υποθέσεων έχουν προταθεί για να εξηγήσουν το ρόλο της ισορροπίας του εντερικού μικροβιοκόσμου στην καρκινογένεση του παχέος εντέρου. Στη βιβλιογραφία επικρατούν δύο μοντέλα τα οποία αποδίδουν πιθανές εξηγήσεις σχετικά με τη συμβολή του εντερικού μικροβιοκόσμου στην παθογένεση του καρκίνου παχέος εντέρου. Στο πρώτο μοντέλο, τα βακτήρια δρουν ως «οδηγοί» με προ-καρκινογόνα χαρακτηριστικά τα οποία προκαλούν βλάβη στο επιθηλιακό DNA και στη συνέχεια θα

μπορούσαν να αντικατασταθούν από τα βακτήρια «επιβάτες» τα οποία έχουν την ικανότητα να ευνοούν την καρκινογένεση, δίνοντας έτσι αυξητικό πλεονέκτημα στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Στο δεύτερο προτεινόμενο μοντέλο καρκινογένεσης, οι παθογόνοι-δυσβιωτικοί τύποι μικροοργανισμών είναι υπεύθυνοι για τη λειτουργική ανισορροπία, η οποία με τη σειρά της πυροδοτεί παρατεταμένες προ-φλεγμονώδεις αποκρίσεις και αλλαγή στον κυτταρικό επιθηλιακό σχηματισμό, οδηγώντας σε ανάπτυξη καρκινογένεσης [36-38]. Το δεύτερο μοντέλο λαμβάνει υπόψη το γενετικό υπόβαθρο του ξενιστή, που επιτρέπει την εντερική δυσβίωση, προκαλώντας προφλεγμονώδεις αποκρίσεις και επιθηλιακό κυτταρικό μετασχηματισμό που τελικά οδηγεί σε καρκίνο.

Μεμονωμένα βακτήρια που έχουν κατηγορηθεί περισσότερο στη βιβλιογραφία ως καρκινογόνα είναι το *Bacteroides fragilis*, το *Fusobacterium nucleatum*, το *Streptococcus gallolyticus*, το *Escherichia coli* και το *Enterococcus faecalis*, το καθένα με διαφορετικό μηχανισμό δράσης, κυρίως μέσω των μεταβολιτών και των τοξινών τους [27].

Πλέον, χαρακτηρίζεται ως αδιαμφισβήτητη από την ερευνητική κοινότητα η σημασία του εντερικού μικροβιοκόσμου στην ανταπόκριση στις αντικαρκινικές θεραπείες, όπως και στην τοξικότητα αυτών.

Συγκεκριμένα, για την ανοσοθεραπεία και την αποτελεσματικότητα των αναστολέων σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού (Immune Checkpoint Inhibitor- ICIs) με αντι-PD-1 στοχευόμενη στους επιθηλιακούς όγκους θεραπεία, έρευνες επιβεβαιώνουν τον κεντρικό ρόλο της απομακρυσμένης ρύθμισης των λεμφικών και μυελοειδικών κυττάρων από τον εντερικό μικροβιόκοσμο[67, 68]. Η εντερική δυσβίωση, η οποία ευθύνεται για την πρωτογενή αντίσταση στους ICIs, προκύπτει είτε από τη νεοπλασματική νόσο αυτή καθ' αυτή είτε από την ταυτόχρονη λήψη αντιβιοτικών[68, 71]. Μελέτες σε ζωικά πρότυπα, έδειξαν αδυναμία ανταπόκρισης στην αντινεοπλασματική θεραπεία όταν τα ποντίκια υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση κοπράνων από ασθενείς που δεν είχαν ανταποκριθεί στη θεραπεία, σε αντίθεση με τα ποντίκια που έλαβαν κόπρανα από ανταποκριθέντες ασθενείς και κατ' επέκταση εμφάνισαν και τα ίδια καλή ανταπόκριση στη θεραπεία[68]. Επιπλέον, μελέτες εξηγούν την επαγόμενη από αντιβιοτικά μείωση της ανοσοθεραπευτικής απόκρισης σε ζωικά πρότυπα λόγω μειωμένου φορτίου μικροοργανισμών στο έντερο[76]. Πλέον είναι ευρέως γνωστό ότι η τοξικότητα κατά του CTLA-4 επηρεάζεται από την βακτηριακή σύνθεση του εντέρου.

Οι περισσότερες μελέτες αναφορικά με την επίδραση του εντερικού μικροβιοκόσμου στην αποτελεσματικότητα της ακτινοθεραπείας έχουν πραγματοποιηθεί σε ζωικά πρότυπα. Μέχρι σήμερα, δεν έχουν δημοσιευθεί μελέτες σχετικά με τη δυνητική επίδραση της σύνθεσης του εντερικού μικροβιοκόσμου στην ακτινοευαισθησία, συγκεκριμένα μέσω ρύθμισης της αυτοφαγίας, παρ' ότι σε θεωρητικό επίπεδο αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση[81, 82, 84]. Μεγαλύτερη έρευνα έχει πραγματοποιηθεί στη συσχέτιση εντερικού μικροβιοκόσμου με την ακτινοεπαγόμενη εντεροπάθεια. Παρατηρείται αύξηση των γενών *Clostridium*, *Roseburia* και *Phascolarctobacterium* και μειωμένα του *Propionibacterium* spp, σε ασθενείς με ακτινοεπαγόμενη εντεροπάθεια [86, 87]. Η ιονίζουσα ακτινοβολία αδιαμφισβήτητα είναι υπεύθυνη για την εντερική δυσβίωση σε αρκετές παθολογικές καταστάσεις όπως μετά από πυελική ακτινοβολήση με επαγόμενη από την ακτινοβολία εντεροτοξικότητα[86-88]. Συνεπώς, η εντερική δυσβίωση θα μπορούσε να αποτελέσει χρήσιμο βιολογικό δείκτη για την πρόβλεψη και πρόληψη της ακτινοεπαγόμενης εντεροπάθειας ή άλλων επιπλοκών της θεραπείας.

Αναφορικά με την χειρουργική αντιμετώπιση νεοπλασιών, ο εντερικός μικροβιοκόσμος φαίνεται να έχει καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα της εν λόγω θεραπείας, πιθανώς λόγω της άμεσης αλληλεπίδρασης μεταξύ των μικροοργανισμών του εντέρου και της θέσης εκτομής. Ο δυναμικός ρόλος της σύνθεσης του εντερικού μικροβιοκόσμου στην εμφάνιση επιπλοκών μετά από εντερική χειρουργική εκτομή, όπως είναι αυτή της διαρροής από αναστόμωση, αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο από την ιατρική κοινότητα[93-97, 102-107]. Μελέτες συσχετίζουν την ανάπτυξη διαρροών λόγω αναστομώσεων με χαμηλή βακτηριακή ποικιλομορφία, με αυξημένα ποσά των *Bacteroidaceae* και *Lachnospiraceae* και μειωμένα ποσά του *Prevotella oralis* [111]. Οι επικουρικές θεραπείες ή το χειρουργικό στρες μπορούν να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση λοιμογόνων βακτηρίων, υπεύθυνων για βλάβες ιστών, υποστηρίζοντας έτσι τον πιθανό ρόλο του εντερικού μικροβιοκόσμου στις θεραπευτικές διαταραχές των εντερικών αναστομώσεων[113]. Μελέτη σε ζωικά πρότυπα έδειξε ότι η χορήγηση κλυσμάτων βουτυρικού μετεγχειρητικά, έπειτα από αριστερή κολεκτομή, ενισχύει την αναστομωτική επούλωση παρουσιάζοντας αυξημένη σύνθεση και ωρίμανση κολλαγόνου [115, 116] πιθανώς λόγω αναστολής των παθογόνων *Pseudomonas aeruginosa* [117]. Άλλες μελέτες εστίασαν στην παρεμπόδιση της δραστηριότητας κολλαγενάσης ως μέτρο αποφυγής των διαρροών, μέσω εκκρίωσης του *E. faecalis* από το παχύ έντερο χρησιμοποιώντας είτε

αντιβιοτικά είτε καταστέλλοντας φαρμακολογικά τη δραστικότητα κολλαγενάσης μέσω καταστολής της MMP9[118].

