



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ-ΠΡΩΚΤΟΥ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ορθοκολικός καρκίνος και εντερικό
μικροβίωμα: Αιτιοπαθογένεια και
θεραπευτικές στρατηγικές**

Απόστολος Π. Ντάνασης
Ιατρός

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Βλάχος Κωνσταντίνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Επιβλέπων Καθηγητής

Μπαλή Χριστίνα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Παπάς – Γώγος Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή
Δημοκριτείου Πανεπιστημίου Θράκης, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Λάρισα, Ιούνιος 2022



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ-ΠΡΩΚΤΟΥ



MASTER THESIS

**Colorectal cancer and gut microbiome: Insights
into pathogenesis and therapeutic strategies.**

Στην ιερή μνήμη της Βαρβάρας

Στους σεβαστούς γονείς μου

Στη σύζυγο και τα παιδιά μου

*Κύριος φωτισμός μου και σωτήρ μου· τίνα
φοβηθήσομαι; Κύριος υπερασπιστής τῆς ζωῆς
μου· ἀπὸ τίνος δειλιάσω;*

(Ψαλμός ΚΣΤ', 1)

*Σε κάποιο τόπο θα το λέω μετά από καιρό
Αναστενάζοντας χρόνια και χρόνια μετά:
Πως σ' ένα δάσος ήταν ένα σταυροδρόμι, κι εγώ –
Πήρα τον δρόμο τον λιγότερο πεπατημένο, κι αυτό
Έκανε όλη τη διαφορά.*

(Robert Lee Frost, 1874-1963, Ο δρόμος που δεν πήρα)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
2.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	10
2.2 ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	13
2.2.1 Γονιδιακά ελλείμματα	13
2.2.2 Γενετικά Μονοπάτια	15
2.2.3 Μοριακή ταξινόμηση	19
2.2.4 Η διαδοχή αδενώματος – καρκινώματος.....	21
2.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	25
2.3.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	25
2.3.2 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου.....	33
2.4 ΤΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ	37
2.4.1 Φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα.....	37
2.4.2 Λειτουργίες εντερικού μικροβιώματος.....	40
2.5 ΣΥΧΕΤΙΣΗ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	44
2.5.1 Σύσταση εντερικής μικροχλωρίδας και ορθοκολικός καρκίνος.....	44
2.5.2 Μικροβιακές διαφορές μεταξύ δεξιού και αριστερού παχέος εντέρου	46
2.5.3 Υποθετικά μοντέλα συσχέτισης εντερικού μικροβιώματος και ορθοκολικής καρκινογένεσης.....	47
2.6 ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	70
2.6.1 Συστηματικές αντινεοπλασματικές θεραπείες.....	70
2.6.2 Η ρύθμιση του εντερικού μικροβιώματος ως αντινεοπλασματική παρέμβαση	75
3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	83

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στον Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής Κωνσταντίνο Βλάχο για την αμέριστη στήριξη, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και τη συνεχή επιστημονική του επίβλεψη για τη συγγραφή της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής. Τον ευχαριστώ θερμά για τις πηγαίες και βιωματικές συμβουλές του και την καθοδήγησή του.

Στον Επίκουρο Καθηγητή Χειρουργικής Γεώργιο Παππά-Γώγο και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Χειρουργικής Χριστίνα Μπαλή, που δέχθηκαν να υποστηρίξουν αυτό το επιστημονικό εγχείρημα ως μέλη της τριμελούς επιτροπής.

Στον υπεύθυνο του ΠΜΣ Καθηγητή Χειρουργικής Γεώργιο Τζοβάρα για την τιμή που μου παρείχε να συμμετάσχω σε αυτό το αξιόλογο πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών.

Στη γραμματέα του ΠΜΣ κα Μαρία Κυριτσάκα για την ευγένεια και την υπομονή της.

Στους γονείς μου, οι οποίοι αποτέλεσαν τον φάρο για τη μέχρι τώρα διαδρομή μου.

Στη σύζυγο και τα παιδιά μου, για την στήριξη και την υπομονή τους καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Ο ορθοκολικός καρκίνος αποτελεί μια πολυπαραγοντική νόσο, με διακριτούς παθογενετικούς μηχανισμούς και πολυσταδιακή εξέλιξη. Το εντερικό μικροβίωμα σχετίζεται με την ορθοκολική καρκινογένεση διαμορφώνοντας ένα δυσβιωτικό φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον που ενσωματώνει τις προκαρκινογόνες ιδιότητες των στελεχών του και τις τροποποιήσεις της ανοσιακής απόκρισης του ξενιστή.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η εκτενής ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας, με αναζήτηση σε ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων όπως Pubmed (Medline), Cochrane, Scopus (Elsevier), Google Scholar, σε κεφάλαια βιβλίων και σε επιστημονικά περιοδικά με στόχο την αναλυτική περιγραφή των αιτιοπαθογενετικών μηχανισμών και των παραγόντων κινδύνου του ορθοκολικού καρκίνου και την κατανόηση του ρόλου του εντερικού μικροβιώματος με στόχο τη συσχέτισή του με την εξέλιξη της νεοπλασματικής εξεργασίας και τις διάφορες θεραπευτικές παρεμβάσεις.

Μέθοδοι: Η μέθοδος που ακολουθήθηκε στην παρούσα ανασκόπηση στηρίζεται στις κατευθυντήριες οδηγίες PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses guideline), εμπεριέχοντας αφηγηματικού τύπου χαρακτήρες (narrative review).

Αποτελέσματα: Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης επισημαίνουν τους παθογενετικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με την ορθοκολική καρκινογένεση στους οποίους συμπεριλαμβάνονται τα γονιδιακά ελλείματα και οι τροποποιητικές ρυθμίσεις σηματοδοτικών μονοπατιών όπως επίσης και τους παράγοντες κινδύνου της νόσου. Από τα δεδομένα προκλινικών και μεταφραστικών ερευνών αναδείχθηκε ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στη διατήρηση της εντερικής ομοιόστασης, αλλά και η δράση συγκεκριμένων βακτηριακών στελεχών στην εγκατάσταση ενός δυσβιωτικού εντερικού μικροπεριβάλλοντος στο οποίο ευνοείται η εκκίνηση αλλά και εξέλιξη της νεοπλασίας. Οι τροποποιητικές παρεμβάσεις στο εντερικό μικροβίωμα αποσκοπούν στην αναστροφή του δυσβιωτικού φαινοτύπου, ως μια θεραπευτική στρατηγική για την αντιμετώπιση του ορθοκολικού καρκίνου.

