

Úloha mikrobiómu pri transplantáciách krvotvorných kmeňových buniek u hematoonkologických pacientov

RNDr. Soňa Čierniková, PhD.¹, doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc.², MUDr. Barbora Kašperová², Viola Števrková¹, Bc. Nikola Ižoldová³, prof. MUDr. Michal Mego, DrSc.⁴

¹Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

²Klinika onkohematológie LF UK a NOÚ, Bratislava

³Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta UK

⁴II. onkologická klinika LF UK a NOÚ, Bratislava

Predklinický výskum a klinické štúdie odhalili dôležitú úlohu intestinálneho mikrobiómu v etiológii a progresii nádorových ochorení, a tiež v odpovedi pacientov na protinádorovú liečbu. Chemoterapia a rádioterapia oslabujú imunitu pacienta a devastujúcim spôsobom narúšajú črevnú rovnováhu. Poškodená integrita črevného epitelu umožňuje translokáciu baktérií do krvného obehu a vyvolanie závažných infekčných komplikácií. Nakoľko sú tieto liečebné modality súčasťou prípravných režimov pred transplantáciou krvotvorných kmeňových buniek (TKB), viaceré štúdie sledovali vplyv zmien v zložení črevného mikrobiómu na klinické parametre pacientov po TKB. Z výsledkov vyplýva, že riziko reakcie štepu proti hostiteľovi („graft versus host disease“ – GvHD) a vyššia úmrtnosť sú asociované so znížením bakteriálnej diverzity, ku ktorej dochádza počas terapie. V súčasnosti prebieha niekoľko klinických štúdií zameraných na terapeutické možnosti modulácie črevnej mikróflóry u hematoonkologických pacientov podstupujúcich TKB.

Kľúčové slová: mikrobióm, dysbióza, transplantácia krvotvorných kmeňových buniek, reakcia štepu proti hostiteľovi, modulácia črevnej mikróflóry

Role of the gut microbiome in hematologic cancer patients receiving hematopoietic stem cell transplantation

Preclinical and clinical studies highlighted the considerable impact of the gut microbiome on cancer development and progression, and also on the response of patients to anticancer therapy. Chemotherapeutic and radiotherapeutic treatment heavily destroy intestinal biodiversity, and mucosal barrier disruption leads to bacterial translocation followed by the development of severe bacteremia. Both treatments form a part of the conditioning regimen in hematologic cancer patients receiving hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), suggesting a role of the gut microbiome in the clinical outcome of patients. According to the findings, the development of graft-versus-host disease (GvHD) and higher mortality are associated with treatment-associated shifts in microbiota composition. Several clinical trials regarding the therapeutic potential of gut microbiota modulation in HSCT patients are currently ongoing.

Key words: microbiome, dysbiosis, hematopoietic stem cell transplantation, graft versus host disease, gut microbiota modulation

Onkológia (Bratisl.), 2020;15(6):421-426

Úvod

Črevná mikróflóra hrá dôležitú úlohu pri udržaní ľudského zdravia a tvorí ju spoločenstvo všetkých mikroorganizmov prítomných v tráviacom trakte človeka. Pribúdajúce informácie o asociácii medzi intestinálnou mikróflórou a tumorigenézou spôsobili rastúci záujem o štúdiu mikrobiómu v onkológii. Ľudský mikrobióm predstavuje kolektívny genóm všetkých mikroorganizmov, ktoré osídľujú kožné a slizničné povrchy človeka. Hematologickí pacienti podstupujúci transplantáciu krvotvorných kmeňových buniek (TKB) trpia zvýšeným rizikom imunitných komplikácií vyplývajúcich z povahy ochorenia a aj z absolvovania protinádorovej terapie.

Vzhľadom na interakciu črevnej mikróflóry s imunitným systémom hostiteľa je vplyv mikróflóry na klinické parametre pacientov po TKB predmetom intenzívneho výskumu. Na eradikáciu nádorových buniek a indukciu imunosupresie sa pacientom podáva prípravný režim, ktorého súčasťou je vysokodávkovaná chemoterapia, príp. rádioterapia. Obe liečebné modality však spôsobujú masívnu rekonštrukciu črevného mikrobiómu. Narušenie homeostatického dialógu medzi črevnou mikróflórou a imunitným systémom hostiteľa vedie k dysbióze, po ktorej nasledujú vážne komplikácie. Dôsledné pochopenie mikrobiálnych zmien súvisiacich s procesom TKB a ich asociácií s ťažkými posttransplantač-

nými komplikáciami by mohlo priniesť možnosti modulácie črevného mikrobiómu s cieľom zlepšiť klinický stav pacienta a zvýšiť účinnosť podávanej terapie.

