

Možnosti uplatnenia probiotík v onkológii

MUDr. Vladimír Holec^{1,2}, MUDr. Agáta Holecová¹, doc. RNDr. Vladimír Zajac, CSc.^{2,4},
prof. MUDr. Ľudovít Danihel, PhD.², Mgr. Zuzana Adamčíková⁴, doc. MUDr. Michal Mego, PhD.³

¹ Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Banská Bystrica

² Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

³ II. onkologická klinika LF UK, Národný onkologický ústav, Bratislava

⁴ Ústav experimentálnej onkológie, SAV, Bratislava

Probiotiká sú živé mikroorganizmy, ktoré ako lieky alebo potravinové doplnky prispievajú k udržaniu zdravotne prospešnej mikrobiologickej rovnováhy v tráviacom trakte človeka alebo iného hostiteľa (1). Ich účinok je veľmi úzko prepojený s prirodzenou funkciou črevnej flóry. Ich aplikácia býva spojená s dobrou toleranciou a minimálnymi rizikami. Môžu sa výrazne uplatniť v liečbe a predovšetkým v prevencii mnohých civilizačných ochorení, ktorých významná časť patrí medzi onkologické. Môžeme uvažovať nielen o ich úlohe v samotnej prevencii týchto ochorení, ale aj o ich postavení ako doplnkovej liečby, o ich potenciálnom využití pri liečbe komplikácií spôsobených agresivitou existujúcej základnej liečby a v budúcnosti možno aj ďalšom zásadnejšom využití. Prekážkou ich možného širšieho uplatnenia v onkológii je však stále nedostatok skúseností u týchto pacientov, predovšetkým vzhľadom na riziko vyvolania iatrogénnej infekcie. Predpokladom ich širšieho použitia je dostupnosť bezpečných kmeňov s dokázanou klinickou účinnosťou.

Kľúčové slová: probiotiká, onkológia, liečba, prevencia.

Possibility of applying probiotics in oncology

Probiotics are live microorganisms, which in the form of drugs or food supplements contribute to maintaining health-enhancing microbiological balance in the digestive tract of human or other host (1). Their effect is closely related to natural function of the intestinal flora. Their application is associated with good tolerance and minimal risk. They could be well applied in therapy and especially in the prevention of many civilisation disorders, which include a significant proportion of the cancer diseases. We could think not only about their role in the actual prevention of these diseases, but also about their status as a complementary therapy for their potential use in the treatment of complications caused by aggressivity of the existing basic treatment and maybe also another essential use in the future. Obstacle for the possibility to their wider application in oncology is still a lack of experiences in these patients, mainly with regard to evoking the iatrogenic infection. The main assumption of their wider application is the availability of safe strains with proven clinical efficiency.

Key words: probiotics, oncology, therapy, prevention.

Onkológia (Bratisl.), 2011; roč. 6 (4): 224–229

Úvod

Záujem o probiotické kmene a ich preventívny a liečebný potenciál vo všetkých oblastiach stále rastie. Aj keď je ich použitie v onkológii stále obmedzené, zvyšujúce sa množstvo dôkazov o ich bezpečnosti a hlavne prirodzenom a nenahraditeľnom účinku poukazuje na možnosť ich budúceho širšieho využitia aj v tejto oblasti.

Probiotiká ako adjuvantná forma liečby

Už dnes môžeme probiotickú adjuvantnú terapiu využiť na viacerých úrovniach. Bežnou komplikáciou liečby nádorového ochorenia je nutnosť redukcie dávky chemoterapie pre častý výskyt gastrointestinálnych nežiaducich účinkov, prejavujúcich sa vo forme hnačky, nechutenstva, vracania a nevoľnosti, čo pôsobí v neprospech pacienta a významne znižuje úspešnosť liečby.

Na vzniku hnačky v priebehu liečby nádorového ochorenia môže participovať viacero faktorov:

1. Dismikróbia vyvolaná širokospektrálnymi antibiotikami.

2. Predispozícia k infekčnej hnačke u imunosuprimovaného pacienta.

3. Malabsorbcia na podklade mukozitídy vyvolanej chemoterapiou.

4. Účinok žiarenia, chemoterapeutík alebo ich metabolitov na črevnú sliznicu a jej priame poškodenie.

Dostupná literatúra najčastejšie spája negatívny vplyv chemoterapie na gastrointestinálny systém s irinotekanom a 5-fluorouracilom.