Συμπεράσματα: Η εξέλιξη της ορθοκολικής καρκινογένεσης αποτελεί μια πολυπαραγοντική διαδικασία στην οποία εμπλέκονται αιτιολογικά πολυάριθμοι διακριτοί μηχανισμοί, με το εντερικό μικροβίωμα να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στην παθογένεια όσο και στην θεραπεία της νόσου.

Λέξεις κλειδιά: ορθοκολικός καρκίνος, εντερικό μικροβίωμα, παθογενετικοί μηχανισμοί, φλεγμονή, δυσβίωση, θεραπευτικές παρεμβάσεις

ABSTRACT

Introduction: Colorectal cancer is a multifactorial disease, with distinct pathogenetic mechanisms and a multistage model of development. The intestinal microbiome is associated with colorectal carcinogenesis by forming a dysbiotic inflammatory microenvironment that incorporates the pro-malignant properties of its strains and modifications of the host's immune response.

Purpose: The purpose of this dissertation is the extensive review of the international literature, with a search in electronic databases such as Pubmed (Medline), Cochrane, Scopus (Elsevier), Google Scholar, textbook chapters and scientific journals with a detailed description of the pathogenic mechanisms and the risk factors of colorectal cancer and the understanding of the role of the intestinal microbiome in order to correlate it with the development of the neoplastic process and the various therapeutic interventions.

Methods: The method followed in this review is based on prisma (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses guideline) guidelines, containing narrative review.

Results: The findings of the present study highlight the pathogenetic mechanisms associated with colorectal carcinogenesis, including gene defects and regulated signalling pathways as well as disease risk factors. The data of preclinical and translational researches highlighted the role of the gut microbiome in the maintenance of intestinal homeostasis, as well as the action of specific bacterial strains in the establishment of a dysbiotic intestinal microenvironment in which the onset and progression of neoplasia is favored. The modifying interventions in the gut microbiome are aimed at reversing the dysbiotic phenotype, as a therapeutic strategy for the treatment of colorectal cancer.

Conclusions: The progression of rectal carcinogenesis is a multifactorial process in which numerous distinct mechanisms are causally involved, with the gut microbiome playing a crucial role in both the pathogenesis and treatment of the disease.

Keywords: colorectal cancer, gut microbiota, pathogenetic mechanisms, inflammation, dysbiosis, therapeutic interventions

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ορθοκολικός καρκίνος, θεωρείται μείζον πρόβλημα υγείας, καθώς αντιπροσωπεύει την τρίτη σε συχνότητα διαγνωσθείσα και τη δεύτερη σε θνησιμότητα κακοήθη πάθηση, σε παγκόσμιο επίπεδο.

Οι διεργασίες που εμπλέκονται στην παθογένεση και εξέλιξη του ορθοκολικού καρκίνου από τον σχηματισμό ενός καλόηθους αδενώματος έως το διηθητικό νεόπλασμα, έχει πλέον αναγνωριστεί πως δρουν μέσω ενός από τους τρεις ακόλουθους γενετικούς μηχανισμούς: τη χρωμοσωμική αστάθεια, την μικροδορυφορική αστάθεια, και την μεθυλίωση στις νησίδες CpG. Παράλληλα, η προδιάθεση για την ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου σχετίζεται με μη τροποποιήσιμους και τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου. Το ατομικό ιατρικό ιστορικό, το φύλο, η ηλικία, η φυλή, τα κληρονομούμενα σύνδρομα δεν εξαρτώνται από το άτομο. Οι τροποποιήσιμοι παράγοντες σχετίζονται με τον τρόπο ζωής του ατόμου και τις συνήθειές του, διαδραματίζοντας εξίσου σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξή του.

Η μελέτη των περιβαλλοντικών αιτιολογικών παραγόντων της ορθοκολικής καρκινογένεσης αναδεικνύει τον ακρογωνιαίο ρόλο του εντερικού μικροβιώματος τόσο στη διατήρηση της συμβιωτικής ομοιόστασης με τον ξενιστή όσο και στη δημιουργία δυσβιωτικών φαινομένων.

Η συμβιωτική σχέση μεταξύ των στελεχών του εντερικού μικροβιώματος και των δομών της γαστρεντερικής οδού, αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη διατήρηση της εντερικής ομοιόστασης. Οι διαφοροποιήσεις του εντερικού μικροβιώματος λόγω ποσοτικών και ποιοτικών διαταραχών της σύστασης της εντερικής μικροχλωρίδας εξαιτίας δυσβιωτικών φαινομένων, ή φλεγμονής και λόγω διαταραχής στους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης του ξενιστή με τους διάφορους μικροοργανισμούς, φαίνεται να διαταράσσουν τη συμβιωτική αυτή σχέση προάγοντας την παθογένεση του ορθοκολικού καρκίνου. Λόγω της άρρηκτης σύνδεσης του με την εντερική νεοπλασία, πολυάριθμες μελέτες επικεντρώνονται στη μελέτη της επίδρασής και των ρυθμιστικών παρεμβάσεων του εντερικού μικροβιώματος στη θεραπεία του ορθοκολικού καρκίνου.

Στόχος της παρούσας ανασκόπησης αποτελεί η διερεύνηση των βασικών μηχανισμών και των αιτιολογικών παραγόντων της ορθοκολικής καρκινογένεσης και η εκτενής παρουσίαση των λειτουργικών χαρακτήρων του εντερικού μικροβιώματος, η τροποποίηση των οποίων επάγει την διαμόρφωση ενός κατάλληλου μικροπεριβάλλοντος για την εξέλιξη της εντερικής νεοπλασίας. Ταυτόχρονα οι ρυθμιστικές τροποποιήσεις του εντερικού μικροβιώματος, με σκοπό την αποκατάσταση της εντερικής ομοιόστασης, θεωρούνται θεραπευτικοί διάλογοι στα πλαίσια της πρόληψης αλλά και της αντιμετώπισης του ορθοκολικού καρκίνου.