Όσον αφορά τη χημειοθεραπεία, ο εντερικός μικροβιόκοσμος φαίνεται πως εμπλέκεται στην αποτελεσματικότητα της μέσω πολλαπλών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένων του μεταβολισμού ξενοβιοτικών ουσιών, των ανοσολογικών αλληλεπιδράσεων και της τροποποιημένης σύνθεσης βακτηριακών κοινοτήτων[119]. Ο εντερικός μικροβιόκοσμος είναι σε θέση να τροποποιήσει άμεσα τις ξενοβιοτικές ουσίες όπως είναι τα αντικαρκινικά φάρμακα ή να επιδράσει στον μεταβολισμό τους. Η εντερική δυσβίωση φαίνεται πως αποτελεί ικανή συνθήκη για αύξηση της τοξικότητας της χημειοθεραπευτικής ουσίας, και μείωση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας [120-123, 137-141]. Η αφθονία διάφορων ευκαιριακών παθογόνων βακτηρίων στο έντερο όπως είναι τα *Bacteroides*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium* spp., έχουν σχετιστεί με αυξημένη διαρροϊκή συμπτωματολογία κατά την περίοδο χημειοθεραπείας λόγω συσσώρευσης του ενεργού μεταβολίτη της ιρινοτεκάνης (SN-38) στο έντερο [120, 122]. Η αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας μπορεί επίσης να διαμορφωθεί άμεσα από τα βακτήρια τα οποία βρίσκονται μέσα στον όγκο, μέσω των ενεργών μεταβολικών λειτουργιών τους, πράγμα όμως που μέχρι στιγμής έχει επιβεβαιωθεί μόνο σε *in vitro* μελέτες και σε ζωικά πρότυπα [85, 142-145]. Η παρουσία, όμως, ορισμένων βακτηρίων και ο ρόλος τους στη δραστικότητα της αντικαρκινικής αγωγής με γεμισταβίνη έχουν επιβεβαιωθεί και στον άνθρωπο[143, 144].

Ο ρόλος της δίαιτας στη σύσταση του εντερικού μικροβιοκόσμου είναι καθοριστικός. Κατ' επέκταση, η διατροφή αποτελεί βασικό παράγοντα στον οποίο μπορεί να πραγματοποιηθεί παρέμβαση για να μειωθεί ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου παχέος εντέρου.

Κλινικές μελέτες σε ανθρώπους όπως και σε ζωικά πρότυπα δείχνουν ότι η ολοένα και μεγαλύτερη προσκόλληση σε μια δυτικού τύπου διατροφή εξηγεί την αύξηση κινδύνου για καρκίνο παχέος εντέρου.

Η αυξημένη κατανάλωση φυτικών ινών, πάνω από 25-30γρ ανά ημέρα, όπως ορίζουν οι συστάσεις, συσχετίζεται με μείωση της πιθανότητας ανάπτυξης παθήσεων του εντέρου μη φλεγμονώδους αιτιολογίας, ιδιαίτερα του καρκίνου του παχέος εντέρου [149]. Οι φυτικές ίνες υφίστανται ζύμωση από τα βακτήρια του εντέρου, διεργασία που αποδίδει ως τελικά προϊόντα: λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs) και άλλα παραπροϊόντα [150].

Συγκεκριμένα το βουτυρικό φαίνεται να ασκεί την ισχυρότερη προστατευτική δράση σε σχέση με τα υπόλοιπα SCFAs κατά του καρκίνου παχέος εντέρου, μέσω πολλαπλών πιθανών μηχανισμών [152-154].

Το κόκκινο και το επεξεργασμένο κρέας περιέχουν μια σειρά προ-καρκινογόνων συστατικών, τα οποία δρουν είτε άμεσα είτε έμμεσα, μέσω των τελικών μεταβολιτών τους στην αύξηση κινδύνου για καρκίνο παχέος εντέρου, μέσω πολλαπλών μηχανισμών[158-162].

Η αυξημένη κατανάλωση λίπους φαίνεται να ευνοεί τη δημιουργία προ-καρκινωματώδους περιβάλλοντος. Τα αυξημένα ποσά λίπους στη διατροφή διεγείρουν την ενεργοποίηση αντι-αποπτωτικών και γενotoξικών μηχανισμών μέσω της δημιουργίας δευτερογενών χολικών οξέων και του επαγόμενου από δυσλιπιδαιμία οξειδωτικού στρες[164, 165].

Ο βακτηριακός μεταβολισμός του παχέος εντέρου ανταποκρίνεται γρήγορα στη διατροφική τροποποίηση και οι βακτηριακές μεταβολικές αλλαγές συνοδεύονται από αλλαγές στο βλεννογόνο, γνωστές για την αύξηση/ μείωση στην ευαισθησία σε νεοπλασματικές εξαλλαγές και στον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου σε ένα χρονικό διάστημα μόλις 2 εβδομάδων.

Ο εντερικός μικροβιόκοσμος διερευνήθηκε, επιπλέον, και στα πλαίσια θεραπευτικής παρέμβασης. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει μια πρόσφατη μελέτη στην οποία εντοπίστηκαν 20 βακτηριακοί δείκτες γονιδίων σε ασθενείς με αδενωματώδεις πολύποδες παχέος εντέρου και σε ασθενείς με καρκίνο, οι οποίοι δεν βρέθηκαν στα υγιή άτομα της ομάδας ελέγχου[197]. Η μελέτη επιβεβαίωσε 4 από τα βακτηριακά αυτά γονίδια που εμπλουτίστηκαν στον εντερικό μικροβιόκοσμο των ασθενών, σε μελέτες με διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες ως προς την εθνικότητα (Δανία, Γαλλία και Αυστρία), με καρκίνο παχέος εντέρου πρώιμου σταδίου (στάδιο I-II), επισημαίνοντας έτσι τον πιθανό ρόλο των βιοδεικτών στα κόπρανα για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου παχέος εντέρου.