Na mechanizme, akým irinotekan poškodzuje sliznicu a vyvoláva hnačku sa do značnej miery podieľa jeden z jeho metabolitov – SN38, ktorý je po hepatálnej glukuronidizácii vylučovaný do črevného lumenu, kde je vplyvom aktivity bakteriálnej beta-glukuronidázy opätovne dekonjugovaný. V tejto forme vyvoláva priame poškodenie črevnej sliznice. Je známe, že probiotické baktérie znižujú aktivitu beta-glukuronidázy, čím by sa mohli uplatniť v prevencii hnačky u pacientov liečených irinotekanom (2). Tento rok bola zahájená slovenská multicentrická štúdia fázy III, ktorej cieľom je zistiť

efektívitu probiotík oproti placebo u pacientov s metastatickým kolorektálnym karcinómom liečených chemoterapiou na báze irinotekanu (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01410955). Do štúdie by malo byť zaradených 220 pacientov v 6 centrách na Slovensku.

5-fluorouracil vedie okrem priameho poškodenia slizníc aj k laktózovej intolerancii. Štúdia s podávaním *Lactobacillus rhamnosus* v kombinácii s vlákninou dokázala významnú redukciu gastrointestinálnych komplikácií liečby 5-fluorouracilom u kolorektálneho karcinómu a potvrdila možnosť použitia tejto synbiotickej kombinácie v úlohe potentného antiemetika (3). Taktiež sa uvažuje o jej podobnom využití v spojitosti s chemoterapiou pokročilého karcinómu prsníka (4).

V dôsledku poškodenia slizníc a alterácie fyziologickej črevnej flóry je s rozvojom gastrointestinálnych ťažkostí spojená aj rádioterapia nádorových ochorení, hlavne čo sa týka aplikácie tumoricídnej dávky na oblasť panvy a brucha. Bolo uskutočnených viacero animálnych i humánnych štúdií, ktorých primárnym cieľom

bolo zhodnotenie preventívneho účinku probiotických kmeňov pri hnačke indukovanej rádiáciou. Ich výsledky poukazujú na pozitívny efekt probiotík v zmysle zníženej incidencie hnačiek a prejavov poškodenia slizníc. Randomizovaná placebo kontrolovaná štúdia so zaradením 206 pacientov podstupujúcich rádioterapiu na oblasť brucha a malej panvy, ktorým bol podávaný *Lactobacillus rhamnosus*, preukázala výrazne znížený výskyt hnačky v skupine pacientov s adjuvantnou probiotickou liečbou. (5).

Liečba onkologických ochorení sa častokrát spája s nutnosťou použitia antibiotickej terapie. Význam probiotík v úprave dysmikróbie je podložený výsledkom metaanalýzy 9 randomizovaných placebo kontrolovaných štúdií, ktorá ukázala signifikantné zníženie incidencie s antibiotikami asociovanej hnačky u detí. Ďalšia metaanalýza 23 štúdií ukázala štatisticky významné zníženie rizika a trvania infekčnej hnačky. Väčšina týchto štúdií bola uskutočnená s probiotickým kmeňom *L. rhamnosus* GG (6).

Alterácia fyziologickej črevnej flóry širokospektrálnymi antibiotikami u imunokompromitovaného pacienta vedie tiež k riziku získania virulentných baktérií. Febrilná neutropénia je tak naďalej potenciálnou život ohrozujúcou komplikáciou liečby nádorového ochorenia. Pričom zdrojom 80 % infekcií v priebehu neutropénie je endogénna flóra mechanizmom bakteriálnej translokácie oslabenou črevnou sliznicou a systémovou disemináciou. Baktérie mliečneho kvasenia kompetitívne inhibujú rast patogénnych mikróbov, produkujú bakteriocíny a zvyšujú transepitelovú rezistenciu. Stimulujú lokálnu aj systémovú imunitnú odpoveď, aj keď miera tejto stimulácie vzhľadom na imunosupresiu v dôsledku základného ochorenia a liečby nie je presne objasnená. Vzhľadom na tieto skutočnosti sa uvažuje o ich využití v prevencii febrilnej neutropénie. Skúsenosti s podávaním živých bakteriálnych kmeňov imunosuprimovaným onkologickým pacientom sú ale značne obmedzené kvôli obavám z vyvolania iatrogénnej infekcie.

Pilotná klinická štúdia s týmto zameraním, v ktorej sa overovala možnosť prevencie febrilnej neutropénie baktériami mliečneho kvasenia prostredníctvom probiotického kmeňa *Enterococcus faecium* M-74 spoločne so selénom, bola realizovaná v spolupráci s Národným onkologickým ústavom. Cieľom štúdie bolo stanovenie dávky a dôkaz bezpečnosti probiotickej terapie u pacientov s onkologickými a hematologickými malignitami. Štúdia prebiehala v 2 fázach. VI. fáze bolo zaradených 6 pacientov s nádorom z germinatívnych buniek a 5 pacientov s relapsom akút-