2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Ο ορθοκολικός καρκίνος (ΟΚΚ) ο οποίος αναπτύσσεται στο παχύ έντερο ή/και το ορθό, αντιπροσωπεύει ένα μείζον πρόβλημα υγείας, καθώς θεωρείται ως η τρίτη σε συχνότητα διαγνωσθείσα και η δεύτερη σε θνησιμότητα κακοήθης πάθηση, σε παγκόσμιο επίπεδο [1]. Λόγω της αύξησης που σημειώνεται σε νέες διαγνώσεις, κυρίως στον Δυτικό κόσμο, η επίπτωση του ΟΚΚ αναμένεται να αυξηθεί στα 2.2 εκατομμύρια νέα περιστατικά και στους 1.1 εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως έως το 2030 [2]. Αξίζει να αναφερθεί, η αύξηση κατά 1% στην επίπτωση του ΟΚΚ που παρατηρήθηκε σε άτομα ηλικίας 50-64 ετών και κατά 2% για άτομα νεότερα των 50 ετών.

Στην Ευρώπη, τα στοιχεία δείχνουν πως κάθε χρόνο ανευρίσκονται 450.000 νεοδιαγνωσθέντα περιστατικά, με τους μισούς από αυτούς τους ασθενείς να πεθαίνουν λόγω της συγκεκριμένης κακοήθους νόσου και επιπρόσθετα στην παρούσα χρονική περίοδο, περίπου 1.2 εκατομμύρια Ευρωπαίοι πολίτες νοσούν από ορθοκολικό καρκίνο σύμφωνα με τα στατιστικά δεδομένα της Globocan [3,4]. Στις ευρωπαϊκές χώρες στις οποίες διενεργούνται για μεγάλα χρονικά διαστήματα από το 2000 και σε ευρεία κλίμακα προσυμπτωματικοί διαγνωστικοί έλεγχοι, η συνολική επίπτωση και θνησιμότητα της νόσου φαίνεται μειωμένη σε σχέση με τους πληθυσμούς των χωρών εκείνων οι οποίες υπολείπονται τέτοιου είδους προγραμμάτων [5].

Στις ΗΠΑ, σε ετήσια βάση, πραγματοποιούνται περίπου 151.030 νέες διαγνώσεις ΟΚΚ, εκ των οποίων οι 106.180 αφορούν σε κακοήθεια εντοπισμένη στο κόλον με τις υπόλοιπες να αφορούν στο ορθό, ενώ παράλληλα, περίπου 52.580 ασθενείς πεθαίνουν εξαιτίας του ΟΚΚ, αριθμός που αντιστοιχεί στο 8% όλων των θανάτων από κακοήθειες [6]. Η επίπτωση της νόσου σε ασθενείς μετρίου κινδύνου είναι περίπου 4% και 25% μεγαλύτερη στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες.

Στην Ελλάδα καταγράφηκαν 7895 νέα περιστατικά ΟΚΚ το 2020, (2^η συχνότερη αιτία καρκίνου, αιτιόμενη το 12.2% όλων των καρκίνων) και 3970 θάνατοι (12% του συνολικού αριθμού θανάτων και 3^η σε συχνότητα αιτία των θανάτων που σχετίζονται με καρκίνο). Ταυτόχρονα καταγράφεται γεωγραφική διαφοροποίηση στη θνησιμότητα, με τον μεγαλύτερο επιπολασμό να παρατηρείται σε βόρειες περιοχές της χώρας [7]. Η πενταετής επιβίωση του ΟΚΚ υπολογίζεται σε 18.545 ασθενείς.

Σε παγκόσμια κλίμακα, ο ΟΚΚ είναι ο δεύτερος πιο συχνός τύπος καρκίνου και αντιπροσωπεύει το 9.4%

όλων των τύπων καρκίνων στις γυναίκες, ενώ στους άνδρες είναι ο τρίτος πιο συχνός τύπος αντιπροσωπεύοντας το 10.6% στο σύνολο των κακοηθών περιστατικών. 4.4% των ανδρών και 4.1% των γυναικών θα διαγνωστούν με ΟΚΚ κατά τη διάρκεια της ζωής τους, με τον δια βίου κίνδυνο να μην εμφανίζει διαφορά ανάμεσα στα δυο φύλα σε αντίθεση με τις τιμή της επιπτώσης που φαίνεται αυξημένη στους άνδρες [8].

Η παγκόσμια θνησιμότητα ανέρχεται σε 935.000 θανάτους ετησίως με τους περισσότερους θανάτους στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες του κόσμου, γεγονός που αντανακλά την πτωχότερη επιβίωση στις περιοχές αυτές. Η θνησιμότητα της νόσου καταγράφει πτωτική πορεία από τα μέσα της δεκαετίας του 1980, γεγονός που οφείλεται στη διάγνωση της νόσου σε προωμότερα στάδια αλλά και στις αποτελεσματικότερες θεραπείες, είναι περίπου 25% υψηλότερη στους άνδρες παρά στις γυναίκες. Σε σύγκριση με τους δείκτες επίπτωσης, οι δείκτες θνησιμότητας εμφανίζουν μικρότερη μεταβλητότητα παγκοσμίως, με την υψηλότερη θνησιμότητα να παρατηρείται στην Κεντρική και Ανατολική Ευρώπη και τη χαμηλότερη στη Δυτική Αφρική. Η διακύμανση της θνησιμότητας μεταξύ των ευρωπαϊκών χωρών, πιθανολογείται ότι σχετίζεται με διακρατικές διαφορές συγκριτικά με το στάδιο της νόσου κατά τη διάγνωση καθώς και τα εφαρμοζόμενα πρωτόκολλα θεραπείας. Ο εξομοιωμένος ως προς την ηλικία δείκτης θνησιμότητας στην Ελλάδα εκτιμάται σε 15 και 10 θανάτους ανά 100.000 πληθυσμού, για άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα.

Αξιοσημείωτη είναι η παρατήρηση ότι από το 1998 και έπειτα, τόσο στις ΗΠΑ όσο και διεθνώς, καταγράφεται μια σταδιακή αύξηση του καρκίνου του εγγύς παχέος εντέρου (κεντρικότερα από τη σπληνική καμπή και ιδιαίτερα στο τυφλό), ο οποίος πλέον αποτελεί το 55% του συνόλου των περιπτώσεων. Η αλλαγή αυτή στην ανατομική κατανομή του ΟΚΚ μπορεί εν μέρει να αποδοθεί στους διαφορετικούς μορφολογικούς χαρακτήρες αυτών των ανατομικών περιοχών και στη βελτίωση των μεθόδων διάγνωσης αλλά μπορεί να αντανακλά και μια πραγματική αύξηση της επίπτωσης του καρκίνου του ανιόντος κόλου και του τυφλού, δεικνύοντας έτσι μια αύξηση της συχνότητας εμφάνισης του καρκίνου του δεξιού κόλου. Με βάση την υπόθεση αυτή μπορεί να εξηγηθεί και η παρατήρηση ότι τα ποσοστά 5ετούς επιβίωσης έχουν αυξηθεί σημαντικά για τον καρκίνο του αριστερού, αλλά όχι και για τον καρκίνο του δεξιού κόλου.