Αναφορικά με την χορήγηση προβιοτικών σε ογκολογικούς ασθενείς, φάνηκε ότι παρουσιάζει ευεργετική επίδραση, ακόμα κι αν οι μηχανισμοί στους οποίους βασίζονται οι αντικαρκινικές τους ιδιότητες δεν έχουν πλήρως αποσαφηνιστεί[180]. Οι περισσότερες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην πιθανή ικανότητα των προβιοτικών να αναστέλλουν την ογκογένεση ή την τοξικότητα που σχετίζεται με τη θεραπεία του καρκίνου[181-183], ωστόσο μόνο περιορισμένος αριθμός μελετών έχει αξιολογήσει το δυναμικό των

προβιοτικών στην ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των αντineοπλασματικών θεραπειών[184].

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η γνώση μας σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις μικροοργανισμών-ξενιστή και τον αντίκτυπο τους στην διαδικασία της καρκινογένεσης είναι ακόμη στα σπάργανα καθώς βρισκόμαστε στη μετάβαση της ερευνητικής προσπάθειας από το «παρατηρώντας το βακτήριο» στην «κατανόηση της επίδρασης συνολικά του εντερικού μικροβιοκόσμου».

Η αφθονία συγκεκριμένων ειδών βακτηρίων φαίνεται να προδιαθέτει σε αυξημένο κίνδυνο εντερικής ογκογένεσης, το καθένα με διαφορετικό μηχανισμό δράσης. Μερικοί ερευνητές, όμως, δεν δέχονται αυτή τη σκέψη και αναφέρουν ότι οι βακτηριακές κοινότητες συνολικά, στο πλαίσιο εντερικής δυσβίωσης, είναι αυτές που έχουν ικανό ογκογόνο χαρακτήρα, και όχι μεμονωμένα βακτήρια. Κι οι δυο απόψεις μπορούν να επηρεάσουν εξίσου ως προς την εξαγωγή ενός συνολικά αποδεκτού συμπεράσματος.

Η διερεύνηση των μικροοργανισμών που αποικίζουν το έντερο έχει προσελκύσει μεγάλη προσοχή την τελευταία δεκαετία, στο πλαίσια πρόληψης αλλά και αντιμετώπισης διάφορων νοσημάτων, όπως είναι και ο καρκίνος παχέος εντέρου. Μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον αυτή τη στιγμή υπάρχει στη διερεύνηση της επίδρασης του εντερικού μικροβιοκόσμου στη διαδικασία καρκινογένεσης, όπως επίσης και στους μηχανισμούς δράσης των αντικαρκινικών θεραπειών. Σκοπός του σύγχρονου πεδίου έρευνας αποτελεί η διαμόρφωση, με ποικίλους τρόπους, της σύστασης του εντερικού μικροβιοκόσμου, έτσι ώστε να ευνοείται η αποτελεσματικότητα των αντικαρκινικών θεραπειών και να μειώνονται οι τοξικές επιδράσεις τους.

Η μεγαλύτερη προσκόλληση σε ένα δυτικό πρότυπο διατροφής, αυξημένο σε υδρογονωμένα και τρανς λίπη, σε απλά σάκχαρα και μειωμένο σε φυτικές ίνες αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου παχέος εντέρου. Όμως, η δυτικοποίηση οδηγεί επιπλέον σε αλλαγές περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως είναι τα επίπεδα υπερϊώδους ακτινοβολίας, περιβαλλοντικής μόλυνσης-ρύπων, που θα μπορούσαν επίσης να αυξήσουν την έκθεση του ατόμου σε καρκινογόνες ουσίες. Συνεπώς, το άτομο πρέπει να λαμβάνει υπόψη του συνολικά την μείωση των επιγενετικών παραγόντων, ικανών να ευνοήσουν την νεοπλασματική διαδικασία με έμφαση στην προσκόλληση σε μια Μεσογειακού τύπου διατροφή.

Στην κλινική πράξη, η ισορροπημένη διατροφή βασισμένη σε ποικιλία τροφίμων φυτικής προέλευσης, πλούσιων σε φυτικές ίνες και μειωμένης επεξεργασίας, στα πλαίσια πρόληψης της εμφάνισης και της επανεμφάνισης καρκίνου θα πρέπει να αποτελεί βασικό μέλημα των ατόμων. Όμως, όταν το άτομο νοσήσει, τότε η διατροφική παρέμβαση πρέπει να τυγχάνει πλήρους εξατομίκευσης. Για τη διατροφική διαχείριση του ογκολογικού ασθενή λαμβάνεται υπόψη η εντόπιση του καρκίνου, τυχόν μεταστάσεις, συνολικά το ιατρικό ιστορικό του ασθενούς, η φάση και μέθοδος θεραπείας στην οποία υποβάλλεται (π.χ. στην αρχή/ τέλος συνεδριών χημειοθεραπείας και έπεται επικουρική ακτινοθεραπεία), όπως και η συνοδός συμπτωματολογία.

Καταλήγουμε έτσι στο συμπέρασμα ότι το εντερικό περιβάλλον είναι αυτό το οποίο καθορίζει τον συνολικό κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου, παρά μεμονωμένα ένα βακτήριο, ένας μεταβολίτης ή ένα θρεπτικό συστατικό, όπως θεωρείτο στα αρχικά στάδια διερεύνησης των εντερικού μικροβιοκόσμου[170].

Η στρατηγική στόχευσης του εντερικού μικροβιοκόσμου με σκοπό την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των αντικαρκινικών θεραπειών, όπως και την αντιμετώπιση της συμπτωματολογίας, αποτελεί πολλά υποσχόμενη προσέγγιση [71, 77]. Μια εξ αυτών των μεθόδων αποτελούν η χρήση προβιοτικών, πρεβιοτικών και των συμβιωτικών, προσεγγίσεις που στοχεύουν στην πρόληψη της εντερικής δυσβίωσης και συνεπώς της ανάπτυξης προκαρκινωματωδών βλαβών, όπως επίσης και στην ενίσχυση της αποτελεσματικότητας αντικαρκινικών θεραπειών και μείωση της επιβλαβούς συμπτωματολογίας αυτών.

Παρά το γεγονός ότι τα οφέλη των προβιοτικών και πρεβιοτικών για την υγεία των ατόμων φαίνονται να είναι πολλά υποσχόμενα, ωστόσο είναι αμφίβολο κατά πόσο οι δράσεις τους μπορούν να αντισταθμίσουν εκείνες μιας «ισορροπημένης» διατροφής, με την οποία εξελίχθηκε ουσιαστικά ο γονιδιώμας μας. Επίσης αμφίβολο γεγονός αποτελεί η ασφάλεια, ιδίως των προβιοτικών, όταν χορηγούνται σε ένα περιβάλλον δυσβίωσης - απρόβλεπτο ως προς τον τρόπο συμπεριφοράς των βακτηρίων στον καινούριο «άποικο».

Η μέθοδος στόχευσης του εντερικού μικροβιοκόσμου δεν έχει ακόμα εδραιωθεί διότι η ερευνητική κοινότητα, σύμφωνα με τα δεδομένα που έχουμε συλλέξει, έχει ολοκληρώσει μόνο προκλινικές μελέτες σε ζωικά πρότυπα με έκτοπους όγκους και τα οποία έχουν υποβληθεί σε διαδικασίες ανοσολογικής επεξεργασίας πριν από τη μεταφορά τους στον

νέο ξενιστή. Αυτά τα μοντέλα δεν αντικατοπτρίζουν επαρκώς τις συνεχώς μεταβαλλόμενες αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο ανοσολογικό σύστημα και τον όγκο κατά τη διάρκεια διαδικασιών εξάλειψης του καρκίνου, στα στάδια ισορροπίας και διαφυγής. Για μια βαθύτερη κατανόηση των υποκείμενων μοριακών μηχανισμών, πιθανώς θα χρειαστούν εξανθρωπισμένα ζωικά μοντέλα ή μοντέλα αυθόρμητης ογκογένεσης[71].