nej leukémie liečených chemoterapiou, v II. fáze 14 pacientov s myeloidnou leukémiou s dvojnásobnou dávkou viabilných kmeňov oproti fáze I. Počas podávania adjuvantnej probiotickej terapie týmto pacientom bolo zaznamenaných viacero febrilných epizód, no žiadna nebola vyvolaná probiotickým kmeňom. Počas štúdie taktiež neboli pozorované žiadne závažné nežiaduce účinky. Týmto bola potvrdená bezpečnosť podávania probiotického kmeňa *Enterococcus faecium* M-74 so selénom onkologickým pacientom so závažnou neutropéniou. Použitý kmeň sa síce v prevencii febrilnej neutropénie ukázal ako neefektívny, čo však nevylučuje možný protektívny účinok iných probiotických kmeňov (6). Podobná štúdia so zameraním na možnosť prevencie febrilnej neutropénie u pediatrických onkologických pacientov probiotickými baktériami kmeňa *Lactobacillus rhamnosus* LGG a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 v kombinácii s inulínom a oligofruktózou v súčasnosti prebieha na pracovisku pediatrickej onkológie a hematológie Detskej fakultnej nemocnice s poliklinikou v Banskej Bystrici. Tento rok je plánované rozšírenie štúdie aj na ďalšie dve centrá detskej onkológie na Slovensku.

Hepatocelulárny karcinóm

Viaceré štúdie realizované na animálnych a in vitro modeloch dokázali možný sľubný prínos probiotík v prevencii hepatocelulárneho karcinómu. Štúdia s použitím probiotického kmeňa *Spirulina platensis* na animálnych potkaních modeloch a in vitro modele na línii HepG2 buniek pochádzajúcich z ľudského hepatocelulárneho karcinómu priniesla zaujímavé výsledky. Cieľom štúdie bolo dokázať schopnosť chemopreventie tohto probiotického kmeňa voči hepatálnej karcinogenéze a hepatotoxicite indukovanej dibutyl nitrosamínovými prekurzormi. Pri orálnej aplikácii probiotík pokusným zvieratám bolo zaznamenané nielen spomalenie rastu tumorov, ale aj zníženie incidencie hepatálneho Tu u potkanov z 80 % na 20 %. U in vitro modelu bola pozorovaná inhibícia bunkovej proliferácie a indukcia apoptózy u nádorových buniek. Štúdia jednoznačne poukázala na pravdepodobný chemopreventívny potenciál použitého probiotického kmeňa (7).

Karcinóm močového mechúra

V Japonsku boli realizované štúdie s cieľom preukázať preventívny účinok orálnej administrácie kmeňa *Lactobacillus casei* pri zabránení recidívy superficiálneho karcinómu močového mechúra po jeho transuretrálnej resekcii. V prvej randomizovanej štúdií bolo zaradených 58 pacientov. Druhá, dizajnovaná ako dvojitozaslepená, bola

realizovaná na 138 pacientoch. V oboch štúdiách bol dokázaný preventívny efekt na rekurenciu tumoru u pacientov s primárnym a rekurentným jednopčetným karcinómom, pričom bola taktiež jednoznačne preukázaná bezpečnosť tejto terapie. Signifikantne významné rozdiely neboli pozorované len v skupine pacientov s rekurentným mnohopčetným karcinómom (8, 9).

V podobnej porovnávacej štúdií s použitím kombinácie Epirubicín + *Lactobacillus casei* vs. sólo terapia Epirubicínom bol dokázaný aditívny účinok probiotika. Trojročné prežívanie bez rekurencie bolo signifikantne vyššie u pacientov, ktorí okrem lokálne podávaného epirubicínu orálne užívali tiež spomínaný kmeň. Avšak rozdiel v celkovom prežívaní zaznamenaný nebol (10).

Karcinóm žalúdka

Aj pri tomto ochorení bude zrejme možné probiotický potenciál niektorých kmeňov využiť viacerými spôsobmi.

Chemopreventívne účinky probiotík pri tomto type malignity boli preukázané na in vitro modeli. Realizovaná štúdia mala za cieľ potvrdiť schopnosť chemopreventie probiotického kmeňa *Lactobacillus rhamnosus* na neoplastickú proliferáciu karcinómu žalúdka reprezentovaného bunkovou líniou HGC-27. U viacerých typov nádorových ochorení sú zvýšené intracelulárne hladiny polyamínov signifikantne asociované s rizikom karcinogenézy a je predpoklad ich využitia ako špecifických markerov neoplastickej proliferácie. V dôsledku toho všetky substancie interferujúce s metabolizmom polyamínov, alebo ich biologickou úlohou, sa stávajú zaujímavými z hľadiska chemopreventie a terapie. Administrácia probiotického homogenátu signifikantne redukovala aktivitu ornitín dekarboxylázy, ktorá je asociovaná so zvýšeným množstvom polyamínov. Naopak, podávanie viedlo k indukcii enzýmu spermine N1-acetyltransferázy, ktorý sa spája so znížením polyamínového poolu a vedie tak k inhibícii rastu tumoróznych buniek. Homogenát teda nielen narušil syntézu polyamínov, ale taktiež podporil ich katabolizmus. Napriek mnohým zisteniam, ale presný mechanizmus, ktorým probiotické baktérie ovplyvňujú metabolizmus a bunkovú proliferáciu, ešte nie je známy (11).