Transplantácia krvotvorných kmeňových buniek

Od 90. rokov minulého storočia prešla TKB veľkým vývojom. Vďaka svojmu terapeutickému potenciálu sa stala rutinnou liečebnou metódou pre široké spektrum malígnych a nemalígnych ochorení. Podávanie vysokodávkovanej chemoterapie, niekedy aj v kombinácii s rádioterapiou, spôsobí dostatočnú imunoabláciu a spustí významný protinádorový účinok. Závažná hematologická toxicita je následne eliminovaná podáva-

ním kmeňových buniek, ktoré pomáhajú obnove hematopoézy. Medzi zdroje krvotvorných kmeňových buniek patrí kostná dreň, kmeňové bunky periférnej krvi a pupečníková krv. Pri autológnej TKB sa používajú krvotvorné kmeňové bunky samotného pacienta, zatiaľ čo pri alogénnej TKB sa kostná dreň alebo imunitný systém pacienta nahradí zdravými krvotvornými kmeňovými bunkami vhodného darcu. Jednotlivé chemoterapeutické režimy sa líšia v závislosti od typu transplantácie (autológna vs. alogénna TKB) alebo závisia od základného ochorenia. Často sa využíva aj kombinácia režimov, pričom k najčastejšie podávaným liekom patria alkylačné činidlá, analógy platiny, inhibítory topoizomeráz, inhibítory adenosín deaminázy, cytarabín a pri mnohopočetnom myelóme sa podáva melfalan. Na základe svojej intenzity boli prípravné režimy klasifikované ako štandardné tzv. myeloablatívne a režimy s redukovanou intenzitou, príp. nemyeloablatívne režimy, ktoré používajú nižšie dávky chemorádioterapie s cieľom znížiť akútnu toxicitu alogénnej transplantácie a umožniť tak jej využitie aj u starších alebo menej „fit“ pacientov (1, 2). Imunologická reakcia darcovských buniek proti nádorovým bunkám hostiteľa, tzv. reakcia štetu voči nádoru (angl. graft-versus-tumor, GvT), zvyšuje protinádorovú aktivitu. Akútne a neskoré posttransplantačné komplikácie zhoršujú kvalitu života a zvyšujú úmrtnosť pacientov po transplantácii. Radíme medzi ne závažné infekcie, zhoršenie funkčnosti orgánových systémov, vznik sekundárnych malignít, ako aj recidívy základného ochorenia. Vyššia závažnosť posttransplantačných komplikácií sprevádza alogénnu TKB. Je spôsobená najmä reakciou štetu proti hostiteľovi (angl. graft-versus-host disease, GvHD), kedy darcovské krvné bunky napádajú tkanivá zdravého príjemcu, niekedy až s fatálnymi následkami.

Zmeny mikrobiómu počas transplantácie krvotvorných kmeňových buniek

Dynamická rovnováha medzi eubiózou a dysbiózou črevnej mikrobiómy významným spôsobom formujú fyziológiu hostiteľa. Mikrobiálne spoločenstvo a hostiteľské faktory spoločne ovplyvňu-

jú biotransformáciu nutričov, imunitnú odpoveď a metabolizmus xenobiótík. Pokroky v moderných metagenomických technológiách a bioinformatických algoritmoch výraznou mierou prispeli k identifikácii doposiaľ nekultivovateľných mikroorganizmov, čím posunuli naše vnímanie skutočného vplyvu mikrobiómu na ľudské zdravie.

Jedným z kľúčových mechanizmov, akým črevný mikrobióm ovplyvňuje svojho hostiteľa, je interakcia s imunitným systémom. Poškodená integrita črevnej epitelovej bariéry u hematologických pacientov po absolvovaní prípravného režimu umožňuje mikroorganizmom prejsť do črevnej sliznice, vyvolať nadmernú imunitnú odpoveď prostredníctvom prozápalových cytokínov a vstúpiť do krvného obehu. Najčastejšími pôvodcami infekcií krvného riečiska (angl. blood stream infections, BSI) sú zástupcovia čeľade *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* a veľmi frekvencované sú aj stafylokokové a enterokové bakterémie (3). U pacientov liečených vysokodávkovanou chemoterapiou sa výskyt BSI pohybuje v rozmedzí 20 – 60 % a úmrtnosť spojená so sepsou sa pohybuje od 9 % do 31 % (4, 5). Mnoho štúdií poukázalo na vyššie riziko vzniku multirezistentných bakteriálnych infekcií ako následok antibiotickej profylaxie. Profylaktická liečba širokospektrálnymi antibiotikami môže znížiť počet translokovaných baktérií u pacientov v skorej fáze po TKB. Dlhodobé podávanie však spôsobuje značné zmeny v zložení črevnej mikrobiómy, stratu mikrobiálnej diverzity a selekciu multirezistentných bakteriálnych kmeňov.

Alogénna transplantácia krvotvorných kmeňových buniek

Zloženie mikrobiómy u detských aj dospelých onkologických pacientov pred alogénnou TKB a po nej vykazuje výraznú stratu bakteriálnej diverzity po liečbe. Narušenie črevnej mikrobiómy súvisí so zvýšeným rizikom GvHD, ktoré naďalej ostávajú najčastejšou príčinou úmrtia. Výsledky štúdií odhalili, že podávanie profylaktickej antibiotickej liečby zvýšilo úmrtnosť, ako aj výskyt akútnej GvHD (aGvHD) u pacientov podstupujúcich alo-

génnu TKB (6). Zlepšenie týchto ukazovateľov by mohla priniesť analýza ich mikrobiómu a podávanie cielených antibiotík. Pribúdajúce dáta poukazujú aj na možnosť uplatnenia mezenchymálnych kmeňových buniek (angl. mesenchymal stem cells, MSC), ktoré predstavujú heterogénnu bunkovú populáciu zodpovednú za podporu, udržiavanie a reguláciu normálnych krvotvorných kmeňových buniek. MSC vylučujú viaceré solubilné faktory zahŕňajúce extracelulárne vezikuly (EV), ktoré môžu ovplyvňovať mikroprostredie kostnej drene prostredníctvom rôznych parakrinných mechanizmov. Tieto extravezikuly odvodené od MSC sa môžu uplatniť aj na terapeutické účely vrátane prevencie a liečby GvHD po alogénnej transplantácii (7).

