

MIKROBIÓM V DIAGNOSTIKE A TERAPII ONKOLOGICKÝCH PACIENTOV

The microbiome in diagnosis and therapy of oncology patients

Regína LOHAJOVÁ BEHULOVÁ^{1,2,3}, Aneta BUGALOVÁ^{1,4}, Laura REPKOVÁ¹, Ivan JURÁŠ¹

¹Centrum personalizovanej medicíny, Lambda Life, a. s, Bratislava, vedecký riaditeľ MUDr. I. Juráš

²Onkologický ústav Svätej Alžbety, Bratislava, riaditeľ doc. MUDr. J. Kaušitz, CSc.

³Ústav genetiky a molekulovej medicíny Viliama Izakoviča, Lekárska fakulta Slovenskej zdravotníckej univerzity, Bratislava, prednosta doc. MUDr. RNDr. Juraj Šimko, PhD.

⁴Vedecký park Univerzity Komenského v Bratislave, Bratislava, poverený zástupca riaditeľa prof. RNDr. J. Masarik, DrSc.

Abstrakt

Ľudský mikrobióm predstavuje komplexné spoločenstvo mikroorganizmov, ktoré symbioticky interagujú s hostiteľom na rôznych miestach ľudského tela. Tieto interakcie ovplyvňujú viaceré fyziologické procesy, ktoré môžu prispievať k vzniku rôznych multifaktorových ochorení. V posledných dvoch desaťročiach sa na základe prehľbujúcich vedomostí predpokladá, že mikrobióm ovplyvňuje vývoj, progresiu, tvorbu metastáz, ako aj odpoveď na liečbu pacientov s viacerými typmi onkologických ochorení. Hoci kauzálne dôkazy o vplyve mikrobiómu na biológiu nádorových ochorení sa len začínajú odhaľovať, lepšie pochopenie týchto interakcií je veľmi dôležité.

Karcinóm prsníka a kolorektálny karcinóm patria celosvetovo medzi najčastejšie diagnostikované malignity, pričom pribúdajúce vedecké štúdie poukazujú na súvislosť medzi narušeným mikrobiómom a priebehom, resp. liečbou pacientov s týmito ochoreniami. Cieľom prehľadového článku je charakterizovať ľudský mikrobióm a poukázať na jeho možnú súvislosť so vznikom, vývojom a liečbou pacientov s uvedenými malignitami (obr. 2, lit. 82). Text v PDF www.lekarsky.herba.sk.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: mikrobiota, črevný mikrobióm, diagnostika, karcinóm prsníka, kolorektálny karcinóm.
Lek Obz 2023, 72 (5): 205-213

Abstract

The human microbiome represents a complex community of microorganisms that interact symbiotically with the host at different sites in the human body. These interactions influence numerous physiological processes that may contribute to the development of diverse multifactorial diseases. In the last two decades, increasing knowledge has led to the hypothesis that the microbiome influences the development, progression, metastasis formation, and response to treatment of various cancer types. Although causal evidence proving the influence of microbiome on cancer biology just begins to uncover, a better understanding of these interactions is essential.

Breast cancer and colorectal cancer are among the most commonly diagnosed malignancies worldwide, with increasing scientific studies showing an association between a microbiome dysbiosis and treatment prognosis of patients suffering from these diseases. The aim of this review is to characterize human microbiome and highlight its possible association with the development, progression, and treatment of cancer patients (Fig. 2, Ref. 82). Text in PDF www.lekarsky.herba.sk.

KEY WORDS: microbiota, gut microbiome, diagnosis, breast cancer, colorectal cancer.

Lek Obz 2023, 72 (5): 205-213

Charakterizácia ľudského mikrobiómu

V ľudskom tele sa nachádza komplexné spoločenstvo komenzálnych, symbiotických a patogénnych mikroorganizmov, vrátane baktérií, archeí, vírusov a húb, ktoré nazývame mikrobiota. Tvorí 1 – 3 % našej telesnej hmotnosti (1). Mikrobiotu spolu s jej genetickým materiálom súhrne nazývame mikrobióm (2). V porovnaní s ľudským genómom, ktorý obsahuje 20 000 – 25 000 génov, ľudský mikrobióm môže obsahovať až 1000-krát viac génov (1). Vzájomný vzťah medzi mikrobiómom, jeho metabolitmi a ľudským organizmom je mimoriadne dôležitý pre imunitný systém, metabolizmus a udržanie homeostázy v organizme (3).

Prvý kontakt s mikroorganizmami a formovanie ľudského mikrobiómu prebieha už počas intrauterinného

vývoja (4), a to prostredníctvom prenosu mikroorganizmov z matky na plod. Výskumy zamerané na potenciál bakteriálneho prenosu cez placentárnu bariéru totiž odhalili prítomnosť baktérií v tkanive placenty (5), pупočníkovej krvi (6), plodovej vode a plodových membránach (7) zdravých novorodencov bez akýchkoľvek zápalových alebo infekčných komplikácií. Na ďalší vývoj a formovanie zloženia mikrobiómu výrazne vplýva spôsob pôrodu, v závislosti od ktorého kolonizujú organizmus dieťaťa rozličné druhy mikroorganizmov. Postupne sa však dokázalo, že rozdiel v zložení mikrobiómu u detí narodených prirodzenou cestou v porovnaní so zložením mikrobiómu detí narodených sekciou sa znižuje počas prvých 12 mesiacov od narodenia (8). K najväčším dynamickým zmenám v mikrobióme dochádza

v priebehu prvých 36 mesiacov dieťaťa (8). S postupujúcim vekom sa jeho zloženie stabilizuje, výkyvy sú menej dynamické, čo je spôsobené predovšetkým vplyvom stravy, užívania liekov a aspektmi životného štýlu (9), tzn. environmentálnymi faktormi. Tie formujú početnosti najviac zastúpených baktérií v mikrobióme (10). Ukazuje sa však, že okrem environmentálnych faktorov na skladbu mikrobiómu môže mať vplyv aj hostiteľský genóm (11). Asociácia medzi genetickými variantmi v jadrovom genóme hostiteľa a črevným mikrobiómom bola preukázaná napríklad v štúdiu (12), kde v skupine obsahujúcej viac ako 1000 zdravých jedincov identifikovali 58 jednonukleotidových polymorfizmov (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) spojených s relatívnou početnosťou 33 bakteriálnych taxónov (taxón – skupina organizmov preukazujúca určitý stupeň podobnosti). Tieto polymorfizmy sa nachádzali v génoch alebo v blízkosti génov spojených s viacerými ochoreniami, vrátane Crohnovej choroby ulceróznej kolitídy, reumatoidnej artritídy či Parkinsonovej a Alzheimerovej choroby. Štatisticky najvýznamnejšia korelácia bola preukázaná na štyroch lokusoch, konkrétne ide o SNP na lokuse rs62171178 (v blízkosti génu *ubr3*) spojeným s vyššou početnosťou baktérií čeľade *Rikenellaceae*, rs1394174 (*cntn6*) spojeným s rodom *Faecalibacterium*, rs59846192 (*dmrtb1*) spojeným s čeľadou *Lachnospiraceae* a rs28473221 (*sall3*) spojeným s rodom *Eubacterium* (12). Pre objasnenie súvislostí týchto asociácií je potrebné pokračovať v ďalšom výskume.