Infekcia *H. pylori* spôsobuje chronickú gastritídu s rôznym stupňom aktivity, ktorá sa však nemusí klinicky manifestovať. Keďže väčšina infikovaných ľudí nedostane počas života žiadne z ochorení, na vzniku ktorých sa *H. pylori* podieľa, stále viac sa diskutuje o indikáciách na jeho eradikáciu. Medzi nesporné indikácie patria prave adenokarcinóm a MALT lymfóm žalúdka (12).

Na eradikáciu *H. pylori* sa zvyčajne používa trojkombinácia alebo štvorkombinácia antibiotík. Okrem rezistencie sa na zlyhaní eradikačnej liečby podieľa tiež spolupráca pacienta, ktorá je do značnej miery ovplyvnená nežiaducimi účinkami antibiotík vedúcich k črevnej dysmikrobií. Probiotiká by sa svojimi vlastnosťami mohli v tejto problematike uplatniť na viacerých úrovniach:

- 1) ako súčasť eradikačnej liečby s antibiotikami, pri ktorej znižujú nežiaduce účinky antibiotík, a tým zlepšujú spoluprácu pacienta;
- 2) priamym účinkom na *H. pylori*, ktorým bránia jeho adhéziu a znižujú zápal sliznice;
- 3) ako súčasť udržiavacej liečby po úspešnej eradikácii.

Viacere *in vitro* a animálne štúdie ukázali pozitívny vplyv probiotík na infekciu vyvolanú *H. pylori*. Bolo tiež publikovaných viacero klinických štúdií s probiotikami. Zo 6 štúdií, v ktorých boli použité samostatne, sa v 3 pozorovala výrazná supresia a v 2 dokonca eradikácia helicobaktera. V 7 štúdiách s použitím kombinácie probiotík a antibiotík bolo preukázané, že probiotiká zlepšujú výsledky eradikačnej liečby. Počet pacientov v uvedených štúdiách bol pomerne nízky a niektorým možno vytknúť metodologické chyby, no napriek tomu možno považovať kombináciu antibiotík s probiotikami za štandard v eradikačnej liečbe s cieľom kontroly vedľajších účinkov antibiotickej liečby. V metaanalýze kombinácia probiotika so štandardnou eradikačnou liečbou antibiotikami bola spojená s účinnejšou eradikáciou asi o 10 % v porovnaní so samotnými antibiotikami (81 % vs. 71 %, $p = 0,03$). Taktiež prídanie probiotík bolo spojené s výraznou redukciou nežiaducich účinkov (23 % vs. 46 %, $p = 0,04$) (13). Eradikácia helicobaktera samotným probiotikom zostáva v súčasnosti len experimentálnym prístupom. Aspoň dovtedy, kým nebudú k dispozícii kmene s vyššou účinnosťou (12).

Kolorektálny karcinóm

Už dlhší čas je prijímaná predstava, že baktérie zohrávajú významnú úlohu v procese vzniku a vývoja kolorektálneho karcinómu (KK) (14). Incidencia karcinómu hrubého čreva je podstatne vyššia v porovnaní s karcinómom tenkého čreva. Hypoteticky sa tento rozdiel vysvetľuje odlišným kvantitatívnym zastúpením baktérií v tenkom a hrubom čreve.

Možné protektívne pôsobenie probiotických baktérií na vznik nádorov hrubého čreva je prehľadne uvedené v tabuľke.

Vo viacerých štúdiách bola preukázaná jasná spojitosť medzi IBD a zvýšeným rizikom KK, preto liečbu týchto ochorení môžeme nepriamo po-

Tabuľka 1. Protektívny účinok probiotík na vznik nádorov hrubého čreva

1. Supresia rastu a metabolickej aktivity baktérií tvoriacich karcinogény
2. Väzba karcinogénov
3. Tvorba antimutagénnych látok
4. Immunostimulačný účinok
5. Inhibícia konverzie žľočových kyselín na sekundárne a terciálne
6. Tvorba butyrátu a ďalších látok stimulujúcich apoptózu abnormálnych buniek
7. Protektívny vplyv na idopatické črevné zápal