Diverzita črevnej mikrobiómy predstavuje nezávislý prediktor úmrtnosti pacientov po alogénnej TKB a multivariačná analýza potvrdila silnú asociáciu medzi nízkou diverzitou a ďalšími klinickými parametrami. Mikrobióm pacientov s nižšou diverzitou bol charakterizovaný dominanciou jediného bakteriálneho rodu, pričom medzi dominantné rody patrili *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* a zástupcovia *Enterobacteriaceae* (*Escherichia* a *Kluyvera*) (8). Analýzy mikrobiómu pred začatím prípravného režimu potvrdili dôležitý vplyv mikrobiálneho zloženia na výskyt posttransplantačných komplikácií. Porovnanie mikrobiómy v súbore 57 príjemcov transplantátu a ich HLA (angl. human leukocyte antigen) zodpovedajúcich darcov poukázalo na zníženú diverzitu a tiež rozdielne fylogenetické zastúpenie u príjemcov v porovnaní so zdravými darcami. Vysoká bakteriálna diverzita darcov bola spojená so zníženým rizikom výskytu aGvHD (9). K podobným výsledkom dospela aj štúdia na detských onkologických pacientoch, kde bola taktiež zaznamenaná asociácia medzi mikrobiálnou diverzitou a rizikom aGvHD (10). Udržiavanie baktérií z kmeňa *Bacteroidetes* počas celého priebehu alogénnej transplantácie sa zdá vhodnou stratégiou na prevenciu aGvHD. Analýza črevného mikrobiómu pred prípravným režimom totiž poukázala na významne vyšší výskyt *Firmicutes* ($p < 0,01$) a nižšiu tendenciu

pre *Bacteroidetes* ($p = 0,106$) u pacientov s posttransplantačnou aGvHD (11). Veľká retrospektívna štúdia vzoriek stolice od 541 pacientov prijatých na alogénnu TKB v jednom centre preukázala súvislosť medzi vyšším výskytom *Eubacterium limosum* a zníženým rizikom relapsu ochorenia (12). Niektoré štúdie zase ukázali, že znížená úmrtnosť súvisiaca s GvHD a zlepšené celkové prežívanie u pacientov po alogénnej TKB môžu súvisieť s prítomnosťou anaeróbných druhov rodu *Blautia* (13). V najnovšej multicentrickej, medzinárodnej štúdii pozorovali koreláciu medzi vyššou mikrobiálnou diverzitou a nižším rizikom úmrtia u rozsiahlej skupiny pacientov po alogénnej TKB. Zo záverov štúdie vyplýva, že geografická lokalizácia pacientov nemala vplyv na spôsob zmien v mikrobióme pacientov (14).

Metabolity bakteriálnej flóry, akými sú mastné kyseliny s krátkym reťazcom (angl. short-chain fatty acid, SCFA), podporujú homeostázu črevného epitelu a ovplyvňujú imunitnú odpoveď proti mnohým bakteriálnym a vírusovým patogénom po alogénnej TKB (15). V rámci niektorých štúdií bol posttransplantačne pozorovaný relatívny posun k zvýšenej prítomnosti enterokokov, pričom v čase aGvHD sa ich priemerný podiel zvýšil na 74 % s najdominantnejším zastúpením *Enterococcus faecium* (16). K podobným výsledkom sa dopracovala aj multicentrická, medzinárodná štúdia na veľkej skupine pozostávajúcej z viac ako 1 300 pacientov po alogénnej TKB, v rámci ktorej bol zaznamenaný vysoký podiel enterokokov v posttransplantačnej stolici pacientov. Výsledky potvrdili predchádzajúce korelácie medzi dominanciou *Enterococcus* spp. a zvýšenou úmrtnosťou súvisiacou s GvHD (17). Aj štúdia z roku 2020 poukázala na možný prognostický význam zvýšeného relatívneho výskytu *Enterococcus* spp. (výskyt rovný alebo vyšší ako 1 %) v súvislosti s horším celkovým prežívaním pacientov po alogénnej TKB (18).

Prevaha *Enterococcus* spp. môže znížiť rôzne druhy *Clostridiales* spp., ktoré prostredníctvom produkcie butyrátu indukujú regulačné T bunky imunitného systému a zohrávajú tak dôležitú úlohu pri udržiavaní intestinál-

nej homeostázy (19). Butyrát je produkováný počas fermentácie anaeróbnymi črevnými baktériami a slúži ako dôležitý substrát na udržanie integrity črevného epitelu. Animálny model alogénnej TKB potvrdil zvýšenú integritu črevného epitelu, znížený výskyt GvHD a zlepšené prežívanie po podávaní 17 bakteriálnych kmeňov produkujúcich butyrát (20). Aj výsledky klinickej štúdie potvrdili tento trend, kedy boli zaznamenané výrazne nižšie podiely *Bifidobacterium* a rodov kategorizovaných ako butyrát produkujúce baktérie u pacientov po alogénnej TKB v porovnaní so zdravými kontrolami (21).