Mikrobióm kolonizuje rôzne časti nášho tela, ako napríklad kompletný gastrointestinálny trakt, oronazofaryngovú dutinu, urogenitálny trakt a kožu. Najvariabilnejší mikrobióm je mikrobióm kože, a to v dôsledku meniacich sa podmienok vonkajšieho prostredia (2), vplyvom hygienických návykov, fyzikálnych a chemických vlastností kože, pH pokožky (13) a stupňom poškodzovania jej kyslého ochranného plášťa. Urogenitálny trakt je v dôsledku kyslého prostredia osídlený najmä baktériami rodu *Lactobacillus* (2). Najvyššiu mikrobiálnu hustotu a druhovú diverzitu obsahuje hrubé črevo, teda črevný mikrobióm. Je to najmä v dôsledku zásaditého pH, dostatku živín, nízkej koncentrácie žlčových solí a pankreatických sekkrétov. Na základe metagenomických údajov sa zistilo, že ľudský črevný mikrobióm obsahuje viac ako 1000 bakteriálnych druhov reprezentujúcich viac ako 9 miliónov génov (14). Bakteriálne kmene črevného mikrobiómu s najvyššou početnosťou a výskytom sú *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* a *Proteobacteria* (15). Optimálne zloženie mikrobiómu je však veľmi individuálne a definované vysokou diverzitou mikroorganizmov a ich početnosťou (16). Črevný mikrobióm má významnú úlohu v sliznicovej homeostáze hostiteľa, regulácii epitelovej črevnej bariéry, regulácii imunitného systému a v komunikácii s nervovým systémom osou črevo-mozog. Enzymy produkované mikrobiotou svojou účasťou na rozklade polysacharidov, polyfenolov a syntéze vitamínov významne prispievajú k metabolizmu (17). Komenzálny mikroorganizmus tvoriace mikrobióm sa podieľajú na degradácii živín, odstraňovaní xenobio-

tík, diferenciácii epitelových buniek, vývoji a modulácii imunitných buniek v čreve. Svojou aktivitou sa podieľajú na vytvorení patogénnych baktérií, zabraňujú ich premnoženiu, uberajú im zdroje energie, živiny a udržiavajú tak zloženie mikrobiómu v rovnováhe (18). Komenzálny mikroorganizmus sú schopné produkovať mnohé metabolity a bioaktívne molekuly, ktoré sú buď využívané bunkami črevného epitelu, alebo niektorými bakteriálnymi druhmi ako zdroj energie. Môžu byť absorbované do krvného obehu a v pečeni následne transformované na iné látky (3) alebo môžu regulovať aktivitu imunitného systému. O niektorých z nich pojednáваме v ďalších častiach tohto článku.

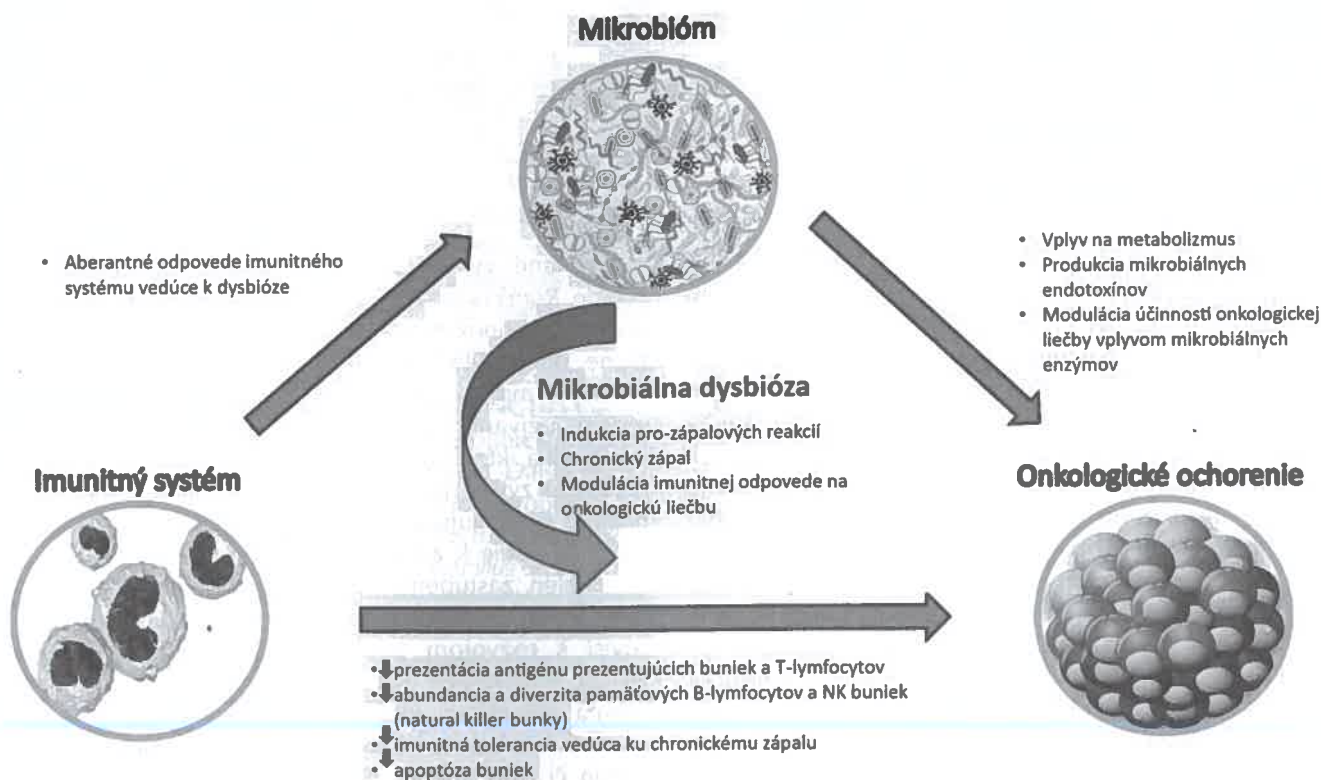
Z rôznych dôvodov môže dochádzať k nerovnováhe v zložení črevného mikrobiómu – k stavu dysbiózy. Vplyvom dysbiózy je narušená homeostáza medzi mikrobiotou a celým organizmom človeka, čo môže súvisieť s rôznymi chorobnými stavmi, ako napríklad zvýšením permeability črevného epitelu a abnormálnou imunitnou odpoveďou, ktorá aktiváciou Toll-like receptorov (TLR) spúšťa oxidačný stres a vyvoláva zápalovú reakciu (19) (obr. 1). Dysbióza prispieva k rozvoju autoimunitných, zápalových, metabolických ochorení, k rozvoju obezity (20) a stále viac sa potvrdzuje podiel aj na vývoji onkologických ochorení (21).

Rýchly pokrok v technológiách na úrovni masívneho paralelného sekvenovania, ktoré nahradili kultivačné techniky, zásadne zmenil štúdium ľudského mikrobiómu. Výsledkom je schopnosť identifikovať a kvantifikovať všetky mikroorganizmy prítomné vo vzorkách mikrobiómu, a využiť tak tieto poznatky okrem iného, aj na ďalšie analýzy a skúmanie vplyvu mikrobiómu v procese onkologickej patogenézy (22).