kladať taktiež za formu prevencie KK. Pri vzniku zápalu hrá práve črevná mikroflóra významnú úlohu, čo bolo preukázané na experimentálnych myšičích modeloch s genetickými alteráciami génov ovplyvňujúcich imunitný systém. Práve zápal, ktorý môže byť spojený so vznikom adenokarcinómu, sa objavuje v miestach najvyššej koncentrácie črevnej mikroflóry a naopak, prenesenie myši do bezmikróbného prostredia zabránilo vzniku črevného zápalu, ale i nádoru. Podobný efekt malo aj použitie antibiotík, ktoré viedli k potlačeniu črevnej flóry (15, 16). Ďalšou zaujímavou skutočnosťou je, že práve u pacientov s IBD sa často vyskytuje mikrosatelitová instabilita vedúca k inaktivácii TGF-beta dráhy. U TGF-beta-1 deficientných myši bola pozorovaná tvorba zápalových a prekanceróznych lézií, avšak pri chove týchto myši v bezmikróbnom prostredí sa tomuto podarilo zabrániť (17). U niektorých experimentálnych zvierat dlhodobé podávanie dextran sulfátu vedie k vzniku ulceróznej kolitídy, k dysplastickým zmenám, až k vývoju adenokarcinómu. Podávanie metronidazolu u takýchto škrečkov viedlo k redukcii anaeróbnej flóry, čo malo protektívny efekt a zabránilo vzniku karcinómu v tomto experimentálnom modeli (18). Na ďalšom experimentálnom modeli kolitídy u potkanov bolo tiež preukázané, že za vznik zápalu sú zodpovedné hlavne anaeróbne baktérie rodu *Bacteroides*. Tieto skutočnosti potvrdzujú predpoklad, že len niektoré zložky črevnej flóry majú schopnosť vyvolať zápal. Stále ale nie je známe, či ide o špecifické pôsobenie týchto baktérií, alebo ide o nešpecifický efekt tzv. bakteriálnych superantigénov (19). Viaceré štúdie potvrdili až prekvapivú účinnosť probiotík pri liečbe pacientov s ulceróznou kolitídou. U pacientov s aktívnou miernou až stredne ťažkou kolitídou neodpovedajúcich na mesalazín aplikácia probiotickej kombinácie VSL 3 (4 kmene laktobacilov, 3 kmene bifidobaktérií a *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) preukázala výrazné zlepšenie stavu (20). Ekvivalentnú efektívitu pri navodení remisie v porovnaní so štandardne používaným mesalazínom v randomizovanej štúdií ukázalo aj podávanie kmeňa *E. coli* Nissle. Efekt baktérií

mliečneho kvasenia bol opakovane potvrdený aj pri sledovaní udržania remisie tohto ochorenia. Pri udržaní remisie indukovanej sulfasalazínom a glukokortikoidmi podávanie kombinácie troch druhov bifidobaktérií bolo účinnejšie v porovnaní s placebom. Aj publikovaný systematický prehľad skúmajúci efektívitu probiotík v udržaní remisie ulceróznej kolitídy ukázal, že ich efektívnosť a bezpečnosť je porovnateľná s výsledkami liečby protizápalovými liekmi štandardne používanými v tejto indikácii. I keď štúdie mali viaceré metodologické limitácie, ako najefektívnejšie z použitých probiotík sa ukazujú bifidobaktérie (21).

I keď dosiahnuté výsledky sú slubné, panuje všeobecný konsenzus, že predtým, než sa probiotiká stanú súčasťou bežnej klinickej praxe, sú potrebné väčšie klinické štúdie.

Črevné baktérie plnia taktiež veľmi dôležitú funkciu pri fermentácii a degradácii zvyškov potravy. Produktmi týchto reakcií sú mastné kyseliny s krátkym reťazcom, ktoré slúžia ako významný zdroj energie pre kolonocyty. V poslednej dobe sa dokonca ukázalo, že v bunkách karcinómových línií sú tieto mastné kyseliny schopné indukovať apoptózu (22).

Ďalšou skupinou látok, u ktorých bol dokázaný pozitívny vplyv pri prevencii vzniku KK, sú prebiotiká. Sú to súčasťou potravy, ktoré nie sú degradované pankreatickými a črevnými enzýmami v tráviacom trakte a ako také slúžia ako substrát pre fermentáciu bakteriálnou flórou v čreve. Ďalšou podmienkou na to, aby sme látku mohli nazvať prebiotikom, je, že táto musí byť fermentovaná selektívne, čoho následkom má byť zlepšenie intestinálnej flóry (relatívne zvýšenie sacharolytickej flóry je často sprevádzané poklesom proteolytickej fermentácie, indikátormi sú práve bifidobaktérie a baktérie mliečneho kvasenia). Zmeny v zložení a v metabolickej aktivite črevnej flóry sú základom pozitívneho účinku prebiotík. Tento pozitívny účinok zahŕňa zlepšenie činnosti čreva a absorpcie minerálov, moduláciu lipidového metabolizmu a imunitného systému, a v neposlednej rade spomalenie procesu karcinogenézy (23). Jeden z predpokladaných mechanizmov účinku prebiotík spočíva zrejme vo zvýšenom množstve butyrátu produkovaného alterovanou flórou (24). Pre- a probiotiká sa často využívajú ako kombinácia, t. j. synbiotikum, keď sa uplatňuje synergický účinok oboch zložiek.