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hillman, E.T., et al., *Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract*. Microbes and environments, 2017. **32**(4): p. 300-313.
2. Bernstein, H., et al., *Bile acids as endogenous etiologic agents in gastrointestinal cancer*. World J Gastroenterol, 2009. **15**(27): p. 3329-40.
3. Saus, E., et al., *Microbiome and colorectal cancer: Roles in carcinogenesis and clinical potential*. Mol Aspects Med, 2019.
4. Wong, A.C. and M. Levy, *New Approaches to Microbiome-Based Therapies*. mSystems, 2019. **4**(3).
5. Vipperla, K. and S.J. O'Keefe, *Diet, microbiota, and dysbiosis: a 'recipe' for colorectal cancer*. Food & function, 2016. **7**(4): p. 1731-1740.
6. Cani, P.D., *Human gut microbiome: hopes, threats and promises*. Gut, 2018. **67**(9): p. 1716-1725.
7. Hillman, E.T., et al., *Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract*. Microbes Environ, 2017. **32**(4): p. 300-313.
8. Guarner, F. and J.R. Malagelada, *Gut flora in health and disease*. Lancet, 2003. **361**(9356): p. 512-9.
9. Cani, P.D. and B.F. Jordan, *Gut microbiota-mediated inflammation in obesity: a link with gastrointestinal cancer*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018. **15**(11): p. 671-682.
10. Gaci, N., et al., *Archaea and the human gut: new beginning of an old story*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(43): p. 16062-78.
11. Cadwell, K., *The virome in host health and disease*. Immunity, 2015. **42**(5): p. 805-13.
12. Columpsi, P., et al., *Beyond the gut bacterial microbiota: The gut virome*. J Med Virol, 2016. **88**(9): p. 1467-72.
13. Φ. Γύπας, Α.Μ., *Τεχνικές μελέτης των φυσιολογικών μικροχλωρίδων του ανθρώπου μεταγονιδιατική*. ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ, 2014. **59**(2): p. 7-16.
14. WHO, *Colorectal Cancer Statistics* GLOBOCAN Database, 2018.
15. Araghi, M., et al., *Changes in colorectal cancer incidence in seven high-income countries: a population-based study*. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2019. **4**(7): p. 511-518.
16. al, H.S.e., *Carcinoma of Colon and rectum στο tumors of Digestive System, Classification of tumors. Pathology and genetics, Hamilton SR, Aaltonen LA. editors 2000 World Health Organization, Lyon, IARC 2000: p. 101-119*
17. Snover, D.C., et al., *Serrated polyps of the large intestine: a morphologic and molecular review of an evolving concept*. Am J Clin Pathol, 2005. **124**(3): p. 380-91.
18. Day D, J.J., Price A, Shepherd N, Sloan J, Talbot I, Warren B, Williams, *Adenoma*. Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology, 2003(Blackwell Publishing): p. 556-566.
19. Masi, G., et al., *Randomized trial of two induction chemotherapy regimens in metastatic colorectal cancer: an updated analysis*. J Natl Cancer Inst, 2011. **103**(1): p. 21-30.
20. Meriggi, F., P. Bertocchi, and A. Zaniboni, *Management of potentially resectable colorectal cancer liver metastases*. World J Gastrointest Surg, 2013. **5**(5): p. 138-45.
21. Vogelstein, B., et al., *Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development*. New England Journal of Medicine, 1988. **319**(9): p. 525-532.

22. Λάζαρης, D.A., *Σημειώσεις φοιτητών για το μεταπτυχιακό "Νεοπλασματική νόσος στον άνθρωπο"*. 2019.
23. Chen, J., J.C. Domingue, and C.L. Sears, *Microbiota dysbiosis in select human cancers: Evidence of association and causality*. Semin Immunol, 2017. **32**: p. 25-34.
24. Shiotani, A., S. Fukushima, and H. Matsumoto, *[Carcinogenesis and Gut Microbiota]*. Gan To Kagaku Ryoho, 2019. **46**(2): p. 199-204.
25. Tjalsma, H., et al., *A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects*. Nature Reviews Microbiology, 2012. **10**(8): p. 575-582.
26. Thiele Orberg, E., et al., *The myeloid immune signature of enterotoxigenic Bacteroides fragilis-induced murine colon tumorigenesis*. Mucosal immunology, 2017. **10**(2): p. 421-433.
27. Sears, C.L. and W.S. Garrett, *Microbes, microbiota, and colon cancer*. Cell Host Microbe, 2014. **15**(3): p. 317-28.
28. Chung, L., et al., *Bacteroides fragilis Toxin Coordinates a Pro-carcinogenic Inflammatory Cascade via Targeting of Colonic Epithelial Cells*. Cell Host Microbe, 2018. **23**(3): p. 421.
29. Chung, L., et al., *Bacteroides fragilis Toxin Coordinates a Pro-carcinogenic Inflammatory Cascade via Targeting of Colonic Epithelial Cells*. Cell Host Microbe, 2018. **23**(2): p. 203-214 e5.
30. Tosolini, M., et al., *Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, th2, treg, th17) in patients with colorectal cancer*. Cancer Res, 2011. **71**(4): p. 1263-71.
31. Rhee, K.J., et al., *Induction of persistent colitis by a human commensal, enterotoxigenic Bacteroides fragilis, in wild-type C57BL/6 mice*. Infect Immun, 2009. **77**(4): p. 1708-18.
32. Wick, E.C., et al., *Stat3 activation in murine colitis induced by enterotoxigenic Bacteroides fragilis*. Inflamm Bowel Dis, 2014. **20**(5): p. 821-34.
33. Proença, M.A., et al., *Relationship between Fusobacterium nucleatum, inflammatory mediators and microRNAs in colorectal carcinogenesis*. World journal of gastroenterology, 2018. **24**(47): p. 5351-5365.
34. Kostic, A.D., et al., *Fusobacterium nucleatum potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment*. Cell host & microbe, 2013. **14**(2): p. 207-215.
35. Hara, H., et al., *The NLRP6 Inflammasome Recognizes Lipoteichoic Acid and Regulates Gram-Positive Pathogen Infection*. Cell, 2018. **175**(6): p. 1651-1664 e14.
36. Hajishengallis, G., R.P. Darveau, and M.A. Curtis, *The keystone-pathogen hypothesis*. Nat Rev Microbiol, 2012. **10**(10): p. 717-25.
37. Lamont, R.J. and G. Hajishengallis, *Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease*. Trends Mol Med, 2015. **21**(3): p. 172-83.
38. Maloy, K.J. and F. Powrie, *Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease*. Nature, 2011. **474**(7351): p. 298-306.
39. Temraz, S., et al., *Gut Microbiome: A Promising Biomarker for Immunotherapy in Colorectal Cancer*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(17).
40. Johnson, C.H., et al., *Metabolism links bacterial biofilms and colon carcinogenesis*. Cell Metab, 2015. **21**(6): p. 891-7.
41. Raskov, H., et al., *Bacterial biofilm formation inside colonic crypts may accelerate colorectal carcinogenesis*. Clinical and translational medicine, 2018. **7**(1): p. 30-30.