Η επίπτωση και η θνησιμότητα της νόσου παρουσιάζει γεωγραφική πλειομορφία, σχετίζεται με διάφορες κοινωνικοοικονομικές και περιβαλλοντικές μεταβλητές της κάθε χώρας όπως και με την γενετική ιδιομορφία του κάθε πληθυσμού και σημειώνει αύξηση σε βιομηχανοποιημένες-ανεπτυγμένες χώρες τόσο για τους άνδρες όσο και για τις γυναίκες. Επιδημιολογικά δεδομένα από μελέτες που αφορούν σε ισπανόφωνους μεταναστευτικούς πληθυσμούς στις ΗΠΑ καθώς και άλλες μετανασταυτικές ροές σε

Ισραήλ και Δυτική Ευρώπη, αναδεικνύουν ότι τα άτομα που μεταναστεύουν από περιοχές με χαμηλότερη επίπτωση σε περιοχές με υψηλότερη, έχουν μελλοντικά την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου που καταγράφεται στη χώρα υποδοχής [9]. Τα υψηλότερα ποσοστά παγκοσμίως εμφανίζονται σε περιοχές όπως η Αυστραλία, η Νέα Ζηλανδία, ο Καναδάς, οι ΗΠΑ και η Βορειοδυτική Ευρώπη και τα χαμηλότερα ποσοστά σε περιοχές όπως η Αφρική και η Νοτιο-Κεντρική Ασία. Γεωγραφικές διαφορές καταγράφονται σε παγκόσμιο επίπεδο ως προς τη συνολική επιβίωση από τη νόσο, με το μεγαλύτερο ποσοστό 5ετούς επιβίωσης να καταγράφεται στις ΗΠΑ (61%) και το μικρότερο στην Κίνα (32%). Η βελτίωση αυτή του προσδόκιμου επιβίωσης στο Δυτικό κόσμο μπορεί να αποδοθεί στην ευρεία εφαρμογή στο γενικό πληθυσμό τεχνικών έγκαιρης διάγνωσης της νόσου σε πολύ πρώιμο ή ακόμη και ασυμπτωματικό στάδιο ή/και στη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα των συμπληρωματικών θεραπειών, με την ανακάλυψη και κλινική εφαρμογή δραστικότερων θεραπευτικών σχημάτων.

2.2 ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

2.2.1 Γονιδιακά ελλείμματα

Ο ΟΚΚ παρουσιάζει γενετική πλειομορφία, ως εκ τούτου αναπτύσσεται μέσω ποικίλων διακριτών μηχανισμών με αποτέλεσμα να έχει το μεγαλύτερο φορτίο μεταλλάξεων από κάθε άλλη κακοήθεια. Οι γενετικές μεταλλάξεις είναι κληρονομικές ή επίκτητες. Συχνότερα, μία μετάλλαξη εμφανίζεται σε ένα κύτταρο κατά την αύξηση ή την ανάπτυξη ενός συγκεκριμένου ιστού ή οργάνου. Η μετάλλαξη αυτή καλείται σωματική. Επειδή αυτές οι μεταλλάξεις συχνά επιφέρουν ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα αναπτύξεως, έχουν ως αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου το οποίο περιέχει το μεταλλαγμένο γενετικό υλικό (κλωνική εξέλιξη του καρκίνου) [10]. Η κλωνική φύση των όγκων είναι ένα κρίσιμο χαρακτηριστικό της θεωρίας της σωματικής μεταλλάξεως/κλωνικής εξέλιξεως της ανθρώπινης καρκινογένεσης. Σύμφωνα με αυτό το πρότυπο, το πλεονέκτημα αναπτύξεως το οποίο αποκτάται από ένα μοναδικό μεταλλαγμένο κύτταρο επιτρέπει στους απογόνους του να υπερισχύουν αριθμητικώς των γειτονικών μη μεταλλαγμένων κυττάρων. Μέσα από αυτόν τον πληθυσμό, ένα μοναδικό κύτταρο υφίσταται μία δεύτερη μετάλλαξη, εξασφαλίζοντας ένα επιπλέον πλεονέκτημα αναπτύξεως το οποίο επιτρέπει επιπλέον κλωνική επέκταση. Διαδοχικοί κύκλοι κλωνικής επεκτάσεως χαρακτηρίζονται από την αλληπάλληλη απόκτηση μεταλλάξεων, την επιπλέον κυτταρική αποδιοργάνωση και τελικώς την ικανότητα διηθήσεως και μεταστάσεως.

Με βάση τον αριθμό των μεταλλάξεων, ο όγκος χαρακτηρίζεται ως υπερμεταλλαγμένος (περισσότερες από 12 μεταλλάξεις ανά 10^6 νουκλεοτιδικές βάσεις) ή μη-υπερμεταλλαγμένος (λιγότερο από 8.24 μεταλλάξεις ανά 10^6 νουκλεοτιδικές βάσεις) [11]. Οι μεταλλάξεις δύναται να προκαλέσουν ενεργοποίηση των ογκογονιδίων K-ras, υπερέκφραση του c-Myc και/ή απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων APC, DCC και p53. Η ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου φαίνεται πως σχετίζεται με αδενωματώδεις πολύποδες λόγω της συσσώρευσης των εν λόγω μεταλλάξεων.

Εξαλλαγές στο γονίδιο APC, περιγράφηκαν αρχικά σε ασθενείς με οικογενή αδενωματώδη πολυποδίαση (FAP) και αποτελούν το 80% των περιπτώσεων σποραδικού ΟΚΚ. Το γονίδιο APC είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο και η δημιουργία πολυποειδών σχηματισμών απαιτεί μεταλλάξεις και στα δυο αλληλία και συγκεκριμένα πρώιμα κωδικόνια λήξης τα οποία έχουν ως αποτέλεσμα την ελαττωματική πρωτεΐνη APC. Στην FAP, οι θέσεις μετάλλαξης σχετίζονται με την σοβαρότητα των κλινικών εκδηλώσεων του συνδρόμου.