Črevný mikrobióm možno považovať za nový diagnostický a prediktívny biomarker v liečbe onkologických ochorení (23). V predklinických a klinických štúdiách sa potvrdzuje vplyv mikrobiómu na zvolenú terapiu u pacientov s rôznymi onkologickými ochoreniami (24). Jedny z prvých dôkazov o tom, že črevný mikrobióm má úlohu v odpovedi na onkologickú liečbu, boli publikované v štúdiu zaoberajúcej sa alogénnou transplantáciou krvotvorných kmeňových buniek, keď boli pozorované súvislosti medzi zložením črevného mikrobiómu a dlhodobými pozitívnymi výsledkami liečby akútnej myeloidnej leukémie (25). Vplyv mikrobiómu bol sledovaný aj u pacientov s epitelovými nádormi liečených PD-1 inhibítormi, pričom liečebné modely v kombinácii s antibiotikami preukazovali zníženú odpoveď na liečbu inhibítormi imunitných kontrolných bodov (26).

Lepšiu odpoveď pacientov na zvolenú terapiu možno dosiahnuť práve moduláciou mikrobiómu (19). Jednou zo základných možností je úprava stravy, pričom ako vhodná sa javí strava bohatá na vlákninu a nízkosacharidová diéta s vyšším obsahom tukov. Viaceré štúdie preukázali súvislosť medzi liečbou pomocou nízkosacharidovej diéty s vyšším obsahom tukov a spomalením rastu nádoru, predĺžením času prežívania a zvýšenou citlivosťou na podávanú chemoterapiu a rádioterapiu (27). Ďalšou možnosťou je perorálne po-

Obrázok 1. Znázornenie vzájomného vzťahu mikrobiómu s imunitným systémom, ktorý ovplyvňuje vznik a indukciu onkologického ochorenia prostredníctvom chronického zápalu, abnormálnych zmien v imunitných odpovediach a schopnosti modulovať účinnosť onkologickej liečby.



dávanie prospešných mikroorganizmov vo forme probiotík. Podávané probiotiká majú schopnosť inhibovať kolonizáciu patogénnych baktérií, a to spotrebou pre nich potrebných živín (28), uvoľňovaním antimikrobiálnych peptidov, svojou priľnavosťou na povrch epiteliálnych buniek, alebo priamou interakciou s patogénmi (29). Probiotické kmene majú zároveň aj imunomodulačný účinok, napríklad aktiváciou makrofágov (30), a tiež môžu potlačiť zápal zvýšením produkcie protizápalových cytokínov, čoho príkladom je zvýšená produkcia interleukínu 10 (IL-10) (31). Ďalšou, postupne viac využívanou stratégiou modulácie mikrobiómu, je fekálna mikrobiálna transplantácia (FMT). Pri FMT dochádza k prenosu celého črevného mikrobiómu z darcu na príjemcu vo forme suspenzie baktérií vyčistených zo stolice, ktorá sa aplikuje buď endoskopicky, alebo perorálne, napríklad vo forme tabliet. Fekálna mikrobiálna transplantácia predstavuje napríklad osvedčenú liečbu rekurentnej a refraktérnej infekcie patogénom *Clostridium difficile* (32, 33).

Súvislosť medzi zmenami črevnej mikrobioty a onkologickými ochoreniami demonštruje aj množstvo publikácií zaoberajúcich sa touto témou. Počas posledných dvoch desaťročí sa počet publikácií každoročne zvyšoval. Napríklad kým v roku 2001 to bolo 10 odborných článkov, v roku 2020 až 486 (34).

Vzhľadom na vyššie uvedené skutočnosti sa poznatky o mikrobióme stávajú dôležitou súčasťou diagnostiky, terapie, ako aj komplexného manažmentu onkologických pacientov.

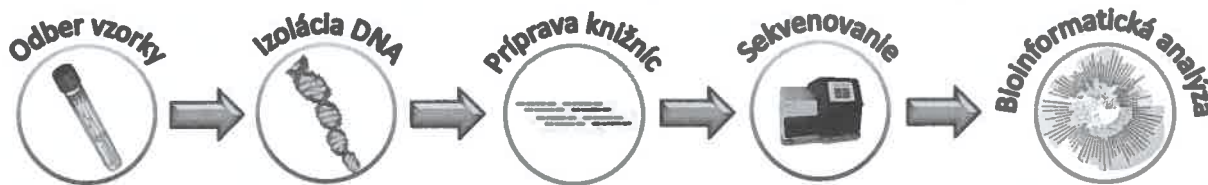
Karcinóm prsníka

Karcinóm prsníka (KP) je druhým najčastejšie sa vyskytujúcim karcinómom na svete a najčastejšie diagnostikovanou malignitou u žien. Odhaduje sa, že každý rok pribudne 2,3 milióna nových prípadov tohto ochorenia (35). Podľa posledných publikovaných údajov Globocanu z roku 2020 patrí Slovensko k európskym krajinám s najvyšším výskytom KP s počtom prípadov viac ako 3000 novodiagnostikovaných pacientov ročne (35).

Rakovina prsníka je multifaktorové ochorenie, pričom za jeho vznikom možno hľadať viacero negenetických, ako aj genetických faktorov. Za postupným zvyšovaním výskytu KP v priebehu posledných troch desaťročí stojí aj zvyšujúci sa vek prvorodičiek, obmedzovanie dojčenia, nástup menštruácie v skoršom veku, nedostatok fyzickej aktivity a zlá strava (36). Vzájomné pôsobenie environmentálnych faktorov spolu so životným štýlom tiež úzko súvisia so zvýšeným výskytom KP. Na základe najnovších štúdií o zložení črevného, prsného a mliečneho mikrobiómu spolu s ich interakciou so systémami riadenia zápalu, metabolizmom estrogénov a genetickými, ako aj epigenetickými zmenami, bol mikrobióm zaradený medzi rizikové faktory rozvoja KP (37).

Tkanivo prsníka sa dlho považovalo za sterilné, no s vývojom nových technológií na princípe masívneho paralelného sekvenovania (obr. 2) sa ukázalo, že obsahuje špecifický mikrobióm, ktorý sa môže vytvárať viacerými spôsobmi. Jedným z nich je dojčenie, kedy kožné mikroorganizmy matky a mikrobiota ústnej duti-

Obrázok 2. Schéma jednotlivých krokov sekvenačnej analýzy.



ny dojčatá prechádzajú do mliečnych kanálikov a následne sa dostávajú do tkaniva prsníka (38). Druhým spôsobom môže byť imunitnými bunkami sprostredkovaná translokácia baktérií z gastrointestinálneho traktu žien (39 – 41). Formovanie prsného mikrobiómu iným spôsobom ako dojčením potvrdzujú aj výsledky štúdie (42), v ktorej sekvenačnými metódami identifikovali mikrobióm tkaniva prsníka, ktorý sa líšil od mikrobiómu kožného tkaniva prsníka, výterov z kože prsníka a bukálnych výterov. Rozmanitá bakteriálna populácia v tkanive odobratom z rôznych miest v prsníku bola pozorovaná aj u 43 žien, pričom niektoré z nich nemali v anamnéze laktáciu (43).

Rozdiel v mikrobiálnom zložení tkaniva prsníka sa pozoroval aj u onkologických pacientok a zdravých žien. Výsledkom analýzy 16S rRNA sa u pacientok s KP zistilo vyššie zastúpenie *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* a *Staphylococcus* spp. (43). Baktérie *Escherichia coli* a *Staphylococcus epidermidis* izolované od pacientok s karcinómom prsníka indukovali dvojvláknové zlomy DNA v HeLa bunkách zistené pomocou testu fosforylácie histónu-2AX (44).