42. Dejea, C., E. Wick, and C.L. Sears, *Bacterial oncogenesis in the colon*. Future Microbiol, 2013. **8**(4): p. 445-60.
43. Preuss, I., et al., *Pasteurella multocida toxin is a potent activator of anti-apoptotic signalling pathways*. Cell Microbiol, 2010. **12**(8): p. 1174-85.
44. Orth, J.H. and K. Aktories, *Molecular biology of Pasteurella multocida toxin*. Curr Top Microbiol Immunol, 2012. **361**: p. 73-92.
45. Orth, J.H., et al., *Pasteurella multocida toxin activation of heterotrimeric G proteins by deamidation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(17): p. 7179-84.
46. Elwell, C., et al., *Escherichia coli CdtB mediates cytolethal distending toxin cell cycle arrest*. Infect Immun, 2001. **69**(5): p. 3418-22.
47. Jinadasa, R.N., et al., *Cytolethal distending toxin: a conserved bacterial genotoxin that blocks cell cycle progression, leading to apoptosis of a broad range of mammalian cell lineages*. Microbiology (Reading), 2011. **157**(Pt 7): p. 1851-1875.
48. Arthur, J.C., et al., *Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota*. Science, 2012. **338**(6103): p. 120-3.
49. Cuevas-Ramos, G., et al., *Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(25): p. 11537-42.
50. Nougayrède, J.P., et al., *Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells*. Science, 2006. **313**(5788): p. 848-51.
51. Miraglia, A.G., et al., *Cytotoxic necrotizing factor 1 prevents apoptosis via the Akt/IkappaB kinase pathway: role of nuclear factor-kappaB and Bcl-2*. Mol Biol Cell, 2007. **18**(7): p. 2735-44.
52. Samba-Louaka, A., et al., *The enteropathogenic Escherichia coli effector Cif induces delayed apoptosis in epithelial cells*. Infect Immun, 2009. **77**(12): p. 5471-7.
53. Wu, S., et al., *A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses*. Nat Med, 2009. **15**(9): p. 1016-22.
54. Toprak, N.U., et al., *A possible role of Bacteroides fragilis enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer*. Clin Microbiol Infect, 2006. **12**(8): p. 782-6.
55. Wu, S., et al., *Bacteroides fragilis enterotoxin cleaves the zonula adherens protein, E-cadherin*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(25): p. 14979-84.
56. Wu, S., et al., *Bacteroides fragilis enterotoxin induces c-Myc expression and cellular proliferation*. Gastroenterology, 2003. **124**(2): p. 392-400.
57. Wu, S., et al., *Bacteroides fragilis enterotoxin induces intestinal epithelial cell secretion of interleukin-8 through mitogen-activated protein kinases and a tyrosine kinase-regulated nuclear factor-kappaB pathway*. Infect Immun, 2004. **72**(10): p. 5832-9.
58. Gologan, A. and A.R. Sepulveda, *Microsatellite instability and DNA mismatch repair deficiency testing in hereditary and sporadic gastrointestinal cancers*. Clin Lab Med, 2005. **25**(1): p. 179-96.
59. Ashktorab, H., et al., *A meta-analysis of MSI frequency and race in colorectal cancer*. Oncotarget, 2016. **7**(23): p. 34546-57.
60. Bupathi, M. and C. Wu, *Biomarkers for immune therapy in colorectal cancer: mismatch-repair deficiency and others*. J Gastrointest Oncol, 2016. **7**(5): p. 713-720.
61. Criscitiello, C., M. Santangelo, and F. Loupakis, *Cancer Immunotherapy and Identification of Prognostic and Predictive Biomarkers*. Biomed Res Int, 2018. **2018**: p. 5184075.

62. Chang, L., et al., *Microsatellite Instability: A Predictive Biomarker for Cancer Immunotherapy*. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2018. **26**(2): p. e15-e21.
63. *FDA Grants Accelerated approval to pembrolizumab for First Tissue/Site Agnostic Indication*. U.S. Food and Drug Administration., (accessed on 14 January 2019).
64. Larkin, J., et al., *Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma*. N Engl J Med, 2015. **373**(1): p. 23-34.
65. Antonia, S.J., et al., *Nivolumab alone and nivolumab plus ipilimumab in recurrent small-cell lung cancer (CheckMate 032): a multicentre, open-label, phase 1/2 trial*. Lancet Oncol, 2016. **17**(7): p. 883-895.
66. Overman, M.J., et al., *Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer*. J Clin Oncol, 2018. **36**(8): p. 773-779.
67. Gopalakrishnan, V., et al., *Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients*. Science (New York, N.Y.), 2018. **359**(6371): p. 97-103.
68. Routy, B., et al., *Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors*. Science, 2018. **359**(6371): p. 91-97.
69. Sivan, A., et al., *Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy*. Science, 2015. **350**(6264): p. 1084-9.
70. Vetizou, M., et al., *Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota*. Science, 2015. **350**(6264): p. 1079-84.
71. Villegier, R., et al., *Intestinal Microbiota: A Novel Target to Improve Anti-Tumor Treatment?* Int J Mol Sci, 2019. **20**(18).
72. Chaput, N., et al., *Baseline gut microbiota predicts clinical response and colitis in metastatic melanoma patients treated with ipilimumab*. Ann Oncol, 2017. **28**(6): p. 1368-1379.
73. Matson, V., et al., *The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients*. Science, 2018. **359**(6371): p. 104-108.
74. Tanoue, T., et al., *A defined commensal consortium elicits CD8 T cells and anti-cancer immunity*. Nature, 2019. **565**(7741): p. 600-605.
75. Paulos, C.M., et al., *Microbial translocation augments the function of adoptively transferred self/tumor-specific CD8⁺ T cells via TLR4 signaling*. J Clin Invest, 2007. **117**(8): p. 2197-204.
76. Mukaida, N., *Intestinal microbiota: unexpected alliance with tumor therapy*. Immunotherapy, 2014. **6**(3): p. 231-3.
77. Pitt, J.M., et al., *Fine-Tuning Cancer Immunotherapy: Optimizing the Gut Microbiome*. Cancer Res, 2016. **76**(16): p. 4602-7.
78. Roy, S. and G. Trinchieri, *Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy*. Nat Rev Cancer, 2017. **17**(5): p. 271-285.
79. Baskar, R., et al., *Biological response of cancer cells to radiation treatment*. Front Mol Biosci, 2014. **1**: p. 24.
80. Cui, M., et al., *Circadian Rhythm Shapes the Gut Microbiota Affecting Host Radiosensitivity*. Int J Mol Sci, 2016. **17**(11).
81. Cui, M., et al., *Faecal microbiota transplantation protects against radiation-induced toxicity*. EMBO Mol Med, 2017. **9**(4): p. 448-461.
82. Kuwahara, Y., et al., *Enhancement of autophagy is a potential modality for tumors refractory to radiotherapy*. Cell Death Dis, 2011. **2**: p. e177.
83. Digomann, D., et al., *The CD98 Heavy Chain Is a Marker and Regulator of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Radiosensitivity*. Clin Cancer Res, 2019. **25**(10): p. 3152-3163.