Έτερο σημαντικό γονίδιο που εμπλέκεται στον ΟΚΚ είναι το K-ras. Η πρωτεΐνη K-ras, είναι ένα σηματοδοτικό μόριο που σχετίζεται με τον μονοπάτι του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα EGFR (epidermal growth factor receptor) και χαρακτηρίζεται ως πρωτο-ογκογονίδιο καθώς μετάλλαξη στο ένα μόνο αλληλίο διαταρράσει τον κυτταρικό κύκλο, οδηγώντας σε μη ελεγχόμενη κυτταρική διαίρεση. Η σπουδαιότητα του ras στη γένεση του καρκίνου του παχέος εντέρου υπογραμμίζεται από το εύρημα ότι τα καρκινικά κύτταρα, στα οποία ένα μεταλλαγμένο ras γονίδιο έχει αφαιρεθεί ή αντικατασταθεί, χάνουν την ικανότητα να σχηματίζουν όγκους σε ποντικούς. Μεταλλάξεις του ογκογονιδίου ras ανευρίσκονται σε ποσοστό έως και 50% των σποραδικών καρκίνων και στο 50% των αδενωμάτων μεγαλύτερων του 1cm του παχέος εντέρου, ενώ σπανίως παρατηρούνται σε μικρότερα αδενώματα. Υποστηρίζεται ότι οι μεταλλάξεις του ογκογονιδίου ras είναι συνηθέστερες σε καρκίνους του ενδοπεριτοναϊκού κόλου σε σύγκριση με αυτούς του ορθού (61% έναντι 33% αντιστοίχως) [12]. Η απουσία μεταλλάξεων σε μικρότερα αδενώματα υποδηλώνει ότι οι μεταλλάξεις του ογκογονιδίου ras επισυμβαίνουν κατά την διάρκεια της ύστερης προόδου των αδενωμάτων [13]. Εντούτοις, οι μεταλλάξεις του ογκογονιδίου ras δεν περιορίζονται σε δυσπλαστικές αλλοιώσεις. Έως και το 100% των μη προδρόμων εστιακών δυσπλαστικών κρυπών (aberrant crypt foci-ο πρώτος ενδιάμεσος σταθμός εξέλιξης μεταξύ της φυσιολογικής βλεννώδους μεμβράνης του εντέρου και του αδενωματώδους πολύποδα) και 25% των υπερπλασιακών πολύποδων παρουσιάζουν μεταλλάξεις του ογκογονιδίου ras.. Άλλα σηματοδοτικά μόρια που σχετίζονται με τον παράγοντα EGFR όπως ο παράγοντας BRAF, διαδραματίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στην παθογένεση και εξέλιξη του ΟΚΚ.

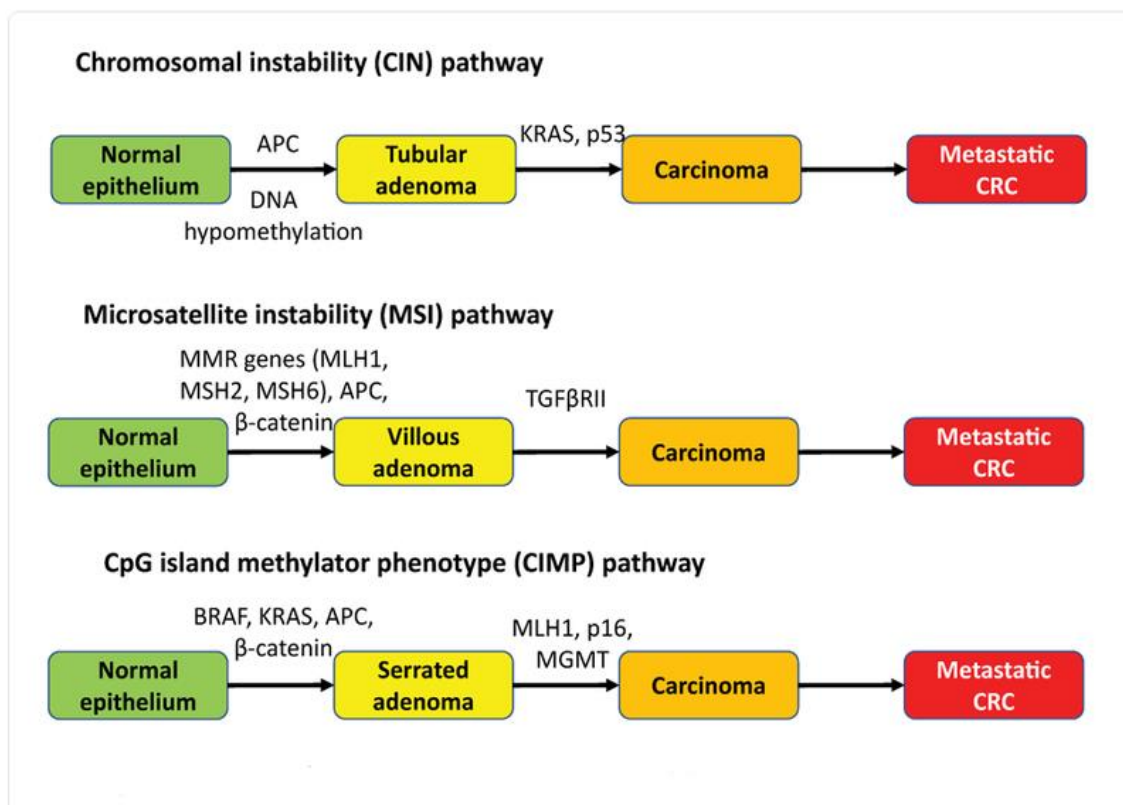
Μια άλλη σημαντική μετάλλαξη πραγματοποιείται στο γονίδιο MYH στο χρωμόσωμα 1p το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην επιδιόρθωση των οξειδωτικών βλαβών του DNA και σε αντίθεση με τις μεταλλάξεις στο γονίδιο APC που κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατές πρότυπο, αυτή έχει ως αποτέλεσμα ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο πρότυπο κληρονομικότητας. Θεωρείται ότι ευθύνεται για το 1.4% όλων των περιπτώσεων αδενωματώδους πολυποδίασης και για περίπου 20% των περιπτώσεων εξασθενημένου τύπου αδενωματώδους πολυποδίασεως (Attenuated Familial Polyposis Syndrome-AFAP).