Prospektívna štúdia 131 dospelých pacientov podstupujúcich alogénnu TKB v rámci jedného centra poukázala na negatívnu koreláciu medzi vysokými hladinami 3-indoxylsulfátu v moči (produkovaným najmä *Lachnospiraceae* a *Ruminococcaceae*) a úmrtnosťou asociovanou s transplantáciou. V prípade potvrdenia výsledkov viacerými klinickými štúdiami by mohol 3-indoxylsulfát slúžiť ako prediktor, pretože jeho nízke hladiny v moči súvisia s narušením črevnej mikroflóry, komplikáciami liečby a zlou prognózou pacientov (22).

Autológna transplantácia krvotvorných kmeňových buniek

V porovnaní s údajmi o vplyve mikrobiómu na priebeh alogénnej TKB je v súčasnosti k dispozícii menej údajov zo štúdií týkajúcich sa úlohy mikroflóry u pacientov po autológnej TKB. Kusakabe spolu so svojimi kolegami v nedávnej štúdii preukázali, že črevná mikroflóra pacientov podstupujúcich alogénnu TKB sa podstatne líši nielen od mikroflóry zdravých kontrolných jedincov, ale aj od príjemcov autológnej TKB (21). Retrospektívna analýza skupiny 184 pacientov, ktorá sa zaoberala vplyvom kolonizácie multirezistentnými bakteriálnymi kmeňmi na celkové prežívanie pacientov po autológnej TKB, poukázala na prítomnosť multirezistentných baktérií u 40 pacientov (21,7 %). Nádorové spektrum zahŕňalo pacientov s lymfómami ($n = 98$, 53,3 %), mnohopočetným myelómom ($n = 80$, 43,5 %), rako-

vinou zárodočných buniek ($n = 5$, 2,7 %) alebo akútnou myeloidnou leukémiou ($n = 1$, 0,5 %). U pacientov pozitívnych na kolonizáciu s multirezistentnými mikroorganizmami bola pozorovaná vyššia bezrelapsová mortalita v porovnaní so skupinou pacientov bez prítomnosti multirezistentných kmeňov (25,4 % oproti 3 %, $p < 0,001$). Z hľadiska závažnosti komplikácií po autológnej TKB sa zdá obdobie po prepustení z nemocnice kritické, preto sa odporúča sledovanie týchto pacientov v ambulantnej starostlivosti (23).

Retrospektívna štúdia mikrobiálnej diverzity u pacientov podstupujúcich autológnu TKB v dvoch významných transplantáčnych centrách v USA potvrdila stratu diverzity po transplantácii, ktorá bola porovnateľná s dysbiózou u pacientov po alogénnej TKB. Súbor 365 pacientov pozostával zo 179 (49 %) pacientov s diagnostikovaným mnohopočetným myelómom, 153 (42 %) pacientov s diagnostikovaným lymfómom a 33 (9 %) pacientov s inými malignitami. Kontrolný súbor tvorilo 17 zdravých dobrovoľníkov a údaje o sekvenciách od 313 zdravých dobrovoľníkov z projektu Human Microbiome Project. Porovnanie zmien mikrobiómu medzi pacientmi s auto- a alogénnou TKB prinieslo zistenie, že pacienti po autológnej TKB preukázali rýchlejšie znovuoobnovenie črevnej mikroflóry v časovom horizonte 30 dní od transplantácie. Predbežná analýza naznačila koreláciu medzi nižším stupňom diverzity a horším bezrelapsovým prežívaním u myelómových pacientov podstupujúcich autológnu TKB (24).

