

Střevní mikrobiota a kolorektální karcinom

MUDr. Darina Kohoutová, prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.

II. interní gastroenterologická klinika, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Kolorektální karcinom představuje v současné době obrovský celosvětový problém s dopady medicínskými, individuálně lidskými i ekonomickými. Česká republika v posledních desetiletích patří k zemím s nejvyšší incidencí tohoto maligního onemocnění. Etiopatogeneze kolorektálního karcinomu je multifaktoriální, tlustostřevní mikrobiota však hraje roli klíčovou. Lidské tlusté střevo obsahuje přes 800 druhů bakterií, z nichž dokážeme vykultivovat pouze kolem 20 %. Doposud nebyl identifikován vzorec mikroorganismů, který by se vyskytoval u pacientů s kolorektálním karcinomem, avšak některé jednotlivé bakterie jsou s tímto onemocněním spojovány. Vliv tlustostřevních bakterií na hostitele může být přínosný/protektivní nebo nepřínosný/škodlivý. Na poli kolorektálního karcinomu patří mezi protektivní působení bakterií vazba potenciálních mutagenů a produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem (příčímž butyrát je hlavním anti-neoplasticky působícím prvkem). Naopak pro hostitele škodlivou je produkce bakteriálních toxinů, aktivace prokarcinogenů, syntéza karcinogenních a genotoxických látek a aktivace enzymatických systémů bakterií (např. betaglukuronidasy). Pro výsledný vliv bakterií tlustého střeva na hostitele hraje zcela zásadní roli typ dietního substrátu, který bude bakteriím dodán a kvalitativní i kvantitativní zastoupení jednotlivých druhů bakterií.

Klíčová slova: střevní mikrobiota, kolorektální karcinom, butyrát, betaglukuronidasa.

Intestinal microbiota and colorectal carcinoma

Colorectal carcinoma represents an immense problem worldwide with medical, individual and economical impacts as well. The Czech Republic belongs to the countries with the highest incidence of this malignant disease in the recent decades. Etiopathogenesis is multifactorial, however, large bowel microbiota play a key role. Human large bowel contains over 800 species of bacteria, from which only about 20% can be cultivated. No microbial pattern, which could be typical for colorectal cancer patients, has been identified yet. However, some particular bacteria seem to be associated with this disease. The impact of bowel microbiota can be beneficial/protective or unbeneficial/harmful. With respect to colorectal carcinoma, binding of potential mutagens and production of short chain fatty acids (where butyrate is the major antineoplastic causing component) belong to the protective activities of bacteria. On the contrary, production of bacterial toxins, activation of procarcinogens, synthesis of carcinogenic and genotoxic agents and activation of bacterial enzymes (e.g. betaglukuronidase) belong to harmful effects of bacteria. Type of dietary substrates and qualitative and quantitative representation of bacterial species determine the final impact of large bowel microbiota on the host.

Key words: large bowel microbiota, colorectal carcinoma, butyrate, betaglukuronidase.

Interní Med. 2013; 15(5): 167–169

Kolorektální karcinom je třetí nejčastější rakovinou v západním průmyslovém světě a zůstává na druhém místě co do příčin úmrtí na nádorové onemocnění. Česká republika je v posledních desetiletích celosvětově řazena na čelní místa v incidenci i prevalenci kolorektálního karcinomu, mortalita na toto onemocnění zůstává stále vysoká (mortalita na kolorektální karcinom v České republice v r. 1995: 4 290; v r. 2000: 4 402; v r. 2005: 4 246; v r. 2010: 3 879). Na vzniku kolorektálního karcinomu se podílejí faktory genetické a faktory prostředí (1). Etiopatogeneze kolorektálního karcinomu je multifaktoriální, není však pochyb, že střevní mikrobiota v ní hraje roli klíčovou. V gastrointestinálním traktu dospělého člověka přebývá zhruba 100 triliónů mikrobiálních buněk, 15 000 druhů mikroorganismů a přes 800 druhů bakterií (2). Zcela zásadním problémem je, že stále dokážeme laboratorně vykultivovat pouze kolem 20 % mikrobiálních druhů střevních bakterií, které byly identifikovány molekulárními metodami (3). V současnosti jsou proto kulturač-

ní techniky nahrazovány především metodami, které jsou založené na hodnocení sekvenční 16S rRNA bakteriálních genů. Jde o ribozomální komponenty přítomné ve všech bakteriích, které obsahují variabilní sekvenční a zajišťují specifitu určitému druhu bakterií (sekvenováním malých podjednotek rRNA lze přímo, pomocí PCR nebo reverzní transkripcí získat bakteriální ribozomální RNA sekvenční) (4). Počet mikrobů v trávicím traktu aborálně stoupá – v tenkém střevě je 10^3 , v tlustém střevě pak 10^{11} mikrobiálních buněk/g obsahu. Typické jsou malé rozdíly ve složení bakteriálního osídlení v jednotlivých etážích tlustého střeva (2). Střevní mikrobiota se obvykle dělí na prokaryota a eukaryota a dále na organismy striktně anaerobní (*Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Peptococcus*, *Clostridium*, *Fusobacterium*), mikroaerofilní (*Lactobacillus*) a fakultativně aerobní (*Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*) (6).