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 είναι το συνηθέστερο μεταλλαγμένο στην ανθρώπινη καρκινογένεση, η πρωτεΐνη p53, η οποία δεσμεύει το DNA, δρώντας ως μεταγραφικός ενεργοποιητής των ανασταλτικών γονιδίων της αυξήσεως εμφανίζεται καθοριστική για την εκκίνηση της αποπτωτικής διαδικασίας σε κύτταρα με γονιδιακή βλάβη. Μεταλλάξεις στο γονίδιο p53 ανευρίσκονται σε ποσοστό 75% όλων των τύπων ΟΚΚ, ενώ σπανίως παρατηρείται απώλεια του 17p σε αδενώματα και πρόδρομες εστιακές δυσπλαστικές κρύπτες, γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι η απώλεια του γονιδίου p53 αναπαριστά ένα

σχετικώς καθυστερημένο γεγονός στην ογκογένεση του παχέος εντέρου. Η πρωτεΐνη p53 αλληλεπιδρά επίσης με την κυκλοοξυγενάση-2 (Cyclooxygenase -2, COX-2), η οποία προάγει την φλεγμονή και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στον ΟΚΚ. COX-2 θετικοί όγκοι φαίνεται πως σχετίζονται με αυξημένη θνησιμότητα ανεξάρτητα από την κατάσταση του γονιδίου p53 και αυτό υποδεικνύει πως η COX-2 θα μπορούσε να είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας πρόγνωσης του ΟΚΚ. Παράλληλα, διαγραφή του ομόλογου ογκοκατασταλτικού γονιδίου PTEN το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεϊνική φωσφατάση που αποτελεί αρνητικό ρυθμιστή του μονοπατιού σηματοδότησης HER2/PI3K/Akt, εμπλέκετα σε σύνδρομα αμαρτωματώδους πολυποδίασης, στο σύνδρομο νεανικής πολυποδίασης, στο σύνδρομο Peutz-Jeghers και στο σύνδρομο Cowden's.

2.2.2 Γενετικά Μονοπάτια

Οι μεταλλάξεις που εμπλέκονται στην παθογένεση και εξέλιξη του ΟΚΚ από τον σχηματισμό ενός καλόηθους αδενώματος έως το διηθητικό νεόπλασμα, έχει πλέον αναγνωριστεί πως δρουν μέσω ενός από τους τρεις ακόλουθους γενετικούς μηχανισμούς: τη χρωμοσωμική αστάθεια (Chromosomal Instability, CIN) με επακόλουθη απώλεια της ετεροζυγωτίας (Loss of Heterozygosity, LOH), την μικροδορυφορική αστάθεια (Microsatellite Instability, MSI) και την μεθυλίωση στις νησίδες CpG (CpG Island Methylation Pathway, CIMP).



Εικόνα 1. Γενετικά μονοπάτια στην παθογένεση του ορθοκολικού καρκίνου.

(Ανατύπωση από: Dong L, Ren H. Blood-based DNA Methylation Biomarkers for Early Detection of Colorectal Cancer. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*. 2018 ;11(6):120-126.)

Χρωμοσωμική αστάθεια (Chromosomal Instability-CIN)

Το μονοπάτι της χρωμοσωμικής αστάθειας CIN και της επακόλουθης απώλειας ετεροζυγωτίας LOH, δηλαδή η απώλεια ενός από τα γονικά αλληλόμορφα, είναι μια σημαντική γενετική αλλοίωση που προκαλεί την απενεργοποίηση ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου σε καρκινογένεση πολλαπλών σταδίων και χαρακτηρίζεται από μεγάλες χρωμοσωμικές διαγραφές και ανευπλοειδία καρκινικών κυττάρων, με το 85% των ΟΚΚ να ανακύπτουν από μεταλλάξεις στο συγκεκριμένο μονοπάτι. Σχετίζεται με αρχική μεταλλαγή στο γονίδιο APC, με ή χωρίς παρουσία έλλειψης, γεγονός που πυροδοτεί την υπερλειτουργία του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/β-κατενίνης. Η απενεργοποίηση του συγκεκριμένου γονιδίου έχει ως αποτέλεσμα την αποτυχία αποδόμησης της β-κατενίνης, την συσσώρευση της στο κυτταρόπλασμα και την επακόλουθη μετατόπισή της στον πυρήνα του κυττάρου όπου διεγείροντας τους στόχους του μεταγραφικού παράγοντα TCF (T cell factor) οδηγεί σε αυξημένο πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση,

μετανάστευση και ικανότητα προσκόλλησης του κυττάρου. Στο μονοπάτι αυτό παρατηρούνται επίσης μεταλλάξεις σε συγκεκριμένα γονίδια, όπως KRAS, PIK3CA και p53. Σε πρώιμες μελέτες καρκίνου του παχέος εντέρου, παρατηρήθηκε LOH στα χρωμοσώματα 5q, 8p, 17p ή 18q σε ποσοστά 36%, 50%, 73% και 75% αντιστοίχως [14]. Πιο συγκεκριμένα, η διαγραφή του 18q σχετίζεται με απώλεια των γονιδίων DCC, SMAD2 και SMAD4, τα οποία εδράζονται εκεί. Διαγραφή αυτής της περιοχής σχετίζεται με αρνητική πρόγνωση και μεγάλη πιθανότητα για εξέλιξη μεταστατικού χαρακτήρα του όγκου. Η CIN σπάνια ανευρίσκεται σε πρόδρομες βλάβες του επιθηλίου του παχέος εντέρου, αλλά αποτελεί χαρακτηριστικό της ανάπτυξης υψηλόβαθμης δυσπλασίας ή OKK [15].