V ďalšej štúdii kvantifikácia bakteriálnej DNA preukázala početné zastúpenie *Methylobacterium radiotolerance* v tkanive pacientok s KP, kým *Sphingomonas yanoikuyae* dominoval v zdravom tkanive. Výskyt *Sphingomonas yanoikuyae* v zdravom tkanive naznačuje jeho probiotickú funkciu, pretože menej početné zastúpenie tohto mikroorganizmu v nádorovom tkanive bolo spojené so zníženou expresiou génov antibakteriálnej odpovede vrátane receptorov vrodenej imunitného systému TLR 2, 5, 9 a faktorov zodpovedných za antimikrobiálne reakcie, ako sú IL-12 podjednotka alfa, či myeloperoxidáza (45).

V nádorovom tkanive boli zastúpené viaceré taxóny s nižšou početnosťou vrátane rodov *Fusobacterium*, *Atopobium*, *Gluconacetobacter*, *Hydrogenophaga* a *Lactobacillus* (42).

Na základe pribúdajúcich štúdií o ľudskom mikrobióme v priebehu posledných rokov sa predpokladá, že k vzniku a formovaniu KP môže prispievať aj dysbióza črevného mikrobiómu. Tento zložitý systém komenzálnych a symbiotických mikroorganizmov podporuje absorpciu živín, biosyntézu esenciálnych aminokyselín a vitamínov, inaktiváciu toxínov a karcinogénov a udržiava homeostázu nešpecifickej, ako aj špecifickej imunity. Ukázalo sa, že črevný mikrobióm preukazuje významne nižšiu diverzitu u pacientov s KP v porovnaní so zdravými kontrolami. V prípade ochorenia bolo za-

znamenané vyššie zastúpenie baktérií patriacich do čeľade *Ruminococcaceae*, *Faecalibacterium* a *Clostridiaceae*, kým množstvo *Lachnospiraceae* a *Dorea* bolo výrazne nižšie (46). Rozsiahla metaanalýza zahŕňajúca takmer 4 milióny žien poukázala na vzájomnú súvislosť medzi užívaním antibiotík a progresiou KP (47). Antibiotiká, ktoré spôsobujú zmeny v črevnej mikroflóre, môžu zvýšiť riziko vzniku KP v dôsledku eliminácie baktérií produkujúcich butyrát a inhibície históndeacetyláz, čo vedie k zníženiu bunkovej apoptózy (48).

Nielen zastúpenie špecifických bakteriálnych druhov, ale aj produkcia bakteriálnych metabolitov úzko súvisí s rozvojom tohto onkologického ochorenia. Hlavné mikrobiálne metabolity, prostredníctvom ktorých črevná mikroflóra udržiava širokú škálu funkcií, tvoria mastné kyseliny s krátkym reťazcom, amoniak, vodík, metán či oxid uhličitý. Narušenie produkcie niektorých metabolitov negatívne ovplyvňuje reguláciu transformácie alebo proliferácie nádorových buniek. Ukázalo sa, že v skorých štádiách KP je bakteriálna biosyntéza kyseliny lipochovej znížená, čo naznačuje stratu možného antiproliferačného účinku (49). V súlade s nižšou produkciou kyseliny lipochovej je aj potlačenie biosyntézy črevného biogénneho amínu kadaverínu, čo vedie k nižšej produkcii tohto antikarcinogénneho bakteriálneho metabolitu a môže prispievať k rozvoju KP (50).

Okrem uvedeného vyššia fylogenetická diverzita v črevnom mikrobióme zvyšuje koncentráciu hydroxylovaných estrogénových metabolitov v moči zdravých žien. U postmenopauzálnych žien sa zvýšená hladina cirkulujúceho estrogénu spája so zvýšeným rizikom KP (51). Črevný mikrobióm je jedným z hlavných regulátorov cirkulujúcich estrogénov, a preto vplyvom dysbiózy dochádza k narušeniu ich metabolizmu a homeostázy. Predpokladá sa, že narušenie estrobolómu, bakteriálneho spoločenstva a jeho produktov zúčastňujúcich sa na metabolizme estrogénov, môže zvyšovať riziko estrogén receptor-pozitívneho KP u žien po menopauze (46). Okrem toho aj zníženie bakteriálnej biodiverzity v stolici vedie k vylučovaniu estrogénu a zvýšeniu rizika KP (52).

Súvislosť medzi ľudským mikrobiómom a karcinómom prsníka otvára nové možnosti v diagnostike a liečbe pacientov s týmto onkologickým ochorením. Možnosti využitia probiotík boli skúmané pomocou viacerých bunkových línií KP. Už v štúdii z roku 2007 pozorovali, že pôsobenie extraktu z kefiru znižuje rast bunkovej línie KP MCF-7, kým normálne bunky epitelu prsníka neboli ovplyvnené (53). Animálne myšie mode-

ly tiež potvrdili systémové protinádorové účinky probiotického kmeňa *Lactobacillus reuteri*, ktorý inhiboval včasné štádium karcinogenézy (54). Napriek viacerým úspešným experimentom na zvieracích modeloch je v súčasnosti pomerne málo štúdií humánneho a klinického výskumu o probiotikách využiteľných v liečbe, pričom žiadna z nich nehodnotí ich terapeutickú úlohu, ale skôr poukazuje na účinok mliečnych výrobkov na mikrobióm (55). Dlhodobé požívanie nápoja obsahujúceho *Lactobacillus casei* u japonských žien preukázalo preventívny účinok, ktorý môže byť spôsobený schopnosťou *Lactobacillus casei* aktivovať NK (natural killer) bunky, a tým podporovať imunitnú odpoveď (56). V súčasnosti prebieha niekoľko klinických skúšok týkajúcich sa probiotík a KP, pričom klinické skúšanie NCT03358511 skúma úlohu probiotík na počet CD8⁺T-buniek v 1. – 3. štádiu u postmenopauzálnych pacientok. Ďalšia štúdia (NCT03760653) je zameraná na účinok probiotických výživových doplnkov obsahujúcich *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum* na črevný mikrobióm a s ním súvisiaci imunitný systém u pacientok s KP. Modulácia črevnej mikrobioty je možná aj prostredníctvom FMT, informácie o klinických skúškach v súvislosti s KP však neboli dosiaľ publikované.

Kolorektálny karcinóm

Kolorektálny karcinóm (CRC) je vo svete tretím najčastejším onkologickým ochorením a druhou najčastejšou príčinou úmrtí súvisiacich s onkologickým ochorením (35). Na Slovensku je CRC najčastejšie diagnostikovaným typom karcinómu, pričom v roku 2020 bolo diagnostikovaných 4821 pacientov, čo predstavuje až 15,9 % všetkých novo diagnostikovaných onkologických ochorení (35). Viacstupňový vývoj tohto komplexného malígneho ochorenia zahŕňa rôzne genetické, ako aj environmentálne rizikové faktory. Nahromadenie genetických a epigenetických zmien v protoonkogénoch, tumor supresorových génoch a/alebo génoch asociovaných s DNA reparačnými mechanizmami vedie k neoplastickej transformácii epitelu hrubého čreva. Fajčenie, konzumácia alkoholu, obezita a cukrovka sú známe faktory, ktoré sa tiež podieľajú na vzniku tohto ochorenia. Mikrobióm môže byť zásadným faktorom vplyvujúcim na vznik a rozvoj nádorového ochorenia CRC, čo naznačuje aj čoraz viac štúdií, ktoré uvádzajú zmeny mikrobiálneho zloženia u pacientov s CRC (57).