84. Digomann, D., A. Linge, and A. Dubrovskaya, *SLC3A2/CD98hc, autophagy and tumor radioresistance: a link confirmed*. Autophagy, 2019. **15**(10): p. 1850-1851.
85. Yu, T., et al., *Fusobacterium nucleatum Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy*. Cell, 2017. **170**(3): p. 548-563 e16.
86. Ferreira, M.R., et al., *Microbiota and radiation-induced bowel toxicity: lessons from inflammatory bowel disease for the radiation oncologist*. Lancet Oncol, 2014. **15**(3): p. e139-47.
87. Reis Ferreira, M., et al., *Microbiota- and Radiotherapy-Induced Gastrointestinal Side-Effects (MARS) Study: A Large Pilot Study of the Microbiome in Acute and Late-Radiation Enteropathy*. Clin Cancer Res, 2019. **25**(21): p. 6487-6500.
88. Nam, Y.D., et al., *Impact of pelvic radiotherapy on gut microbiota of gynecological cancer patients revealed by massive pyrosequencing*. PLoS One, 2013. **8**(12): p. e82659.
89. Wang, A., et al., *Gut microbial dysbiosis may predict diarrhea and fatigue in patients undergoing pelvic cancer radiotherapy: a pilot study*. PLoS One, 2015. **10**(5): p. e0126312.
90. Olivas, A.D., et al., *Intestinal tissues induce an SNP mutation in Pseudomonas aeruginosa that enhances its virulence: possible role in anastomotic leak*. PLoS One, 2012. **7**(8): p. e44326.
91. Al-Qadami, G., et al., *Gut microbiota: implications for radiotherapy response and radiotherapy-induced mucositis*. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2019. **13**(5): p. 485-496.
92. Hekmatshoar, Y., et al., *The impact of tumor and gut microbiotas on cancer therapy: Beneficial or detrimental?* Life Sci, 2019. **233**: p. 116680.
93. Ashraf, S.Q., et al., *The economic impact of anastomotic leakage after anterior resections in English NHS hospitals: are we adequately remunerating them?* Colorectal Dis, 2013. **15**(4): p. e190-8.
94. Buchs, N.C., et al., *Incidence, consequences, and risk factors for anastomotic dehiscence after colorectal surgery: a prospective monocentric study*. Int J Colorectal Dis, 2008. **23**(3): p. 265-70.
95. Goto, S., et al., *Multicenter analysis of impact of anastomotic leakage on long-term oncologic outcomes after curative resection of colon cancer*. Surgery, 2017. **162**(2): p. 317-324.
96. Hammond, J., et al., *The burden of gastrointestinal anastomotic leaks: an evaluation of clinical and economic outcomes*. J Gastrointest Surg, 2014. **18**(6): p. 1176-85.
97. Mirnezami, A., et al., *Increased local recurrence and reduced survival from colorectal cancer following anastomotic leak: systematic review and meta-analysis*. Ann Surg, 2011. **253**(5): p. 890-9.
98. Alves, A., et al., *Factors associated with clinically significant anastomotic leakage after large bowel resection: multivariate analysis of 707 patients*. World J Surg, 2002. **26**(4): p. 499-502.
99. Borowski, D.W., et al., *Volume-outcome analysis of colorectal cancer-related outcomes*. Br J Surg, 2010. **97**(9): p. 1416-30.
100. Frasson, M., et al., *Risk factors for anastomotic leak and postoperative morbidity and mortality after elective right colectomy for cancer: results from a prospective, multicentric study of 1102 patients*. Int J Colorectal Dis, 2016. **31**(1): p. 105-14.
101. Hyman, N., et al., *Anastomotic leaks after intestinal anastomosis: it's later than you think*. Ann Surg, 2007. **245**(2): p. 254-8.

102. Chen, E.B., et al., *Current State of Knowledge on Implications of Gut Microbiome for Surgical Conditions*. J Gastrointest Surg, 2018. **22**(6): p. 1112-1123.
103. Alverdy, J.C., et al., *The gut microbiome and the mechanism of surgical infection*. Br J Surg, 2017. **104**(2): p. e14-e23.
104. Gaines, S., et al., *Gut microbiome influences on anastomotic leak and recurrence rates following colorectal cancer surgery*. Br J Surg, 2018. **105**(2): p. e131-e141.
105. Guyton, K. and J.C. Alverdy, *The gut microbiota and gastrointestinal surgery*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017. **14**(1): p. 43-54.
106. Hajjar, R., et al., *Current evidence on the relation between gut microbiota and intestinal anastomotic leak in colorectal surgery*. Am J Surg, 2019. **218**(5): p. 1000-1007.
107. Russ, A.J. and M.A. Casillas, *Gut Microbiota and Colorectal Surgery: Impact on Postoperative Complications*. Clin Colon Rectal Surg, 2016. **29**(3): p. 253-7.
108. Cohn, I., Jr., A. Gelb, and H.R. Hawthorne, *Strangulation obstruction; the effect of pre- and post- operative antibacterial agents*. Ann Surg, 1953. **138**(5): p. 748-58.
109. Cohn, I., Jr. and J.D. Rives, *Antibiotic protection of colon anastomoses*. Ann Surg, 1955. **141**(5): p. 707-17.
110. Rollins, K.E., et al., *The Role of Oral Antibiotic Preparation in Elective Colorectal Surgery: A Meta-analysis*. Ann Surg, 2019. **270**(1): p. 43-58.
111. van Praagh, J.B., et al., *Mucus Microbiome of Anastomotic Tissue During Surgery Has Predictive Value for Colorectal Anastomotic Leakage*. Ann Surg, 2019. **269**(5): p. 911-916.
112. Stern, J.R., et al., *Agent-based model of epithelial host-pathogen interactions in anastomotic leak*. J Surg Res, 2013. **184**(2): p. 730-8.
113. Seal, J.B., et al., *Agent-based dynamic knowledge representation of Pseudomonas aeruginosa virulence activation in the stressed gut: Towards characterizing host-pathogen interactions in gut-derived sepsis*. Theor Biol Med Model, 2011. **8**: p. 33.
114. Wu, L., et al., *Pseudomonas aeruginosa expresses a lethal virulence determinant, the PA-I lectin/adhesin, in the intestinal tract of a stressed host: the role of epithelia cell contact and molecules of the Quorum Sensing Signaling System*. Ann Surg, 2003. **238**(5): p. 754-64.
115. Bloemen, J.G., et al., *Butyrate enemas improve intestinal anastomotic strength in a rat model*. Dis Colon Rectum, 2010. **53**(7): p. 1069-75.
116. Mathew, A.J., et al., *The effect of butyrate on the healing of colonic anastomoses in rats*. J Invest Surg, 2010. **23**(2): p. 101-4.
117. Levison, M.E., *Effect of colon flora and short-chain fatty acids on growth in vitro of Pseudomonas aeruginosa and Enterobacteriaceae*. Infect Immun, 1973. **8**(1): p. 30-5.
118. Shogan, B.D., et al., *Collagen degradation and MMP9 activation by Enterococcus faecalis contribute to intestinal anastomotic leak*. Sci Transl Med, 2015. **7**(286): p. 286ra68.
119. Alexander, J.L., et al., *Gut microbiota modulation of chemotherapy efficacy and toxicity*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017. **14**(6): p. 356-365.
120. Guthrie, L., et al., *Human microbiome signatures of differential colorectal cancer drug metabolism*. NPJ Biofilms Microbiomes, 2017. **3**: p. 27.
121. Nakayama, H., et al., *Intestinal anaerobic bacteria hydrolyse sorivudine, producing the high blood concentration of 5-(E)-(2-bromovinyl)uracil that increases the level and toxicity of 5-fluorouracil*. Pharmacogenetics, 1997. **7**(1): p. 35-43.