Μικροδορυφορική αστάθεια (Microsatellite Instability-MSI)

Το μονοπάτι της μικροδορυφορικής αστάθειας MSI, περιλαμβάνει μεταλλάξεις σε μικροδορυφόρους στην περιοχή του εκκνητή σε αρκετά κρίσιμα γονίδια για την ρύθμιση της αυξήσεως, όταν υπάρχουν ελαττωματικά γονίδια επιδιόρθωσης αταίριαστων βάσεων (Mismatch Repair Genes-MMR), τα οποία περιλαμβάνουν τα ακόλουθα: MSH2, MLH1, PMS1, PMS2 και MSH6/GTBP. Σωρευτικές μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά οδηγούν σε γενωμική στάθεια και επακόλουθη καρκινογένεση. Περιγράφηκε για πρώτη φορά στο Σύνδρομο οικογενειακού καρκίνου (Lynch syndrome). Οι σποραδικοί όγκοι, οι οποίοι παρουσιάζουν MSI, αποτελούν το 15% του συνόλου των σποραδικών καρκίνων του παχέος εντέρου και του ορθού και έχουν ιδιαίτερα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά. Ειδικότερα, τείνουν να εμφανίζονται στο εγγύς παχύ έντερο, έχουν μεγαλύτερη βλεννώδη σύνθεση, περιέχουν λεμφοκυτταρική διήθηση, είναι συνήθως ανεπαρκώς διαφοροποιημένοι και τείνουν να έχουν καλύτερη πρόγνωση. Η παρουσία ή μη MSI καθορίζει δύο διακριτές ομάδες όγκων: νεοπλάσματα με CIN τα οποία χαρακτηρίζονται από απώλεια ευπλοϊδίας, LOH (17p, 18q, 8p, 22q), μεταλλάξεις ογκοκατασταλτικών γονιδίων (p53 και APC) και φυσιολογικό MMR σύστημα και αποτελούν το 85% των περιπτώσεων σποραδικού OKK και νεοπλάσματα με γενετική αστάθεια, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από αστάθεια του μικροδορυφορικού DNA, ευπλοϊδικότητα, μεταλλάξεις των γονιδίων TGBβ-RII, BAX, TCF4, Caspase 5, HIF1α, αλλά όχι των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, ενώ εμφανίζουν μεταλλάξεις ογκογονιδίων (BRAF και PI3KCA) και αποτελούν το 15% των περιπτώσεων σποραδικού OKK. Έχει προταθεί η χρήση μιας ομάδας πέντε μικροδορυφορικών αλληλουχιών που λειτουργούν ως δείκτες (BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S250) με βάση τις οποίες οι όγκοι ταξινομούνται ως μικροδορυφορικά σταθεροί ή ασταθείς ως εξής: όγκοι που εμφανίζουν αντίστοιχες αλλαγές σε παραπάνω από 2 από τους προαναφερθέντες δείκτες ή σε ποσοστό $\geq 30-40\%$ των μικροδορυφορικών δεικτών εαν χρησιμοποιούνται πάνω από 5 δείκτες διακρίνονται από υψηλή μικροδορυφορική αστάθεια (MSI-High), όγκοι που εμφανίζουν αστάθεια σε 1

μόνο δείκτη ή σε ποσοστό <30-40% των μικροδορυφορικών δεικτών εαν χρησιμοποιούνται πάνω από 5 δείκτες διακρίνονται από χαμηλή μικροδορυφορική αστάθεια (MSI-Low), ενώ αν κανένας γενετικός τύπος δεν είναι ασταθής, ο όγκος χαρακτηρίζεται ως μικροδορυφορικά σταθερός (MSS-Stable). Οι όγκοι με την παρουσία αυτής της διαταραχής, είτε σποραδικοί, είτε στα πλαίσια οικογενούς συνδρόμου, τείνουν να αναπτύσσονται στο δεξιό κόλον, έχουν υψηλό ποσοστό μεταλλάξεων (>40% στο γονίδιο BRAF), βλεννώδη ιστολογικά χαρακτηριστικά, έντονη λεμφοκυτταρική φλεγμονώδη περινεοπλασματική αντίδραση και είναι συχνά χαμηλής διαφοροποίησης με καλύτερη πρόγνωση και επιβίωση.

Μεθυλίωση των CpG νησίδων

Το μονοπάτι της μεθυλίωσης (υπέρ- ή υπό-) των CpG νησίδων που εδράζονται σε περιοχές υποκινητών ογκοκατασταλτικών γονιδίων αποτελεί τον τρίτο μηχανισμό που οδηγεί σε γενομική αστάθεια μέσω της γονιδιακής αδρανοποίησης και χαρακτηρίζεται από την αποσιώπηση της γονιδιακής μεταγραφής [16]. Δεδομένης της λειτουργικής ισοδυναμίας μεταξύ της επιγενούς σίγασης και των αδρανοποιών μεταλλάξεων, η επιγενετική αυτή αστάθεια αποτελεί μία εναλλακτικό οδό για την ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου. Όγκοι που παρουσιάζουν CIMP φαινοτύπους χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερη επιδημιολογία, κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά και εντοπίζονται σε συγκεκριμένες ανατομικές περιοχές. Φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF (έως και 50% των περιπτώσεων) και πολύ σπάνια στα APC, KRAS και p53. Το μονοπάτι αυτό καλείται και οδοντωτό καθώς παρατηρήθηκε διαταραχή της μεθυλίωσης στους οδοντωτούς πολύποδες, σε αντίθεση με τους αδενωματώδεις πολύποδες στους οποίους ανευρίσκονται μεταλλάξεις στο APC γονίδιο και σχετίζονται με το μονοπάτι CIN. Το μονοπάτι CIMP επικαλύπτεται εν μέρει με το μονοπάτι MSI, καθώς η παρουσία MSI σε σποραδικούς όγκους οφείλεται κυρίως σε μεθυλίωση του γονιδίου MLH1. Αν και έχει εγκαθιδρυθεί η ύπαρξη CIMP, ο προσδιορισμός του διαφέρει μεταξύ των διαφόρων μελετών, καθώς δεν υπάρχει ένα κοινά αποδεκτό πάνελ γονιδίων. Η κατηγοριοποίηση των CIMP όγκων, στηρίζεται στη χρήση του εκάστοτε μεθυλιωμένου γενετικού τύπου που μελετάται. Η πλειονότητα των μελετών χρησιμοποιεί τους εξής 5 γενετικούς δείκτες: hMLH1, p16, MINT1, MINT2, και MINT31 [17]. Κατά τον Barault, η ταξινόμηση των CIMP όγκων γίνεται με βάση το προφίλ μεθυλίωσης των 5 αναφερθέντων γενετικών τύπων και αναδεικνύει 3 υποκατηγορίες, μηδενικού βαθμού CIMP-0, χαμηλού βαθμού CIMP-low και υψηλού βαθμού CIMP-high όγκους. Κατά τον Weisenberger, οι όγκοι ταξινομούνται στους CIMP-αρνητικούς και CIMP-θετικούς οι οποίοι συσχετίζονται με τις μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF [18]. Κατά τον Shen, οι CIMP όγκοι του παχέος εντέρου ταξινομούνται σε 3 υποκατηγορίες, CIMP1 όγκοι με MSI στο 80% και μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF στο 50% των περιπτώσεων, CIMP2 με μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS στο 92% των περιπτώσεων

που σπάνια χαρακτηρίζονται από MSI και μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF και CIMP-αρνητικούς όγκους [19].