Vznik, progresiu, ako aj liečbu CRC ovplyvňuje samotné zloženie črevného mikrobiómu pacienta, a rovnako aj metabolity a biologicky aktívne zlúčeniny vznikajúce v tomto prostredí (16). Zmena črevného mikrobiómu je v súvislosti s CRC spojená predovšetkým so zníženou početnosťou bakteriálnych druhov *Bifidobacterium animalis* a *Streptococcus thermophilus* (58).

Najčastejšie spomínaným bakteriálnym rodom v súvislosti so vznikom a progresiou CRC je *Fusobacterium*, ktorý vyvoláva prozápalové reakcie, čím sa urýchľuje

jeho adhézia a invázia do epitelových buniek hrubého čreva hostiteľa a pôsobí ako potenciálny karcinogén (59).

Fusobacterium nucleatum obsahuje fragment *FadA*, ktorý sprostredkúva jeho adhéziu k E-kadherínu a narúša tak tesné spojenia buniek epitelu (60). Po pripojení sa tejto baktérie k nádorovým bunkám navyše dochádza k aktivácii kaskády transdukcie β -katenínu, teda proteínu, ktorý reguluje bunkovú adhéziu a génovú transkripciu, čím dochádza k indukcii expzie onkogénov a iných rastových signálov podporujúcich progresiu CRC (59). Jedna z analýz metagenómu kolorektálneho karcinómu identifikovala niekoľko ďalších baktérií, ktoré sa spájajú s CRC, a to *Bacteroides fragilis*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Alistipes finegoldii* a *Thermanaerovibrio acidaminovorans* (61). Ďalšou baktériou výrazne vplyvajúcou na progresiu je *Clostridium difficile* (62).

Mikrobióm pacientov s CRC v porovnaní so zdravými jedincami je spojený s výraznou dysbiózou. Jej vplyvom prebieha v tkanive hrubého čreva chronický zápal vyvolaný rôznymi mechanizmami, vrátane úbytku protizápalových baktérií, vylučovania toxínov a syntézy vedľajších metabolických produktov. Napríklad butyrát, masťná kyselina s krátkym reťazcom, vzniká ako vedľajší produkt metabolizmu mnohých baktérií hrubého čreva. Služí ako zdroj energie pre enterocyty, v prípade jeho nadprodukcie však dochádza k dysfunkcii epitelovej bariéry, čo vedie k zápalu aktiváciou IL-6, cytokínov a tumor nekrotizujúceho faktora α (TNF- α) (63). Viaceré štúdie potvrdili, že IL-6 a TNF- α spôsobujú amplifikačnú slučku chronického zápalu v karcinogenéze hrubého čreva (64, 65). Problém predstavujú aj bakteriálne toxíny, ktoré priamo poškodzujú epitelové bunky. *Bacteroides fragilis* produkuje enterotoxín fragylisín, ktorý zvyšuje sekréciu cytokínov a štiepi E-kadherín, proteín zabezpečujúci tesné spojenia medzi bunkami črevného epitelu, čo tiež vedie k zvýšeniu permeability sliznice (66). Výsledkom týchto mechanizmov je zápal, pričom vzniká prostredie, v ktorom sú aj inak nepatogénne baktérie s genotoxickým potenciálom schopné prilnúť k črevnej stene a podieľať sa na tumorogenéze.

Normálny epitel hrubého čreva je u zdravých jedincov pokrytý vrstvou sterilného hlienu s účinnou kompartmentalizáciou baktérií do lúmenu (67). Narušenie tejto ochrannej vrstvy s následným zvýšeným kontaktom sliznicovej mikrobioty s epitelovými bunkami sa považuje za prvý krok pri vyvolaní zmien v biológii tkaniva a/alebo tvorbe zápalu. Tvorba polymikrobiálneho bakteriálneho biofilmu, tzn. spoločenstva mikroorganizmov obklopeného extracelulárnym matrixom, na sliznicovej vrstve vedie k zvýšenej priepustnosti črevného epitelu prostredníctvom straty E-kadherínu. Interakcie tumorogénnych baktérií s črevnými bunkami hostiteľa podporujú prokarcinogénny zápal a proliferáciu buniek (68). Výsledky štúdií tejto vedeckej skupiny uvádzajú, že riziko vzniku CRC je u pacientov s biofilmom až 5-krát vyššie v porovnaní s pacientmi, u ktorých biofilm nebol potvrdený (68, 69). Ku chronickému zápalovému stavu

prispieva aj výživa pacienta, ktorá má výrazný vplyv na zloženie črevného mikrobiómu. Príkladom je nadmerná konzumácia alkoholu vedúca k zvýšeniu hladiny acetaldehydu (70). Ten narúša priepustnosť črevného epitelu, a tým dochádza k translokácii baktérií a ich metabolitov do extracelulárneho priestoru, čo má vplyv na vznik zápalového procesu (71).

Pretože sa ukazuje, že baktérie ovplyvňujú vznik a rozvoj nádorového ochorenia čreva, čoraz viac pozornosti sa sústreďuje na možnosti využitia informácií o mikrobióme v rámci diagnostiky a liečby pacientov s CRC. Detekcia tvorby bakteriálneho biofilmu na sliznici hrubého čreva môže byť užitočná pri určení vývoja onkologického ochorenia (69). Zvýšené početnosti baktérií, ako sú *Bacteroides fragilis*, *Streptococcus gallolyticus*, *Enterococcus faecalis* či *Escherichia coli* vo vzorkách stolice pacientov môžu slúžiť ako diagnostické biomarkery (72). Okrem toho sa ukázalo, že pacienti s CRC v skorých štádiách ochorenia majú odlišné zloženie mikrobioty v porovnaní s pacientmi s pokročilými formami. Vysoká početnosť *Fusobacterium nucleatum* sa spájala s neskoršími štádiami vývoja, kým prítomnosť *Atopobium parvulum* a *Actinomyces odontolyticus* sa zdá špecifická pre skoršie formy nádorového ochorenia (73). Celkovo tieto štúdie potvrdzujú účasť bakteriálneho mikrobiómu na progresii ochorenia. Zároveň však upozorňujú na prehlbujúcu sa mikrobiálnu dysbiózu v závislosti od štádia ochorenia a naznačujú, že metagenomická analýza zameraná na identifikáciu baktérií spojených s CRC by v budúcnosti mohla v kombinácii s kolonoskopiou významne prispieť ku komplexnejšiemu klinickému obrazu tohto ochorenia.

Aj nevhodná strava podporuje vznik CRC prostredníctvom rozličných interakcií produktov metabolizmu s črevným mikrobiómom, pričom jednou zo stratégií prevencie je práve jej úprava. Zaradenie konzumácie celozrnných obilnín môže znížiť riziko vzniku ochorenia (74).