Odpoveď na otázku, či synbiotiká majú naozaj protektívny účinok u KK aj u ľudí, sa pokúsila dať štúdia SYNCAN. Zároveň autori porovnali účinnosť prebiotík, probiotík a synbiotík na zvieracích modeloch. Pri použití animálnych modelov chemicky indukovanej karcinogené-

zy viedla prebiotická a synbiotická diéta, nie však čisto probiotická, k signifikantnej redukcii incidencie tumorov v hrubom čreve, pričom množstvo butyrátu bolo pri týchto dvoch diétach taktiež signifikantne vyššie (25). Fekálna voda (FV) predstavuje vodnú fázu fekálií. Jej cyto- a genotoxický potenciál určuje množstvo rozpustných faktorov schopných indukovať poškodenie v črevnej mukóze. FV bola extrahovaná z fekálií potkanov, ktoré opäť dostávali všetky tri druhy diét, a in vitro aplikovaná na bunkové kultúry. FV od zvierat liečených pre- a synbiotikami mala signifikantne nižší genotoxický potenciál u ľudských bunkových línií v porovnaní s kontrolnou skupinou (26). Korelácia medzi genotoxickou aktivitou fekálií a incidenciou tumorov poukazuje na to, že redukcia genotoxicity FV by mohla byť ďalším mechanizmom chemoprevenencie karcinogenézy. Prebiotikami a synbiotikami indukovaná fermentácia v čreve redukuje tiež expozíciu črevnej mukózy genotoxínom.

Pri chemicky indukovanej kancerogenéze dochádza u zvierat k supresii imunitného systému. U potkanov kŕmených prebiotikami (oligofruktózou obohatený inulín) alebo synbiotikami (oligofruktózou obohatený inulín + *Lactobacillus rhamnosus* + *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) bol imunosupresívny efekt kancerogénov v slezine, mesenterických lymfatických uzlinách a v Peyerových plakoch (PP) zmiernený a jeho úroveň dosiahla úroveň kontrolnej skupiny zdravých zvierat. Tento efekt však nebol pozorovaný pri použití čisto probiotickej diéty. (23) Na základe týchto skutočností možno uvažovať o ďalšom mechanizme účinku pre- a synbiotík spočívajúcom v stimulácii NK-buniek a vo vzostupe IL-10 produkovaného v PP. (27)

Na základe analýzy viacerých markerov môžeme teda povedať, že použitá kombinácia synbiotík (oligofruktózou obohatený inulín + *Lactobacillus rhamnosus* + *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) dokáže v čreve redukovať genotoxicitu, zvýšiť množstvo butyrátu, stimulovať imunitný systém v boji proti rakovinovým bunkám, tlmiť zápal a redukovať poškodenie DNA (23).

Podstatou štúdie SYNCAN však bolo preukázanie účinku synbiotík u ľudí, pričom jadro tvorila dvojitozaslepená, placebom kontrolovaná štúdia účinku synbiotík u pacientov po polypektómii a po operácii KK, u ktorých sa je všeobecne dokázané zvýšené riziko vzniku KK. Výsledky boli veľmi pozoruhodné. Táto intervencia u pacientov po polypektómii signifikantne redukovala proliferáciu buniek kolorekta, znížila kapacitu FV

indukovať nekrozu týchto buniek a zlepšila bariérovú funkciu epiteliálnych buniek. Genotoxická analýza bioptických vzoriek sliznice hrubého čreva u tejto skupiny pacientov odobratých na záver intervencie taktiež preukázala zníženie miery expozície sliznice genotoxínom a konzumácia synbiotík u nich taktiež zabránila zvýšenej sekrecii IL-2 mononukleámi v periférnej krvi. U skupiny pacientov po operácii KK bola pozorovaná zvýšená produkcia interferónu gama. Tieto výsledky potvrdili, že synbiotiká majú významný protektívny účinok u pacientov so zvýšeným rizikom vzniku KK. Zaujímavým bolo tiež zistenie, že každá skupina reagovala na podanie synbiotík odlišným spôsobom, keď v jednotlivých skupinách sledované biomarkery vykazovali rôzne zmeny. Predpokladá sa, že tento rozdiel bol pravdepodobne spôsobený vyššou mierou refraktérnosti črevnej mikroflóry u pacientov po resekcii KK (28)

V súčasnosti však nie je známe, či probiotikami indukované zmeny v biomarkeroch sa prejavujú aj do klinického efektu, a či teda aplikácia probiotík povedie k zníženiu rekurencie polypov, resp. vzniku kolorektálneho karcinómu. Štúdie skúmajúce klinický efekt probiotík v prevencii KK stále prebiehajú.