122. Wallace, B.D., et al., *Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme*. Science, 2010. **330**(6005): p. 831-5.
123. Wang, J., et al., *Gut microbial modulation in the treatment of chemotherapy-induced diarrhea with Shenzhu Capsule*. BMC Complement Altern Med, 2019. **19**(1): p. 126.
124. Diasio, R.B., *Sorivudine and 5-fluorouracil; a clinically significant drug-drug interaction due to inhibition of dihydropyrimidine dehydrogenase*. Br J Clin Pharmacol, 1998. **46**(1): p. 1-4.
125. Brandi, G., et al., *Intestinal microflora and digestive toxicity of irinotecan in mice*. Clin Cancer Res, 2006. **12**(4): p. 1299-307.
126. Stringer, A.M., et al., *Gastrointestinal microflora and mucins may play a critical role in the development of 5-Fluorouracil-induced gastrointestinal mucositis*. Exp Biol Med (Maywood), 2009. **234**(4): p. 430-41.
127. Rigby, R.J., et al., *Intestinal bacteria are necessary for doxorubicin-induced intestinal damage but not for doxorubicin-induced apoptosis*. Gut Microbes, 2016. **7**(5): p. 414-23.
128. Stringer, A.M., et al., *Irinotecan-induced mucositis manifesting as diarrhoea corresponds with an amended intestinal flora and mucin profile*. Int J Exp Pathol, 2009. **90**(5): p. 489-99.
129. Fijlstra, M., et al., *Substantial decreases in the number and diversity of microbiota during chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis in a rat model*. Support Care Cancer, 2015. **23**(6): p. 1513-22.
130. Hong, B.Y., et al., *Chemotherapy-induced oral mucositis is associated with detrimental bacterial dysbiosis*. Microbiome, 2019. **7**(1): p. 66.
131. Montassier, E., et al., *Chemotherapy-driven dysbiosis in the intestinal microbiome*. Aliment Pharmacol Ther, 2015. **42**(5): p. 515-28.
132. Montassier, E., et al., *16S rRNA gene pyrosequencing reveals shift in patient faecal microbiota during high-dose chemotherapy as conditioning regimen for bone marrow transplantation*. Microb Ecol, 2014. **67**(3): p. 690-9.
133. Rooks, M.G., et al., *Gut microbiome composition and function in experimental colitis during active disease and treatment-induced remission*. ISME J, 2014. **8**(7): p. 1403-17.
134. van Vliet, M.J., et al., *Chemotherapy treatment in pediatric patients with acute myeloid leukemia receiving antimicrobial prophylaxis leads to a relative increase of colonization with potentially pathogenic bacteria in the gut*. Clin Infect Dis, 2009. **49**(2): p. 262-70.
135. Wang, Y., et al., *The administration of Escherichia coli Nissle 1917 ameliorates irinotecan-induced intestinal barrier dysfunction and gut microbial dysbiosis in mice*. Life Sci, 2019. **231**: p. 116529.
136. Liu, T., et al., *A More Robust Gut Microbiota in Calorie-Restricted Mice Is Associated with Attenuated Intestinal Injury Caused by the Chemotherapy Drug Cyclophosphamide*. mBio, 2019. **10**(2).
137. Iida, N., et al., *Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment*. Science, 2013. **342**(6161): p. 967-70.
138. Viaud, S., et al., *The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide*. Science, 2013. **342**(6161): p. 971-6.
139. Daillere, R., et al., *Enterococcus hirae and Barnesiella intestinihominis Facilitate Cyclophosphamide-Induced Therapeutic Immunomodulatory Effects*. Immunity, 2016. **45**(4): p. 931-943.

140. Kuczman, M.P., et al., *The impact of antibiotic usage on the efficacy of chemoimmunotherapy is contingent on the source of tumor-reactive T cells.* Oncotarget, 2017. **8**(67): p. 111931-111942.
141. Xu, X. and X. Zhang, *Effects of cyclophosphamide on immune system and gut microbiota in mice.* Microbiol Res, 2015. **171**: p. 97-106.
142. Bronckaers, A., J. Balzarini, and S. Liekens, *The cytostatic activity of pyrimidine nucleosides is strongly modulated by Mycoplasma hyorhinis infection: Implications for cancer therapy.* Biochem Pharmacol, 2008. **76**(2): p. 188-97.
143. Geller, L.T., et al., *Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine.* Science, 2017. **357**(6356): p. 1156-1160.
144. Geller, L.T. and R. Straussman, *Intratumoral bacteria may elicit chemoresistance by metabolizing anticancer agents.* Mol Cell Oncol, 2018. **5**(1): p. e1405139.
145. Lehouritis, P., et al., *Local bacteria affect the efficacy of chemotherapeutic drugs.* Sci Rep, 2015. **5**: p. 14554.
146. Vande Voorde, J., et al., *Nucleoside-catabolizing enzymes in mycoplasma-infected tumor cell cultures compromise the cytostatic activity of the anticancer drug gemcitabine.* J Biol Chem, 2014. **289**(19): p. 13054-65.
147. Zhang, S., et al., *Fusobacterium nucleatum promotes chemoresistance to 5-fluorouracil by upregulation of BIRC3 expression in colorectal cancer.* J Exp Clin Cancer Res, 2019. **38**(1): p. 14.
148. Karasawa, H., et al., *Down-regulation of cIAP2 enhances 5-FU sensitivity through the apoptotic pathway in human colon cancer cells.* Cancer Sci, 2009. **100**(5): p. 903-13.
149. Burkitt, D.P., *Diseases of the alimentary tract and western diets.* Pathol Microbiol (Basel), 1973. **39**(3): p. 177-86.
150. Cummings, J.H. and H.N. Englyst, *Measurement of starch fermentation in the human large intestine.* Can J Physiol Pharmacol, 1991. **69**(1): p. 121-9.
151. Louis, P., et al., *Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine.* J Appl Microbiol, 2007. **102**(5): p. 1197-208.
152. Roediger, W.E., *Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon.* Gastroenterology, 1982. **83**(2): p. 424-9.
153. Nguyen, K.A., et al., *Dietary fiber enhances a tumor suppressor signaling pathway in the gut.* Ann Surg, 2006. **243**(5): p. 619-25; discussion 625-7.
154. Watson, A.J., *An overview of apoptosis and the prevention of colorectal cancer.* Crit Rev Oncol Hematol, 2006. **57**(2): p. 107-21.
155. Inan, M.S., et al., *The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF-kappaB activity in a human colonic epithelial cell line.* Gastroenterology, 2000. **118**(4): p. 724-34.
156. Al-Lahham, S.H., et al., *Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms.* Biochim Biophys Acta, 2010. **1801**(11): p. 1175-83.
157. Puchowicz, M.A., et al., *Zonation of acetate labeling across the liver: implications for studies of lipogenesis by MIDA.* Am J Physiol, 1999. **277**(6): p. E1022-7.
158. Cross, A.J., et al., *A large prospective study of meat consumption and colorectal cancer risk: an investigation of potential mechanisms underlying this association.* Cancer Res, 2010. **70**(6): p. 2406-14.
159. Cross, A.J. and R. Sinha, *Meat-related mutagens/carcinogens in the etiology of colorectal cancer.* Environ Mol Mutagen, 2004. **44**(1): p. 44-55.