Terapeutický prístup prostredníctvom modulácie črevnej mikroflóry

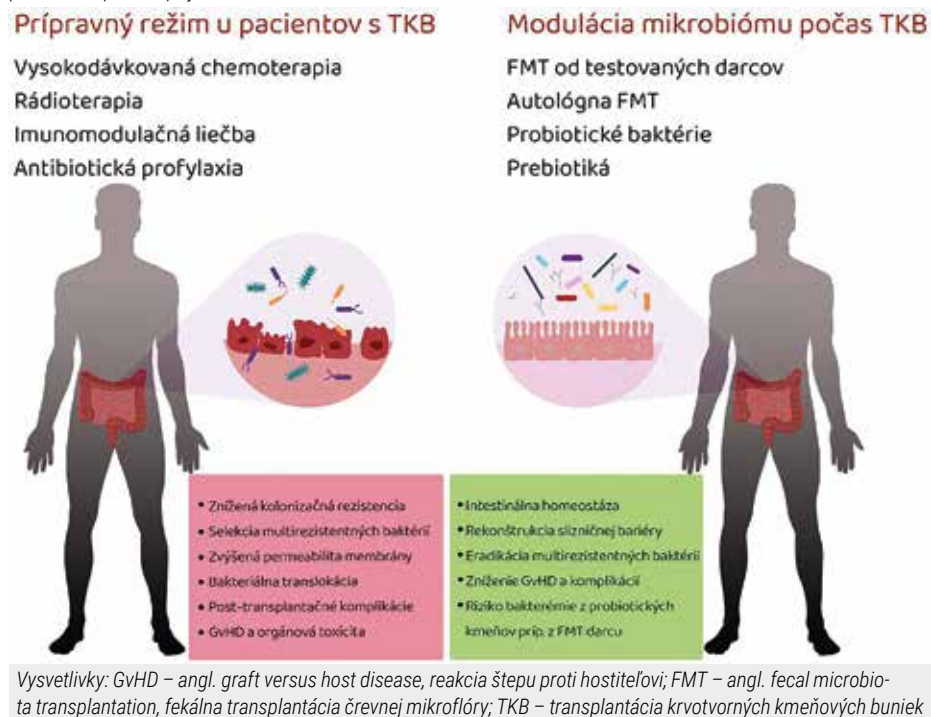
Narušenie mikrobiálneho prostredia podávaním protinádorovej liečby vedie k množstvu sekundárnych komplikácií. Neustále pribúdajú experimentálne údaje o klinickom potenciáli modulácie črevnej mikroflóry u hematologických pacientov podstupujúcich TKB (obrázok 1). Širšiemu využitiu v onkológii však bránia možné riziká u potenciálne imunokompromitovaných pacientov a nedostatok klinických štúdií s veľkým počtom pacientov.

Fekálna transplantácia črevnej mikrobióty

Postup prenosu fekálnej suspenzie obsahujúcej fekálnu mikrobiotu zo zdravého darcu na príjemcu (pacienta) známeho ako transplantácia fekálnej mikrobioty (angl. fecal microbiota transplantation, FMT) sa stal sľubnou liečbou recidivujúcej infekcie *Clostridium difficile* (angl. *Clostridium difficile* infection, CDI). Rekonštitúcia diverzity črevnej mikrobioty po FMT je účinná nielen vďaka konkurencii s patogénmi o obsadenie ekologických výklenkov, ale aj vďaka mikrobiálnej modulácii vrodenej a adaptívnej imunitnej odpovede príjemcu. Myšacie modely skúmajúce vplyv FMT na zníženie toxicity chemoterapie alebo rádioterapie odhalili, že FMT z neliečených myši bola schopná rekonštruovať mikrobiálne zloženie črevnej mikrobióty po chemo- aj rádioterapii. U transplantovaných zvierat neboli pozorované známky črevnej dysbiózy týždeň po FMT a porovnanie taxonomických a funkčných profilov nepreukázalo zmeny medzi stolicami pred liečbou a vzorkami odobratými jeden týždeň po FMT (25). V súčasnosti prebieha niekoľko klinických štúdií v súvislosti s vplyvom FMT na liečbu pacientov po TKB (<https://clinicaltrials.gov>). Niektoré z nich hodnotia vplyv autológnej FMT na prevenciu CDI ako napríklad štúdia NCT02269150 (26), iné sa zameriavajú na asociáciu FMT a výskyt aGvHD u pacientov podstupujúcich alogénnu TKB, príkladom je štúdia NCT02733744 (27).

Strata mikrobiálnej diverzity počas transplantácie je spojená so zvýšením imunitnej odpovede hostiteľa prostredníctvom zápalových cytokínov, BSI a GvHD. Prístupy na obnovenie zníženej hladiny komenzálnych baktérií pomocou FMT alebo užívania probiotík/prebiotík však vykazujú sľubné výsledky. Niektoré štúdie s menším počtom participantov potvrdili priaznivý účinok FMT na remisiu GvHD u pacientov po alogénnej TKB, ale hodnotenie záverov o bezpečnosti a účinnosti FMT musí zohľadňovať nízky počet pacientov a nejednotnosť v načasovaní a spôsobe podania FMT. V tejto súvislosti sú potrebné ďalšie klinické štúdie s väčším počtom pacientov a konzistentným nastavením. Predmetová štúdia so 4 pa-

Obrázok 1. Modulácia črevného mikrobiómu a vplyv na priebeh liečby u hematologických pacientov podstupujúcich TKB



cientmi s akútnou myeloidnou leukémiou ukázala účinnosť FMT pri liečbe refraktérnej GvHD, pričom u 3 pacientov došlo k výraznému zlepšeniu stavu (28). Podávanie enkapsulovanej FMT obnovilo bakteriálnu diverzitu a znížilo gastrointestinálnu GvHD (gGvHD) u 21-ročnej pacientky s akútnou lymfoblastovou leukémiou (29). Ďalšia pilotná štúdia zahŕňajúca 8 pacientov s hematologickými malignitami odhalila, že podanie FMT cez nazogastrickú trubicu vyvolalo reparatívny účinok na zloženie mikrobióty, zvýšenie diverzity a zvýšenie množstva baktérií *Bacteroidetes*, *Bacteroidaceae*, *Ruminococcaeae* a *Desulfovibrionaceae* u 6 pacientov. V intestinálnom mikrobióme pacientov po FMT dominovali komenzálne symbiotické baktérie, pričom mikrobiálna diverzita pacientov sa priblížila k diverzite donorov. V dôsledku toho boli u pacientov pozorované zmierené klinické symptómy (napr. znížený objem a frekvencia stolice, zmierenie bolesti brucha), ktoré môžu súvisieť so zvýšenou mikrobiálnou rôznorodosťou (30). Podobne aj analýza zmien zloženia mikrobiómu u 25 pacientov po alogénnej TKB (14 pacientov s FMT a 11 kontrolných pacientov bez modulácie mikrobióty) poukázala na účinnosť autológnej FMT (auto-FMT) pri obnovení diverzity črevnej mikrobióty a následnom znížení