Ca prsníka

Použitie probiotík v tejto oblasti zostáva zatiaľ skôr v hypotetickej rovine. Viaceré hypotézy pripisujú patogénnym bakteriálnym kmeňom, resp. mikrobiálnym komponentom, úlohu v etiopatogenéze vzniku a v progresii karcinómu prsníka. Ako už bolo spomínané, evidencia jasnej mikrobiálnej súvislosti v etiopatogenéze je ale stále výrazne silnejšia pri karcinóme žalúdka a hrubého čreva. S karcinómom prsníka sú dávané do súvislosti najmä mikróby bez bunkovej steny a L-formy mikroorganizmov. Relatívne novým poznatkom je fakt, že mikróby môžu vyvolať aj distálnu onkogénnu odpoveď. Nedávna štúdia poukazuje na elevovanú hladinu TNF-alfa, ktorý je pokladaný za marker neoplastického procesu pri karcinóme prsníka myši infikovaných *Helicobacter hepaticus*. Viacero autorov spája patogénne črevné baktérie s extraintestinálnym vývojom nádoru prsníka, avšak mechanizmus, ktorým spúšťajú zápal a indukujú extraintestinálne tumory, zostáva nejasný. Nimi vyvolaný chronický infekt pravdepodobne vedie u hostiteľa k imunitnej odpovedi, ktorá je schopná u určitej skupiny pacientov exacerbovať onkologické ochorenie. Táto odpoveď zahŕňa zvýšenie počtu „tumor-asociovaných“ makrofágov ako aj prozápalových cytokínov, ktoré môžu zohrať

významnú úlohu vo vývoji a progresii karcinómu prsníka. Vytvorené cytokíny udržiavajú zápalovú reakciu a zmnožené imunokompetentné bunky môžu produkovať voľné radikály, ktoré dokážu spôsobiť bunkové poškodenie a následne spustiť onkogenézu. Probiotické baktérie, schopné kompetitívne vytesňovať patogénne intestinálne mikrobiálne kmene a modulovať imunitnú odpoveď, by teda mohli hrať kľúčovú úlohu v prevencii samotného vzniku viacerých nádorových ochorení.

Už dnes sa uvažuje o možnosti použitia baktérií ako vektorov pre rôzne spôsoby liečby. Zásadnými predpokladmi sú ich nepatogénnosť a genetická modifikovateľnosť, schopnosť zacieľiť tumor v normálnom tkanive a dopraviť, alebo aktivovať účinnú látku v mieste určenia (29). Recentné štúdie ukazujú, že určité anaeróbne mikróby preferenčne kolonizujú hypoxické časti tumorov a sú schopné spôsobiť ich bunkovú lýzu. Pri podávaní upraveného kmeňa *Clostridium novyei*, zbaveného svojho letálneho toxínu, myšiam boli tieto baktérie schopné usmrtiť viabilné nádorové bunky. V ďalšej štúdii bol pozorovaný rast *Bifidobacterium longum* preferenčne v hypoxických častiach solídnych nádorov. Optimálna účinnosť anaeróbnej mikrobiálnej terapie bola potvrdená pri použití kombinácie intravenózneho spóru *Clostridium novyei* spoločne s chemoterapiou. Keď bola injekcia spór u pokusných myši aplikovaná pred podaním derivátu doxorubicínu, táto kombinácia viedla k výraznejšiemu zmenšeniu tumoru v porovnaní s použitím sólo terapie spomínaných preparátov. Ako kľúčový enzým zodpovedný za zlepšenie výsledkov kombinovanej liečby bola identifikovaná „lipozomáza“ (4). Aj keď išlo v celom rozsahu o experimentálne modely, sledované výsledky jasne poukazujú na ich veľký potenciál a možnosť využitia v nových terapeutických prístupoch.

Záver

Probiotiká sa môžu uplatniť nielen v liečbe viacerých ochorení tráviaceho traktu, ale pravdepodobne i v prevencii malígnych ochorení, prípadne ako súčasť ich podpornej liečby. Nevyhnutným predpokladom ich širšieho použitia je dostupnosť bezpečných kmeňov s dokázateľnou klinickou účinnosťou.

Podakovanie

Za podporu a spoluprácu chceme touto cestou poďakovať doc. RNDr. Milošovi Mikušovi, CSČ.

Táto práca bola podporená grantom VEGA 1/0722/11.