Vliv tlustostřevních bakterií na hostitele může být jak protektivní, tak ale i nepřínosný

až škodlivý. Mezi pozitivní vlivy bakterií gastrointestinálního traktu vůči hostiteli patří vazba potenciálních mutagenů, syntéza vitaminů (vitaminů skupiny B a vitaminu K; přičímž foláty a biotin napomáhají regulovat proliferaci sliznice tlustého střeva), přímé pozitivní ovlivňování sliznice tlustého střeva (bakterie mají vliv na funkci imunitního systému, na složení hlenu, deskvamaci epitelu, neuro-humorální regulaci) a produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem (butyrátu, propionátu, acétátu) především z fermentovatelné vlákniny (pektin, hemicelulóza). Zdá se, že z mastných kyselin s krátkým řetězcem by právě butyrát (hlavní anion tlustého střeva) mohl hrát protektivní roli při/proti vzniku kolorektálního karcinomu. Butyrát je základním aerobním energetickým substrátem pro kolonocyty. Butyrát zvyšuje proliferaci kolonocytů, stimuluje diferenciaci kolonocytů, dokáže však suprimovat proliferaci buněk kolorektálního karcinomu (6). Dále brání apoptóze normálních kolonocytů, avšak stimu-

luje apoptózu buněk zasažených kolorektálním karcinomem (7, 8) a snižuje angiogenezi (7). Inhibuje růst transformovaných buněk a naopak přispívá k reverzi neoplastických do non-neoplastických fenotypů buněk (9). Protinádorový účinek butyrátu spočívá i ve snížení pH, což má za následek redukcí solubility žlučových kyselin a navíc snížení aktivity 7-alfa-dehydroxylasy, která přeměňuje primární žlučové kyseliny na sekundární; další efekt má snížení pH na zvýšení dostupnosti vápníku, který váže mastné kyseliny a volné žlučové kyseliny (6). Ne však všechny studie podporují toto tvrzení, proto se v této souvislosti používá termínu „butyrátový paradox“. Obecně lze říci, že chemopreventivní účinek butyrátu je závislý na typu vlákniny, která je dodána, dále na množství butyrátu a načasování jeho expozice ve vztahu k nádorovému procesu (8).

Mezi škodlivé vlivy bakterií gastrointestinálního traktu vůči hostiteli patří produkce toxinů, aktivace prokarcinogenů, syntéza karcinogenů a genotoxických látek. Negativní důsledky pro hostitele má aktivace řady enzymatických systémů tlustostřevních bakterií. Jako příklad lze uvést betaglukuronidasu, což je nejdůležitější indukovatelný enzymatický systém střevních bakterií. Funkce betaglukuronidasy spočívá v hydrolýze konjugátu kyseliny glukuronové a potenciálně karcinogenního metabolitu vzniklého v játrech vedoucí k jeho uvolnění v tračníku. Zvýšená aktivita tohoto enzymu je patrná u osob, jejichž dieta je bohatá na červené maso a živočišné tuky, naopak fermentovatelná vláknina aktivitu tohoto enzymu snižuje. Aktivita betaglukuronidasy je obvykle zvýšena u pacientů s kolorektálním karcinomem ve srovnání s kontrolními osobami (10). Dalším bakteriálním enzymem je např. nitrátoreduktasa, nitroreduktasa (požitá nitráty jsou redukovány nitrátoreduktasou tlustostřevních bakterií na toxičtější nitrity, které vytvářejí s nitrogenními substance-mi z velké většiny karcinogenní a DNA alkylující N-nitro sloučeniny), betaglukosidasa a 7-alfa-dehydroxylasa, která transformuje primární žlučové kyseliny (chenodeoxycholovou a cholovou) na sekundární žlučové kyseliny (deoxycholovou a lithocholovou). Ty jsou genotoxické a karcinogenní, dále přispívají k selekci buněk rezistentních vůči apoptóze. Vysokotučná strava zvyšuje koncentraci žlučových kyselin ve stolici, vláknina z pšeničných otrub naopak snižuje (11).