Možný mechanizmus vysvetľujúci preventívny účinok je, že vlákna znižuje potenciál interakcie fekálnych mutagénov so sliznicou hrubého čreva v dôsledku skráteného času črevného tranzitu a zvýšenia objemu stolice (75). Užívanie probiotík môže tiež pomôcť v prevencii ochorenia. Bolo preukázané, že *Lactobacillus fermentum* a *Lactobacillus casei* majú antiproliferačné a proapoptotické účinky na nádorové bunkové línie *in vitro* (76). V inom experimente podávanie baktérií *Lactobacillus casei* nielenže inhibovalo vznik CRC na myšom modeli, ale tiež obnovilo narušenú črevnú mikroflóru (77). Črevný mikrobióm je čoraz viac uznávaný ako prediktívny faktor odpovede na liečbu pacientov s kolorektálnym karcinómom. Podieľa sa na farmakokinetike chemoterapie, jej protinádorovej aktivite a regulácii toxicity. Črevný mikrobióm môže navyše ovplyvniť aj imunomodulačnú odpoveď pacienta na niektoré liečivá, ako je irinotekan, oxaliplatina a 5-fluorouracil, využívané v liečbe metastatického CRC (78 – 80). Podávanie probiotík sa javí ako veľmi účinné práve v kombinácii s primárnou nádorovou terapiou. Potvrdila

to aj klinická skúška NCT01410955 vykonaná na Slovensku, ktorá skúmala účinnosť probiotík v profylaxii hnačky vyvolanej irinotekanom. V tomto prípade probiotiká priaznivo znižovali aktivitu črevnej beta-D-glukuronidázy (81).

Z hľadiska využitia FMT bolo na myšom animálnom modeli dokázané, že transplantovaný črevný mikrobióm podporuje kondíciu hostiteľa a inhibuje zápal vo formujúcom sa nádorovom tkanive (82). V súčasnosti nie sú k dispozícii žiadne definitívne údaje z klinických štúdií zaoberajúcich sa využitím FMT pri liečbe CRC u pacientov. Práve prebiehajúca klinická skúška NCT04729322 skúma účinok transplantácie fekálnej mikroflóry a opätovného zavedenia anti-PD-1 liečby u pacientov s metastázujúcim kolorektálnym karcinómom, u ktorých predtým samostatná liečba inhibítormi imunitných kontrolných bodov nebola úspešná.

Záver

Onkologické ochorenie je systémové, multifaktorové, polygénové ochorenie charakterizované komplexnými súbormi zmien v organizme. Na základe pribúdajúcich dôkazov sa do pozornosti dostáva aj asociácia medzi zložením mikrobiómu a vývojom, progresiou a terapiou pacientov s onkologickými ochoreniami. Mechanizmy zapojenia mikrobiómu do kancerogenézy sú zložito prepojené a ich vzájomné pôsobenie nie je zatiaľ úplne objasnené. Viaceré štúdie poukazujú napríklad na pozitívne výsledky využitia modulácie zloženia mikrobiómu prostredníctvom probiotík a FMT. Predpokladá sa ich pozitívny vplyv na odpoveď pacienta na protinádorovú terapiu. Takmer vo všetkých aspektoch tejto oblasti je však potrebný ďalší výskum s cieľom zlepšiť prevenciu, skorú diagnostiku, a liečbu pacientov s onkologickými ochoreniami.*

PodĎakovanie. Publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Integrovaná stratégia v rozvoji personalizovanej medicíny vybraných zhubných nádorových ochorení a jej vplyv na kvalitu života, kód projektu v ITMS 2014+: 313011V446, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Konflikt záujmov: Autori práce Regína LOHAJOVÁ BEHULOVÁ, Aneta BUGALOVÁ, Laura REPKOVÁ, Ivan JURÁŠ vyhlasujú, že nemajú žiaden konflikt záujmov.

Literatúra

1. PETERSON J, GARGES S, GIOVANNI M, et al. The NIH Human Microbiome Project. Genome Res [Internet] 2009, Dec 1, 19 (12): 2317 – 2323. <https://genome.cshlp.org/content/19/12/2317.full>
2. SENDER R, FUCHS S, MILO R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. PLoS Biol. 2016; 14 (8): 1 – 14.
3. CARDING S, VERBEKE K, VIPOND DT, et al. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. Microb Ecol Heal Dis. 2015; 26 (0).
4. COLLADO MC, RAUTAVA S, AAKKO J, et al. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in