posttransplantačných komplikácií (31). Bezpečná eradikácia multirezistentných baktérií u príjemcov FMT bola zaznamenaná na súbore 10 pacientov po alogénnej TKB, pričom u 70 % z nich bola dosiahnutá úplná dekolonizácia (32).

Probiotiká a prebiotiká

Probiotiká sú živé mikroorganizmy, ktoré preukázateľne vykazujú priaznivý účinok na hostiteľa (príjemcu). Ich konzumácia u onkologických pacientov je pomerne častá a primárne zameraná na zmiernenie vedľajších účinkov chemoterapie a rádioterapie. Dotazníková štúdia z roku 2017, ktorá zahŕňala informácie od 499 onkologických pacientov liečených v Národnom onkologickom ústave (NOÚ, Bratislava), ukázala, že probiotiká užíva 28,5 % všetkých respondentov (33). Chemoterapeutiká a ich metabolity vyvolávajú gastrointestinálnu toxicitu v dôsledku devastačného účinku na črevnú sliznicu (34). Príkladom je zhoršenie frekvencie a závažnosti hnačkových ochorení spojených s mukozitídou po podaní irinotekanu, ktorý sa používa pri liečbe kolorektálneho karcinómu. Modifikácia črevnej mikrobióty podávaním probiotík u pacientov liečených irinotekanom viedla k zníženiu výskytu a závažnosti gastrointestinálnej toxicity (35).

Predklinické a klinické štúdie užívania probiotík u pacientov po TKB ukazujú na nejednotnosť vo výstupoch. Nedostatočná účinnosť podávaných probiotík by mohla byť prekonaná zohľadnením jedinečnej variability mikrobiómu pacientov. Štúdie na myšacích modeloch naznačili, že podávanie probiotického *Lactobacillus rhamnosus* GG by mohlo znížiť výskyt GvHD (36). Napriek tomu, prvá randomizovaná štúdia probiotického enterického režimu u pacientov po alogénnej TKB doplnená o *Lactobacillus rhamnosus* GG nepotvrdila výraznú probiotickú zmenu v črevnom mikrobióme, ani zmeny vo výskyte GvHD a musela byť ukončená (37). Použitie probiotík u pacientov s oslabenou imunitou vzbudzuje obavy z možného rizika bakteriémie *Lactobacillus* v dôsledku bakteriálnej translokácie. Riziko bakteriémie môže byť ešte väčšie u pacientov po TKB s narušenými slizničnými bariérami. Štúdia hodnotiaca bezpečnosť a účinnosť probiotického *Lactobacillus plantarum* (LBP) u detí a dospelujúcich podstupujúcich alogénnu TKB nezaznamenala žiaden prípad bakteriémie LBP počas prvých 14 dní po TKB (38). Okrem toho, veľká retrospektívna analýza ukázala, že iba 19/3 796 (0,5 %) pacientov po TKB malo infekciu spôsobenú bežnými probiotickými kmeňmi. U väčšiny pacientov sa vyvinula bakteriemia z druhov *Lactobacillus*. Tieto údaje naznačujú, že organizmy často obsiahnuté v dostupných probiotických doplnkoch bývajú len zriedkavo asociované s BSI a mortalitou po TKB (39). Nedávna retrospektívna štúdia 14 detských pacientov po alogénnej TKB potvrdila bezpečnosť probiotického užívania u vysokorizikových detských pacientov s gastrointestinálnymi infekciami a gGvHD v období po TKB, keďže žiadny pacient nevyvinul BSI asociovanú s probiotickými mikroorganizmami (40).

V porovnaní s probiotikami bežne dostupné prebiotiká (škrob, fruktooligosacharidy a galaktooligosacharidy) menia zloženie mikrobiómy s minimalizáciou rizika infekcií u vysokoimunokompromitovaných pacientov. Retrospektívna analýza pacientov po TKB odhalila, že kombinácia glutamínu, vlákniny a fruktooligosacharidu môže byť účinnou podpornou terapiou na zníženie závažnosti

poškodenia slizníc po transplantácii. U pacientov užívajúcich prebiotiká sa pozorovalo zníženie počtu dní s pretrvávajúcimi hnačkami stupňa 3 – 4, ako aj dní so závažnou mukozitídou stupňa 3 – 4. Porovnanie pacientov užívajúcich prebiotiká ukázalo na znížený počet dní intravenózne hyperalimentácie a menej výraznú stratu hmotnosti v porovnaní s pacientmi, ktorí nedostávali prebiotické výživové doplnky. V testovanom súbore však nebol zaznamenaný pozitívny efekt na mieru GvHD. Všetci pacienti zaradení do štúdie užívali ako súčasť štandardnej starostlivosti aj probiotiká *Lactobacillus* spp. (41).