Literatúra

1. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; 66: 365-378.
2. Mego M. Probiotiká a onkologické ochorenia. In: Kuchta M., Pružinec P. et al: Probiotiká, ich miesto a využitie v medicíne, Bonus CCS, 2006.
3. Osterlund P, Ruotsalainen T, Korpela R. et al. Lactobacillus supplementation for diarrhoea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomized study. *Brit J Cancer*, 2007; 9: 209.
4. Nackerdien ZE. Perspectives on microbes as oncogenic infectious agents and implications for breast cancer. *Medical Hypotheses*, 2008; 71: 302-306.
5. Urbancsek H, Kazar T, Mezes I, Neumann K. Results of a double-blind, randomized study to evaluate the efficacy and safety of Antibiofilus in patients with radiation-induced diarrhoea. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2001; 13: 391-6.
6. Mego M, Končeková R, Mikusková E. et al. Prevention of febrile neutropenia in cancer patients by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74. Phase II study. *Support Care Cancer*, 2006; 14: 285-90.
7. Ismail MF, Ali DA, Fernando A. et al. Chemoprevention of rat liver toxicity and carcinogenesis by Spirulina. *Int J Biol Sci*, 2009; 5: 377-387.
8. Aso Y, Azaka H. Prophylactic effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer BLP Study Group. *Urologia internationalis*, 1992; 49: 125-12.
9. Aso Y, Azaka H, Naito S. et al. Preventive effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial The BLP Study Group. *European Urology*, 1995; 27: 104-109.
10. Naito S, Koga H, Kinukawa N. et al. Prevention of recurrence with Epirubicin and Lactobacillus casei after transurethral resection of bladder cancer. *The J of Urology*, 2008; 179: 485-490.
11. Linsalata M, Cavallini A, Russo F. et al. Lactobacillus rhamnosus GG influences polyamine metabolism in HGC-27 gastric cancer cell line: a strategy toward nutritional approach to chemoprevention of gastric cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 2010; 16: 847-853.
12. Bunganič I., Pracovná skupina pre H. pylori pri SGS, Závazné doporučenia liečby infekcie Helicobacter pylori* 2004, 41-42.
13. Pantoflickova D., Corthese-Thelau I., Blum AL. Helicobacter pylori and probiotics. *J Nutr*, 2007; 137: 812-818.
14. Hill MJ, Drasar BS, Williams RE. et al. Bacteria and etiology of cancer of large bowel. *Lancet*, 1971; 1: 95-100.
15. Merger M, Croitoro K. Infections in the immunopathogenesis of chronic inflammatory bowel disease. *Semin Immunol*, 1998; 10: 69-78.
16. Sartor RB. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterol Clin North Am*, 1995; 24: 475-507.
17. Engle SJ, Ormsby I, Doetschman T. et al. Elimination of colon cancer in germ-free transforming growth factor beta 1-deficient mice. *Cancer Res*, 2002; 62: 6362-6366.
18. Yamada M, Ohkusa T, Okayasu I. Occurrence of dysplasia and adenocarcinoma after experimental chronic ulcerative colitis in hamsters induced by dextran sulphate sodium. *Gut*, 1992; 33: 1521-1527.
19. Jablonská M. et al. Kolorektálny karcinóm, včasná diagnóza a prevencia, Grada, Publishing, 2000.
20. Ewaschuk JB, Dieleman LA. Probiotics and prebiotics in chronic inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.*, 2006; 12: 5941-5950.
21. Zigra PI, Maipa VE, Alamanos YP. Probiotics and remission of ulcerative colitis: a systematic review. *The Netherlands J of medicine*, 2007; 65: 411-418.
22. Hague A, Paraskeva C. The short-chain fatty acid butyrate induces apoptosis in colorectal tumour cell lines. *Eur J Cancer Prev*, 1995; 4: 359-364.
23. Van Loo J, Clune Y, Bennett M, Collins J. The SYNCAN project: goals, set-up, first results and settings of the human intervention study. *British J of Nutrition*, 2005; 93: 91-98.
24. Klinder A, Gietl E, Pool-Zobel B. et al. Gut fermentation products of inulin-derived prebiotics inhibit markers of tumor progression in human colon tumor cells. *J Cancer Prev*, 2003; 1: 19-32.
25. Femia AP, Luceri C, Caderni G. et al. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*, 2002; 23: 1953-1960.
26. Klinder A, Foerster A, Pool-Zobel B. et al. Fecal water genotoxicity is predictive of tumor preventive activities by inulin like oligofructoses, probiotics (L.rhamnosus and B.lactis), and their synbiotic combination. *Nutr Cancer*, 2004; 49: 144-155.
27. Roller M, Femia AP, Watzl B. et al. Intestinal immunity of rats with colon cancer is modulated by oligofructose-enriched inulin combined with Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis. *Br J Nutr*, 2004; 92: 931-938.
28. Rafter J, Bennett M, Collins JK. et al. Dietary symbiotics reduced cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am J Clin Nutr*, 2007; 85: 488-496.
29. St.Jean AT, Zhang M, Forbes NS. Bacterial therapies: Completing the cancer treatment toolbox. *Curr Opin Biotechnol*, 2008; 19: 511-517.

MUDr. Vladimír Holec

*Detská fakultná nemocnica
s poliklinikou, Banská Bystrica
Nám. L. Svobodu č. 4
974 09 Banská Bystrica*