Přímým důkazem spoluúčasti střevních bakterií v etiopatogenezi kolorektálního karcinomu je přítomnost mutagenních a genotoxických substancí bakteriálního původu ve stolici člově-

ka (1, 5). Studiemi na zvířatech byla účast bakterií gastrointestinálního traktu na vývoji karcinomu potvrzena – např. u myši s absencí protizánětlivého interleukinu-10 dochází v případě kolonizace tlustého střeva bakteriemi k vývoji zánětu a nádorů na rozdíl od myši, jejichž trávicí trakt bakteriemi kolonizován není (12).

Je prokázáno, že v evropské a severoamerické populaci je pouze polovina obyvatel exkretorem metanu, kdežto 90% africké populace (černoši) produkuje metan. Otázkou zůstává, zda by hydrogenní a metanogenní fenotyp mohl přispět k vysvětlení rozdílné incidence kolorektálního karcinomu u domorodých afrických černocho.

Vzhledem k obtížím při kultivaci nebyl doposud identifikován vzorec mikroorganismů, který by se vyskytoval u pacientů s kolorektálním karcinomem. Metodami detekce bakteriální 16S RNA bylo zjištěno, že u pacientů s kolorektálním karcinomem jsou přímo v tumorózní tkáni (na rozdíl od nádorem nepostižené sliznice) více zastoupeny *Bacteroides* a méně *Firmicutes*, dále byly v tumorózní tkáni detekovány ve větším množství *Coriobacteridae* a naopak podstatně méně *Enterobacteriaceae*. Je známo, že patogenní bakterie *Citrobacter* nebo *Salmonella* nejsou v tlustém střevě zdravých jedinců přítomny vůbec nebo jsou zastoupeny velmi málo; tyto bakterie jsou však detekovány v nádorem nepostižené sliznici pacientů s kolorektálním karcinomem a také ve sliznici pacientů s kolorektálním adenomem. Spoluúčast bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae* na vývoji kolorektálního karcinomu je pak vysvětlována navozením asymptomatické, ale chronické zánětlivé odpovědi v tlustostřevní sliznici, a také produkcí genotoxinů, které zasahují DNA (což vede k akumulaci mutací, které charakterizují sekvenci adenom-karcinom). Analogická situace je pozorována i u bakterie *Helicobacter pylori* během procesu karcinogeneze v žaludku (13, 14).

V mnoha studiích byl zkoumán vliv jednotlivých bakterií na vývoj kolorektálního karcinomu. S tímto nádorem jsou spojovány především druhy *Bacteroides* (15), v poslední době pak zvláště *Bacteroides fragilis*, který u pacientů s kolorektálním karcinomem na rozdíl od kontrol produkuje metaloproteinasu (16). U pacientů s kolorektálním karcinomem (a zvýšeným zastoupením bakterií rodu *Bacteroides*) byla také potvrzena infiltrace nádorových vzorků, ale i lamina propria zdravé mukózy buňkami produkujícími interleukin-17. Dále je s kolorektálním karcinomem spojován rod *Prevotella* (17), *Clostridium* (především lecitinasa

negativní, které přeměňují primární žlučové kyseliny na sekundární), některé rody *Lactobacillus* a *Streptococcus bovis* (indukuje tvorbu hyperproliferativních aberantních kolonických krypt, zvyšuje expresi proliferačních markerů a zvyšuje produkci IL-8 tlustostřevní sliznicí) (4). Infekce *Clostridium septicum* je vzácná, ale v 81 % je spojená s latentní malignitou, ve 34 % s kolorektálním karcinomem (18). Ve studii Marchesi et al. nebyly pomocí metody detekce 16S rRNA u pacientů s kolorektálním karcinomem nalezeny téměř žádné sekvence bakteriální RNA *Streptococcus bovis* a *Clostridium septicum* (13). Lze však předpokládat, že takové oportunističtí patogeni jsou přítomni především v adenomatózní tkáni a účastní se vzniku karcinomu; v samotné nádorové tkáni již pak přítomni být nemusí. Nežádoucí bakterie je také *Enterococcus faecalis*, protože produkuje kyslíkové radikály. Ve studii na myších byla potvrzena asociace bakterií *Helicobacter hepaticus* a *Citrobacter rodentium* s vývojem kolorektálního karcinomu (19). U pacientů s kolorektálním karcinomem je také předpokládáno vyšší zastoupení intraepiteliálních *Escherichia coli* (20). Naopak za protektivní bakterie můžeme považovat některé druhy *Lactobacillus* (*L. acidophilus*), *Bifidobacterium* (*B. longum*) a *Eubacterium aerofaciens* (15) či *Eubacterium lentum* – syntetizuje 21-dehydroxylasu, která konvertuje karcinogenní žlučový tetrahydrodeoxykortikosteron na nekarcinogenní pregnanolon (pacienti s kolorektálním karcinomem mají fekální aktivitu tohoto enzymu sníženou až o 99% ve srovnání se zdravými osobami).