Záver

V súčasnosti existujú značné dôkazy o úlohe mikrobiómu v tumorigenéze a účinnosti protinádorovej terapie. Rastúci počet publikovaných údajov naznačuje, že reakcia konkrétneho pacienta na liečbu by mohla súvisieť s unikátnym zložením jeho mikrobiómu. Špecifické bakteriálne druhy v čreve môžu potenciovať imunitný systém a vytvoriť priaznivé tumor-imunitné mikroprostredie. Klinické štúdie na hematologických pacientoch poukázali na súvislosť medzi konkrétnymi zmenami v zložení črevnej mikrobiómy a posttransplantačnými komplikáciami. Mikrobiálna terapia, ktorá by zvyšovala účinnosť protinádorovej terapie a zároveň by prispievala k zníženiu systémovej toxicity pri zohľadnení špecifického mikrobiómu pacientov, by mohla pomôcť klinickým onkológom v rozhodovaní vhodnosti konkrétnej liečebnej modality. Stále však chýbajú metagenomické analýzy monitorujúce zmeny v mikrobióme z dlhodobej perspektívy. Detailná analýza mikrobiálneho zloženia, ako aj imunitného systému hostiteľa by mohla viesť k nájdeniu „mikrobiómových markerov“, ktoré by viedli k včasnej identifikácii pacientov s rizikom závažných komplikácií spojených s transplantáciou (najmä GvHD). Výsledkom by mohla byť možnosť špecifickej modulácie črevnej mikrobiómy prostredníctvom cielených antibiotík, užívania probiotických a prebiotických doplnkov, geneticky modifikovaných fágov alebo fekálnej transplantácie. Dosiaľ publikované dáta prinášajú povzbudivé korelácie a cielená modifi-

kácia črevného imunitného systému by sa tak mohla zaradiť medzi perspektívne trendy v starostlivosti o hematooonkologických pacientov po TKB.

Podakovanie

Práca bola čiastočne podporená grantmi vedeckej grantovej agentúry VEGA 2/0052/18 a 1/0327/19.

Literatúra

- Giralt S, Ballen K, Rizzo D, et al. Reduced-intensity conditioning regimen workshop: defining the dose spectrum. Report of a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15(3):367-9.
- Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood.* 2014;124(3):344-353.
- Balletto E, Mikulska M. Bacterial Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2015;7(1):e2015045.
- Blennow O, Ljungman P, Sparrelid E, et al. Incidence, risk factors, and outcome of bloodstream infections during the pre-engraftment phase in 521 allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. *Transpl Infect Dis.* 2014;16:106-114.
- Mikulska M, Del Bono V, Bruzzi P, et al. Mortality after bloodstream infections in allogeneic haematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients. *Infection.* 2012;40:271-8.
- Shono Y, Docampo MD, Peled JU, et al. Increased GVHD related mortality with broad-spectrum antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in human patients and mice. *Sci Transl Med.* 2016;8(339):339ra71.
- Batsali AK, Georgopoulou A, Mavroudi I, et al. The Role of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Derived Extracellular Vesicles (MSC-EVs) in Normal and Abnormal Hematopoiesis and Their Therapeutic Potential. *J Clin Med.* 2020;9(3):856.
- Taur Y, Jenq RR, Perales MA, et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2014;124(7):1174-82.
- Liu C, Frank DN, Horch M, et al. Associations between acute gastrointestinal GVHD and the baseline gut microbiota of allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients and donors. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52(12):1643-1650.
- Parco S, Benericetti G, Vascotto F, et al. Microbiome and diversity indices during blood stem cells transplantation - new perspectives? *Cent Eur J Public Health.* 2019;27(4):335-9.
- Doki N, Suyama M, Sasajima S, et al. Clinical impact of pre-transplant gut microbial diversity on outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *allo-HSCT may be a strategy to prevent aGVHD.* *Ann Hematol.* 2017;96(9):1517-1523.
- Peled JU, Devlin SM, Staffas A, et al. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation. *J Clin Oncol.* 2017;35(15):1650-9.
- Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, et al. Intestinal Blautia is associated with reduced death from graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21(8):1373-83.
- Peled JU, Gomes ALC, Devlin SM, et al. Microbiota as Predictor of Mortality in Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med.* 2020;382(9):822-834.
- Köhler N, Zeiser R. Intestinal Microbiota Influence Immune Tolerance Post Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation and Intestinal GVHD. *Front Immunol.* 2019;9:3179.
- Holler E, Butzhammer P, Schmid K, et al. Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of diversity is associated with use of systemic antibiotics and more pronounced in

- gastrointestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(5):640-5.
17. Stein-Thoeringer CK, Nichols KB, Lazrak A, et al. Lactose drives *Enterococcus* expansion to promote graft-versus-host disease. *Science.* 2019;366(6469):1143-1149.
18. Kusakabe S, Fukushima K, Yokota T, et al. *Enterococcus*: A Predictor of Ravaged Microbiota and Poor Prognosis after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(5):1028-1033.
19. Simms-Waldrup TR, Sunkersett G, Coughlin LA, et al. Antibiotic-induced depletion of Anti-Inflammatory Clostridia is associated with the development of GVHD in pediatric stem cell transplant patients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23:820-9.
20. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature.* 2013;500(7461):232-6.
21. Kusakabe S, Fukushima K, Maeda T, et al. Pre- And Post-Serial Metagenomic Analysis of Gut Microbiota as a Prognostic Factor in Patients Undergoing Haematopoietic Stem Cell Transplantation. *Br J Haematol.* 2020;188(3):438-449.
22. Weber D, Oefner PJ, Hiergeist A, et al. Low urinary indoxyl sulfate levels early after transplantation reflect a disrupted microbiome and are associated with poor outcome. *Blood.* 2015;126(14):1723-8.
23. Scheich S, Reinheimer C, Brandt C, et al. Clinical impact of colonization with multidrug-resistant organisms on outcome after autologous stem cell transplantation: a retrospective single center study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23(9):1455-1462.
24. Khan N, Peled JU, Gomes ALC, et al. Loss of Microbiota Diversity after Autologous Stem Cell Transplant Is Comparable to Injury in Allogeneic Stem Cell Transplant. *Blood.* 2018;132(Supplement 1):608.
25. Cui M, Xiao H, Li Y, et al. Faecal microbiota transplantation protects against radiation-induced toxicity. *EMBO Mol Med.* 2017;9(4):448-461; Le Bastard Q, Ward T, Sidiropoulos D, Hillmann BM, Chun CL, Sadowsky MJ, et al. Fecal microbiota transplantation reverses antibiotic and chemotherapy-induced gut dysbiosis in mice. *Sci Rep.* 2018;8(1):6219.
26. Autologous Fecal Microbiota Transplantation (Auto-FMT) for Prophylaxis of Clostridium Difficile Infection in Recipients of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02269150>
27. Fecal Microbiota Transplantation After HSCT. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT0273374>.
28. Kakhana K, Fujioka Y, Suda W. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut. *Blood.* 2016;128(16):2083-8.
29. Kaito S, Toya T, Yoshifuji K. Fecal microbiota transplantation with frozen capsules for a patient with refractory acute gut graft-versus-host disease. *Blood Adv.* 2018;2(22):3097-3101.
30. Qi X, Li X, Zhao Y. Treating steroid refractory intestinal acute graft-vs.-host disease with fecal microbiota transplantation: a pilot study. *Front Immunol.* 2018; 9:2195.
31. Taur Y, Coyte K, Schluter J, et al. Reconstitution of the gut microbiota of antibiotic-treated patients by autologous fecal microbiota transplant. *Sci Transl Med.* 2018;10(460):eaap9489.
32. Battipaglia G, Malard F, Rubio MT. Fecal microbiota transplantation before or after allogeneic hematopoietic transplantation in patients with hematological malignancies carrying multidrug-resistance bacteria. *Haematologica.* 2019;104(8):1682-8.
33. Ciernikova S, Mego M, Semanova M, et al. Probiotic Survey in Cancer Patients Treated in the Outpatient Department in a Comprehensive Cancer Center. *Integr Cancer Ther.* 2017;16(2):188-195.
34. Mego M, Holec V, Drgona L, et al. Probiotic bacteria in cancer patients undergoing chemotherapy and radiation therapy. *Complement Ther Med.* 2013;21(6):712-23.
35. Mego M, Chovanec J, Vochyanova-Andrejalova I, et al. Prevention of irinotecan induced diarrhea by probiotics: A randomized double blind, placebo controlled pilot study *Complement Ther Med.* 2015;23(3):356-362.
36. Gerbitz A, Schultz M, Wilke A, et al. Probiotic effects on experimental graft-versus-host disease: let them eat yogurt. *Blood.* 2004;103(11):4365-7.
37. Gorshein E, Wei C, Ambrosy S, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG probiotic enteric regimen does not appreciably alter the gut microbiome or provide protection against GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Transplant.* 2017;31(5):e12947.
38. Ladas EJ, Bhatia M, Chen L, et al. The safety and feasibility of probiotics in children and adolescents undergoing hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(2):262.
39. Cohen SA, Woodfield MC, Boyle N, et al. Incidence and outcomes of bloodstream infections among hematopoietic cell transplant recipients from species commonly reported to be in over-the-counter probiotic formulations. *Transpl Infect Dis.* 2016;18(5):699-705.
40. Sadanand A, Newland JG, Bednarski JJ. Safety of Probiotics Among High-Risk Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Infect Dis Ther.* 2019;8(2):301-6.
41. Iyama S, Sato T, Tatsumi H, et al. Efficacy of Enteral Supplementation Enriched with Glutamine, Fiber, and Oligosaccharide on Mucosal Injury following Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Case Rep Oncol.* 2014;7(3):692-9.

RNDr. Soňa Čierniková, PhD.

Ústav experimentálnej onkológie,
Biomedicínske centrum SAV
Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava
sona.ciernikova@savba.sk