- the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep* [Internet] 2016, 6 (October 2015): 1 – 13. <http://dx.doi.org/10.1038/srep23129>
5. AAGAARD K, MA J, ANTONY KM, et al. The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci Transl Med* 2014, 6 (237): 237ra65 – 237ra65.
 6. JIMÉNEZ E, FERNÁNDEZ L, MARÍN ML, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol* 2005, 51 (4): 270 – 274.
 7. RAUTAVA S, COLLADO MC, SALMINEN S, et al. Probiotics modulate host-microbe interaction in the placenta and fetal gut: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neonatology* 2012, 102 (3): 178 – 184.
 8. NIU J, XU L, QIAN Y, et al. Evolution of the Gut Microbiome in Early Childhood: A Cross-Sectional Study of Chinese Children. *Front Microbiol* 2020, 11 (April): 1 – 16.
 9. DOOCEY CM, FINN K, MURPHY C, et al. The impact of the human microbiome in tumorigenesis, cancer progression, and biotherapeutic development. *BMC Microbiol* [Internet] 2022, 22 (1): 1 – 17. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02465-6>
 10. GOODRICH JK, WATERS JL, POOLE AC, et al. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* [Internet] 2014, 159 (4): 789 – 799. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.053>
 11. XU F, FU Y, SUN TY, et al. The interplay between host genetics and the gut microbiome reveals common and distinct microbiome features for complex human diseases. *Microbiome* 2020, 8 (1): 1 – 14.
 12. TURPIN W, ESPIN-GARCIA O, XU W, et al. Association of host genome with intestinal microbial composition in a large healthy cohort. *Nat Genet* 2016, 48 (11): 1413 – 1417.
 13. SKOWRON K, BAUZA-KASZEWSKA J, KRASZEWSKA Z, et al. Human skin microbiome: Impact of intrinsic and extrinsic factors on skin microbiota. *Microorganisms* 2021, 9 (3): 1 – 20.
 14. PAN S, CHEN R. Metaproteomic analysis of human gut microbiome in digestive and metabolic diseases. *Adv Clin Chem* 2020, 97: 1 – 12.
 15. FORSTER SC, KUMAR N, ANONYE BO, et al. A human gut bacterial genome and culture collection for improved metagenomic analyses. *Nat Biotechnol* [Internet] 2019, 37 (2): 186 – 192. <http://dx.doi.org/10.1038/s41587-018-0009-7>
 16. KELLY DL, LYON DE, YOON SL, et al. The microbiome and cancer: Implications for oncology nursing science. *Cancer Nurs* 2016, 39 (3): E56 – 62.
 17. GREENBLUM S, TURNBAUGH PJ, BORENSTEIN E. Metagenomic systems biology of the human gut microbiome reveals topological shifts associated with obesity and inflammatory bowel disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012, 109 (2): 594 – 599.
 18. CHATTOPADHYAY I, DHAR R, PETHUSAMY K, et al. Exploring the Role of Gut Microbiome in Colon Cancer. *Appl Biochem Biotechnol* 2021, 193 (6): 1780 – 1799.
 19. SEVCIKOVA A, IZOLDOVA N, STEVURKOVA V, et al. The Impact of the Microbiome on Resistance to Cancer Treatment with Chemotherapeutic Agents and Immunotherapy 2022.
 20. ELIAS-OLIVEIRA J, LEITE JA, PEREIRA ÍS, et al. NLR and Intestinal Dysbiosis-Associated Inflammatory Illness: Drivers or Dampers? *Front Immunol* 2020, 11 (August): 1 – 9.
 21. CULLIN N, AZEVEDO ANTUNES C, STRAUSSMAN R, et al. Microbiome and cancer. *Cancer Cell* [Internet] 2021, 39 (10): 1317 – 1341. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.08.006>
 22. GALLOWAY-PENÁ J, HANSON B. Tools for Analysis of the Microbiome. *Dig Dis Sci* [Internet] 2020, 65 (3): 674 – 685. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06091-y>
 23. OLIVA M, MULET-MARGALEF N, OCHOA-DE-OLZA M, et al. Tumor-Associated Microbiome: Where Do We Stand? 2021, 1 – 25.
 24. WU Z, ZHANG S, LI L, et al. The gut microbiota modulates responses to anti – PD-1 and chemotherapy combination therapy and related adverse events in patients with advanced solid tumors. *Front Oncol* 2022, 12 (October): 1 – 12.
 25. TAUR Y, JENQ RR, PERALES MA, et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* [Internet] 2014, 124 (7): 1174 – 1182. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2014-02-554725>
 26. ROUTY B, LE CHATELIER E, DEROSA L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* 2018, 359: 91 – 97.
 27. ZAHRA A, FATH MA, OPAT E, et al. Consuming a Ketogenic Diet while Receiving Radiation and Chemotherapy for Locally Advanced Lung Cancer and Pancreatic Cancer: The University of Iowa Experience of Two Phase 1 Clinical Trials. *Radiat Res* [Internet] 2017, Jun 1, 187 (6): 743 – 754. <https://meridian.allenpress.com/radiation-research/article/187/6/743/150766/Consuming-a-Ketogenic-Diet-while-Receiving>
 28. PIEWNGAM P, ZHENG Y, NGUYEN TH, et al. Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signaling interference. *Microbiol* 2018, 562 (7728): 532 – 537.
 29. CAMPANA R, VAN HEMERT S, BAFFONE W. Strain-specific probiotic properties of lactic acid bacteria and their interference with human intestinal pathogens invasion. *Gut Pathog* 2017, 9 (1): 1 – 12.
 30. ROCHA-RAMÍREZ LM, PÉREZ-SOLANO RA, CASTAÑÓN-ALONSO SL, et al. Probiotic *Lactobacillus* Strains Stimulate the Inflammatory Response and Activate Human Macrophages. *J Immunol Res* 2017, 2017.
 31. SICHETTI M, DE MARCO S, PAGIOTTI R, et al. Anti-inflammatory effect of multistrain probiotic formulation (*L. rhamnosus*, *B. lactis*, and *B. longum*). *Nutrition* 2018, Sep 1 (53): 95 – 102.
 32. KHORUTS A, RANK KM, NEWMAN KM, et al. Inflammatory Bowel Disease Affects the Outcome of Fecal Microbiota Transplantation for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016, Oct 1, 14 (10): 1433 – 1438.
 33. ŽIŠKOVÁ M, STRAKA M, DUBINOVÁ M, et al. Fekálna mikrobiálna transplantácia ako alternatívna terapia neurologických ochorení. *Lek Obz* 2020, 69 (12): 446 – 451.
 34. ZYUOD SH, AL-JABI SW, AMER R, et al. Global research trends on the links between the gut microbiome and cancer: a visualization analysis. *J Transl Med* [Internet] 2022, Dec 1, 20 (1): 1 – 10. <https://link.springer.com/articles/10.1186/s12967-022-03293-y>
 35. SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021, 71 (3): 209 – 249.
 36. ŁUKASIEWICZ S, CZECZELEWSKI M, FORMA A, et al. Breast Cancer—Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies—An Updated Review. *Cancers* 2021, 13: 4287. <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/17/4287/htm>
 37. ESLAMI-S Z, MAJIDZADEH-A K, HALVAEI S, et al. Microbiome and Breast Cancer: New Role for an Ancient Population. *Front Oncol* 2020, 10 (February): 1 – 15.
 38. HUNT KM, FOSTER JA, FORNEY LJ, et al. Characterization of the Diversity and Temporal Stability of Bacterial Communities in Human Milk. *PLoS One* [Internet] 2011, 6 (6): e21313. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0021313>