Pro výsledný vliv bakterií gastrointestinálního traktu na hostitele hraje zcela zásadní roli typ dietního substrátu, který bude střevním bakteriím dodán a dále kvalitativní i kvantitativní zastoupení jednotlivých druhů mikrobů. Za nepříznivý dietní substrát je považováno červené maso, živočišné tuky, zvýšený příjem kuchyňské soli, naopak pozitivní vlivy (byť s doposud málo důkazy) se vyznačuje čerstvé ovoce a zelenina, potraviny bohaté na selen (antioxidant, podobně jako vitamin A a C) a kalcium, fermentovatelná i nefermentovatelná vláknina (5).

S přihlédnutím na fakt, že se střevní mikrobiota podílí na vzniku kolorektálního karcinomu (tzn. skutečně hrají roli v jeho etiopatogenezi), je nyní zcela zásadním úkolem zjistit, jaká specifická intervence (antibiotická, probiotická nebo prebiotická) by mohla mít efekt v kontrole vývoje nemoci (2).

Práce vznikla v rámci řešení grantu IGA NT13413.

Literatura

1. Stanghellini V, Barbara G, Cremon C, Cogliandro R, Antonucci A, Gabusi V, Frisoni C, De Giorgio R, Grasso V, Serra M, Corinaldesi R. Gut microbiota and related diseases: clinical features. *Intern Emerg Med* 2010; 5(1): S57–63.
2. Camp JG, Kanther M, Semova I, Rawls JF. Patterns and scales in GI microbial ecology. *Gastroenterology* 2009; 136(6): 1989–2002.
3. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, Doré J. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65(11): 4799–4807.
4. Zoetendal EG, Collier CT, Koike S, Mackie RI, Gaskins HR. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review. *J Nutr* 2004; 134(2): 465–472.
5. Heavey PM, Rowland IR. Microbial-gut interactions in health and disease. *Gastrointestinal cancer. Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18(2): 323–336.
6. Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40(3): 235–243.
7. Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. *J Nutr Biochem* 2009; 20(10): 743–752.
8. Lupton JR. Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. *J Nutr* 2004; 134(2): 459–482.
9. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80(1): S147–171.
10. Kim DH, Jin YH. Intestinal bacterial beta-glucuronidase activity of patients with colon cancer. *Arch Pharm Res* 2001; 24(6): 564–567.
11. Gill CI, Rowland IR. Diet and cancer: assessing the risk. *Br J Nutr* 2002; 88(1): S73–87.
12. Berg DJ, Davidson N, Kuhn R, Muller W, Menon S, Holland G, Thompson-Snipes L, Leach MW, Rennick D. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4 (+) TH1-like responses. *J Clin Invest* 1996; 98(4): 1010–1020.
13. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N, Peters WH, Roelofs R, Boelens A, Tjalsma H. Towards the human colorectal cancer microbiome. *PLoS ONE* 2011; 6(5): e20447.
14. Kang HY, Kim N, Park YS, Hwang JH, Kim JW, Jeong SH, Lee DH, Jung HC, Song IS. Progression of atrophic gastritis and intestinal metaplasia drives *Helicobacter pylori* out of the gastric mucosa. *Dig Dis Sci* 2006; 51(12): 2310–2315.
15. Moore WE, Moore LH. Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61(9): 3202–3207.
16. Sears CL, Islam S, Saha A, Arjumand M, Alam NH, Faruque AS, Salam MA, Shin J, Hecht D, Weintraub A, Sack RB, Qadri F. Association of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* infection with inflammatory diarrhea. *Clin Infect Dis* 2008; 47(6): 797–803.
17. Sobhani I, Tap J, Roudot-Thoraval F, Roperch JP, Letulle S, Langella P, Corthier G, Tran Van Nhieu J, Furet JP. Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients. *PLoS One* 2011; 6(1): e16393.
18. Kornbluth AA, Danzig JB, Bernstein LH. Clostridium septicum infection and associated malignancy. Report of 2 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68(1): 30–37.
19. Huycke MM, Gaskins HR. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. *Exp Biol Med* 2004; 229(7): 586–597.
20. Swidsinski A, Khilkin M, Kerjaschki D, Schreiber S, Ortner M, Weber J, Lochs H. Association between intraepithelial *Escherichia coli* and colorectal cancer. *Gastroenterology* 1998; 115(2): 281–286.

Článek přijat redakcí: 21. 7. 2012
Článek přijat k publikaci: 24. 8. 2012

MUDr. Darina Kohoutová

*II. interní gastroenterologická klinika,
LF UK, FN Hradec Králové
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
darina.kohoutova@fnhk.cz*