160. Schut, H.A. and E.G. Snyderwine, *DNA adducts of heterocyclic amine food mutagens: implications for mutagenesis and carcinogenesis*. Carcinogenesis, 1999. **20**(3): p. 353-68.
161. Gibson, G.R., G.T. Macfarlane, and J.H. Cummings, *Sulphate reducing bacteria and hydrogen metabolism in the human large intestine*. Gut, 1993. **34**(4): p. 437-9.
162. Attene-Ramos, M.S., et al., *Hydrogen sulfide induces direct radical-associated DNA damage*. Mol Cancer Res, 2007. **5**(5): p. 455-9.
163. Gibson, G.R., G.T. Macfarlane, and J.H. Cummings, *Occurrence of sulphate-reducing bacteria in human faeces and the relationship of dissimilatory sulphate reduction to methanogenesis in the large gut*. J Appl Bacteriol, 1988. **65**(2): p. 103-11.
164. Devkota, S., et al., *Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in Il10^{-/-} mice*. Nature, 2012. **487**(7405): p. 104-8.
165. Reddy, B.S., *Diet and excretion of bile acids*. Cancer Res, 1981. **41**(9 Pt 2): p. 3766-8.
166. Ridlon, J.M., D.J. Kang, and P.B. Hylemon, *Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria*. J Lipid Res, 2006. **47**(2): p. 241-59.
167. Bernstein, C., et al., *Carcinogenicity of deoxycholate, a secondary bile acid*. Arch Toxicol, 2011. **85**(8): p. 863-71.
168. O'Keefe, S.J., et al., *Why do African Americans get more colon cancer than Native Africans?* J Nutr, 2007. **137**(1 Suppl): p. 175S-182S.
169. Ou, J., et al., *Diet, microbiota, and microbial metabolites in colon cancer risk in rural Africans and African Americans*. Am J Clin Nutr, 2013. **98**(1): p. 111-20.
170. O'Keefe, S.J., et al., *Products of the colonic microbiota mediate the effects of diet on colon cancer risk*. J Nutr, 2009. **139**(11): p. 2044-8.
171. O'Keefe, S.J., et al., *Rarity of colon cancer in Africans is associated with low animal product consumption, not fiber*. Am J Gastroenterol, 1999. **94**(5): p. 1373-80.
172. Ou, J., et al., *Association between low colonic short-chain fatty acids and high bile acids in high colon cancer risk populations*. Nutr Cancer, 2012. **64**(1): p. 34-40.
173. Wu, G.D., et al., *Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes*. Science, 2011. **334**(6052): p. 105-8.
174. De Filippo, C., et al., *Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(33): p. 14691-6.
175. Nava, G.M., et al., *Hydrogenotrophic microbiota distinguish native Africans from African and European Americans*. Environ Microbiol Rep, 2012. **4**(3): p. 307-15.
176. Turnbaugh, P.J., et al., *The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice*. Sci Transl Med, 2009. **1**(6): p. 6ra14.
177. David, L.A., et al., *Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome*. Nature, 2014. **505**(7484): p. 559-63.
178. van den Bogert, B., et al., *Microarray analysis and barcoded pyrosequencing provide consistent microbial profiles depending on the source of human intestinal samples*. Appl Environ Microbiol, 2011. **77**(6): p. 2071-80.
179. Swanson, K.S., et al., *The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2020. **17**(11): p. 687-701.

180. Hassan, H., et al., *Systematic review and meta-analysis investigating the efficacy and safety of probiotics in people with cancer*. Support Care Cancer, 2018. **26**(8): p. 2503-2509.
181. Molska, M. and J. Regula, *Potential Mechanisms of Probiotics Action in the Prevention and Treatment of Colorectal Cancer*. Nutrients, 2019. **11**(10).
182. Eslami, M., et al., *Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer*. J Cell Physiol, 2019. **234**(10): p. 17127-17143.
183. Hendler, R. and Y. Zhang, *Probiotics in the Treatment of Colorectal Cancer*. Medicines (Basel), 2018. **5**(3).
184. Gorska, A., et al., *Probiotic Bacteria: A Promising Tool in Cancer Prevention and Therapy*. Curr Microbiol, 2019. **76**(8): p. 939-949.
185. Okawa, T., et al., *Effect of LC9018 combined with radiation therapy on carcinoma of the uterine cervix. A phase III, multicenter, randomized, controlled study*. Cancer, 1993. **72**(6): p. 1949-54.
186. Ma, W., et al., *Gut Microbiota Shapes the Efficiency of Cancer Therapy*. Front Microbiol, 2019. **10**: p. 1050.
187. Delia, P., et al., *Use of probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea*. World J Gastroenterol, 2007. **13**(6): p. 912-5.
188. Vivarelli, S., et al., *Gut Microbiota and Cancer: From Pathogenesis to Therapy*. Cancers (Basel), 2019. **11**(1).
189. Jiang, C., et al., *A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics to reduce the severity of oral mucositis induced by chemoradiotherapy for patients with nasopharyngeal carcinoma*. Cancer, 2019. **125**(7): p. 1081-1090.
190. Wang, Z., et al., *Gut microbial dysbiosis is associated with development and progression of radiation enteritis during pelvic radiotherapy*. J Cell Mol Med, 2019. **23**(5): p. 3747-3756.
191. Frankel, A.E., et al., *Cancer Immune Checkpoint Inhibitor Therapy and the Gut Microbiota*. Integr Cancer Ther, 2019. **18**: p. 1534735419846379.
192. Consoli, M.L., et al., *Randomized Clinical Trial: Impact of Oral Administration of Saccharomyces boulardii on Gene Expression of Intestinal Cytokines in Patients Undergoing Colon Resection*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2016. **40**(8): p. 1114-1121.
193. Louis, P., G.L. Hold, and H.J. Flint, *The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer*. Nat Rev Microbiol, 2014. **12**(10): p. 661-72.
194. Gopalakrishnan, V., et al., *Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients*. Science, 2018. **359**(6371): p. 97-103.
195. Scott, A.J., et al., *Pre-, pro- and synbiotics in cancer prevention and treatment-a review of basic and clinical research*. Ecancermedicalscience, 2018. **12**: p. 869.
196. Sommacal, H.M., et al., *Perioperative synbiotics decrease postoperative complications in periampullary neoplasms: a randomized, double-blind clinical trial*. Nutr Cancer, 2015. **67**(3): p. 457-62.
197. Pajarillo, E.A., et al., *Barcoded pyrosequencing-based metagenomic analysis of the faecal microbiome of three purebred pig lines after cohabitation*. Appl Microbiol Biotechnol, 2015. **99**(13): p. 5647-56.