39. MARTÍN R, LANGA S, REVIRIEGO C, et al. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends Food Sci Technol* 2004, Mar 1, 15 (3 – 4): 121 – 127.
40. MACPHERSON AJ, UHR T. Induction of Protective IgA by Intestinal Dendritic Cells Carrying Commensal Bacteria. *Science* (80-) [Internet] 2004, Mar 12, 303 (5664): 1662 – 1665. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1091334>
41. RESCIGNO M, URBANO M, VALZASINA B, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol* 2001, 2 (4): 361 – 367. https://www.nature.com/articles/ni0401_361
42. HIEKEN TJ, CHEN J, HOSKIN TL, et al. The microbiome of aseptically collected human breast tissue in benign and malignant disease. *Sci Rep* 2016, 6 (July): 1 – 10.
43. URBANIAK C, CUMMINS J, BRACKSTONE M, et al. Microbiota of human breast tissue. *Appl Environ Microbiol* 2014, 80 (10): 3007 – 3014.
44. URBANIAK C, GLOOR GB, BRACKSTONE M, et al. The microbiota of breast tissue and its association with breast cancer. *Appl Environ Microbiol* [Internet] 2016, 82 (16): 5039 – 5048. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01235-16>
45. XUAN C, SHAMONKI JM, CHUNG A, et al. Microbial dysbiosis is associated with human breast cancer. *PLoS One* [Internet] 2014, Jan 1, 9 (1): e83744. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083744>
46. KWA M, PLOTTEL CS, BLASER MJ, et al. The Intestinal Microbiome and Estrogen Receptor – Positive Female Breast Cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst* [Internet] 2016, Aug 1, 108 (8). <https://academic.oup.com/jnci/article/108/8/djw029/2457487>
47. SIMIN J, TAMIMI RM, ENGSTRAND L, et al. Antibiotic use and the risk of breast cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Pharmacol Res* 2020, Oct 1, 160: 105072.
48. SALIMI V, SHAHSAVARI Z, SAFIZADEH B, et al. Sodium butyrate promotes apoptosis in breast cancer cells through reactive oxygen species (ROS) formation and mitochondrial impairment. *Lipids Health Dis* [Internet] 2017, Nov 2, 16 (1): 1 – 11. <https://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12944-017-0593-4>
49. MIKÓ E, VIDA A, KOVÁCS T, et al. Lithocholic acid, a bacterial metabolite reduces breast cancer cell proliferation and aggressiveness. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* 2018, Sep 1, 1859 (9): 958 – 974.
50. KOVÁCS T, MIKÓ E, VIDA A, et al. Cadaverine, a metabolite of the microbiome, reduces breast cancer aggressiveness through trace amino acid receptors. *Sci Rep* 2019, 9 (1): 1 – 14.
51. FUHRMAN BJ, FEIGELSON HS, FLORES R, et al. Associations of the fecal microbiome with urinary estrogens and estrogen metabolites in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2014, 99 (12): 4632 – 4640.
52. FALK RT, BRINTON LA, DORGAN JF, et al. Relationship of serum estrogens and estrogen metabolites to postmenopausal breast cancer risk: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* [Internet] 2013, Apr 22, 15 (2): R34. <https://link.springer.com/articles/10.1186/bcr3416>
53. CHEN C, HING MC, KUBOW S. Kefir Extracts Suppress In Vitro Proliferation of Estrogen-Dependent Human Breast Cancer Cells but Not Normal Mammary Epithelial Cells. <https://home.liebertpub.com/jmf> [Internet]. 2007, Sep 22, 10 (3): 416 – 422. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2006.236>
54. LAKRITZ JR, POUTAHIDIS T, LEVKOVICH T, et al. Beneficial bacteria stimulate host immune cells to counteract dietary and genetic predisposition to mammary cancer in mice. *Int J Cancer* [Internet] 2014, Aug 1, 135 (3): 529 – 540. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.28702>
55. RANJBAR S, SEYEDNEJAD SA, ZAKERI SE, et al. Probiotics for Prophylaxis and Management of Breast Cancer: Preclinical and Clinical Evidence. *Probiotic Res Ther* [Internet] 2021, 159 – 189. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-8214-1_8
56. TOI M, HIROTA S, TOMOTAKI A, et al. Probiotic Beverage with Soy Isoflavone Consumption for Breast Cancer Prevention: A Case-control Study. *Curr Nutr Food Sci* 2013, 9 (3): 194 – 200.
57. SONG M, CHAN AT, SUN J. Influence of the Gut Microbiome, Diet, and Environment on Risk of Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 2020, Jan 1, 158 (2): 322 – 340.
58. FENG Q, LIANG S, JIA H, et al. Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Nat Commun* 2015, 6.
59. GAO R, KONG C, HUANG L, et al. Mucosa-associated microbiota signature in colorectal cancer. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017, 36 (11): 2073 – 2083.
60. RUBINSTEIN MR, WANG X, LIU W, et al. *Fusobacterium nucleatum* Promotes Colorectal Carcinogenesis by Modulating E-Cadherin/β-Catenin Signaling via its FadA Adhesin. *Cell Host Microbe* [Internet] 2013, 14 (2): 195 – 206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.07.012>
61. DAI Z, COKER OO, NAKATSU G, et al. Multi-cohort analysis of colorectal cancer metagenome identified altered bacteria across populations and universal bacterial markers. *Microbiome* [Internet] 2018, Apr 11, 6 (1): 70. <https://microbiomejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40168-018-0451-2>
62. FUKUGAITI MH, IGNACIO A, FERNANDES MR, et al. High occurrence of *Fusobacterium nucleatum* and *Clostridium difficile* in the intestinal microbiota of colorectal carcinoma patients. *Brazilian J Microbiol* [Internet] 2015, Oct 1, 46 (4): 1135 – 1140. <http://www.scielo.br/j/bjm/a/hRvNFpJCgTWGcqBBSYj3vDS/abstract>
63. WU X, WU Y, HE L, et al. Effects of the intestinal microbial metabolite butyrate on the development of colorectal cancer. *J Cancer* [Internet] 2018, 9 (14): 2510. <https://pmc/articles/PMC6036887/>
64. LIANG J, NAGAHASHI M, KIM EY, et al. Sphingosine-1-Phosphate Links Persistent STAT3 Activation, Chronic Intestinal Inflammation, and Development of Colitis-Associated Cancer. *Cancer Cell* 2013, Jan 14, 23 (1): 107 – 120.
65. DE SIMONE V, FRANZČ E, RONCHETTI G, et al. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF-β synergistically activate STAT3 and NF-κB to promote colorectal cancer cell growth. *Oncogene* 2015, 34 (27): 3493 – 3503. <https://www.nature.com/articles/onc2014286>
66. WU S, RHEE KJ, ALBESIANO E, et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009, 15 (9): 1016 – 1022. <https://www.nature.com/articles/nm.2015>
67. JOHANSSON MEV, HOLMÉN LARSSON JM, HANSSON GC. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host – microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci* [Internet], 2011, Mar 15, 108 (supplement_1): 4659 – 4665. <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1006451107>
68. DEJEA CM, WICK EC, HECHENBLEIKNER EM, et al. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers.

- Proc Natl Acad Sci USA [Internet] 2014, Dec 23, 111 (51): 18321 – 18326. <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1406199111>
69. DEJEA CM, FATHI P, CRAIG JM, et al. Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria. *Science* (80-) [Internet] 2018, Feb 2, 359 (6375): 592 – 597. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aah3648>
70. SHARON G, GARG N, DEBELIUS J, et al. Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell Metab* 2014, 20 (5): 719 – 730.
71. LOWE PP, GYONGYOSI B, SATISHCHANDRAN A, et al. Reduced gut microbiome protects from alcohol-induced neuroinflammation and alters intestinal and brain inflammasome expression. *J Neuroinflammation* 2018, 15 (1): 1 – 12.
72. REBERSEK M. Gut microbiome and its role in colorectal cancer. *BMC Cancer* [Internet] 2021, 21 (1): 1 – 13. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-09054-2>
73. YACHIDA S, MIZUTANI S, SHIROMA H, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. *Nat Med* 2019, 25 (6): 968 – 976. <https://www.nature.com/articles/s41591-019-0458-7>
74. SCHATZKIN A, MOUW T, PARK Y, et al. Dietary fiber and whole-grain consumption in relation to colorectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Am J Clin Nutr* [Internet] 2007, May 1, 85 (5): 1353 – 1360. <https://academic.oup.com/ajcn/article/85/5/1353/4754401>
75. DEEHAN EC, YANG C, PEREZ-MUÑOZ ME, et al. Precision Microbiome Modulation with Discrete Dietary Fiber Structures Directs Short-Chain Fatty Acid Production. *Cell Host Microbe* 2020, Mar 11, 27 (3): 389 – 404.e6.
76. LEE JE, LEE J, KIM JH, et al. Characterization of the Anti-Cancer Activity of the Probiotic Bacterium *Lactobacillus fermentum* Using 2D vs. 3D Culture in Colorectal Cancer Cells. *Biomol* 2019, 9 (10): 557. <https://www.mdpi.com/2218-273X/9/10/557/htm>
77. LENOIR M, DEL CARMEN S, CORTES-PEREZ NG, et al. *Lactobacillus casei* BL23 regulates Treg and Th17 T-cell populations and reduces DMH-associated colorectal cancer. *J Gastroenterol* [Internet] 2016, Sep 1, 51 (9): 862 – 873. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00535-015-1158-9>
78. GARCÍA-GONZÁLEZ AP, RITTER AD, SHRESTHA S, et al. Bacterial Metabolism Affects the *C. elegans* Response to Cancer Chemotherapeutics. *Cell* 2017, 169 (3): 431 – 441.e8.
79. WALLACE BD, WANG H, LANE KT, et al. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science* (80-) [Internet] 2010, Nov 5, 330 (6005): 831 – 835. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1191175>
80. IIDA N, DZUTSEV A, STEWART CA, et al. Commensal Bacteria Control Cancer Response to Therapy by Modulating the Tumor Microenvironment. *Science* (80) 2013, 342 (6161): 967 – 970.
81. MEGO M, CHOVANEC J, VOCHYANOVA-ANDREZALOVA I, et al. Prevention of irinotecan induced diarrhea by probiotics: A randomized double blind, placebo controlled pilot study. *Complement Ther Med* [Internet] 2015, 23 (3): 356 – 362. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctim.2015.03.008>
82. ROSSHART SP, VASSALLO BG, ANGELETTI D, et al. Wild Mouse Gut Microbiota Promotes Host Fitness and Improves Disease Resistance. *Cell* 2017, Nov 16, 171 (5): 1015 – 1028.e13.

Do redakcie došlo 21. 2. 2023.

Adresa pre korešpondenciu:

Ing. Laura Repková

Lambda Life, a. s.

Levočská 3

851 01 Bratislava

E-mail: repkova.laura@persmed.online