2.2.3 Μοριακή ταξινόμηση

Οι παραπάνω τρεις μηχανισμοί ογκογένεσης του ΟΚΚ δεν είναι αλληλοαποκλειόμενοι και μια κακοήθεια ενδεχομένως να φέρει πολλαπλούς χαρακτήρες. Παραδείγματος χάρη, το μονοπάτι CIN σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση ενώ το μονοπάτι MSI σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση. Παράλληλα το 25% των MSI ΟΚΚ φέρουν και χρωμοσωμικές μεταλλάξεις [20]. Επιπρόσθετα, μολονότι ο φαινότυπος CIMP ενοχοποιείται για τους περισσότερους MSI- θετικούς/CIN- αρνητικούς ΟΚΚ, το 33% των CIMP-θετικών όγκων, χαρακτηρίζεται από χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Αντίθετα, το 12% των CIMP-θετικών όγκων χαρακτηρίζεται από MSI. Ακόμα το μονοπάτι CIMP, χαρακτηρίζεται ως δείκτης καλής πρόγνωσης όταν εμπεριέχει MSI ενώ οι όγκοι με παρουσία CIMP χωρίς MSI εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση [21]. Φαίνεται λοιπόν ότι ο ΟΚΚ δεν είναι μια ομοιογενής νόσος, αλλά μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε επιμέρους υποτύπους, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες μοριακές και μορφολογικές διαφοροποιήσεις. Βάσει αυτών των ευρημάτων, έχουν πραγματοποιηθεί μεγάλες πολυκεντρικές μελέτες, με σκοπό την καλύτερη κατανόηση των διαφορετικών μονοπατιών που παίζουν ρόλο στην ορθοκολική καρκινογένεση και την καλύτερη ταξινόμηση των διαφόρων υποτύπων σε μοριακές κατηγορίες.

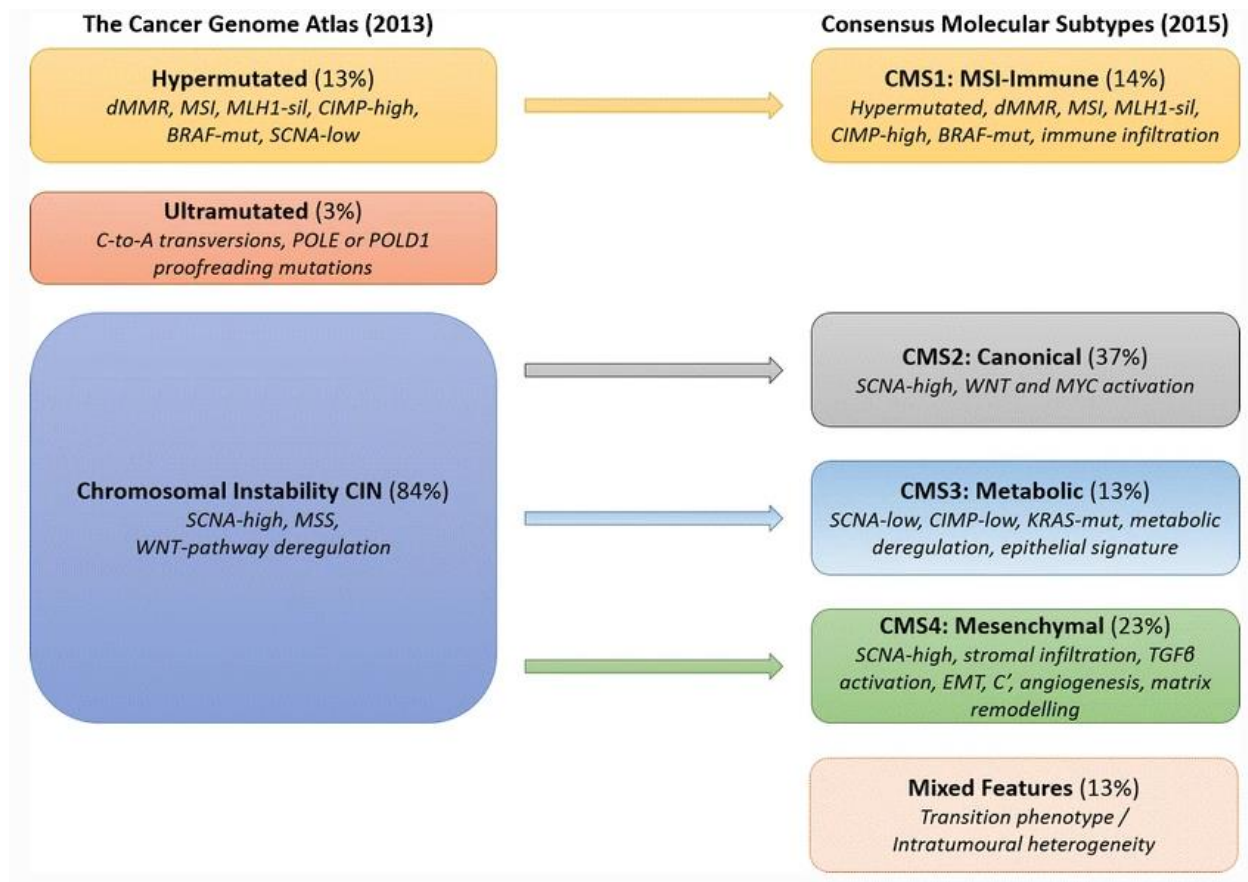
Αλληλούχιση του συνόλου του καρκινικού γονιδιώματος-The Cancer Genome Atlas

Στην πολυκεντρική αυτή μελέτη, εξετάστηκε ένα σύνολο μοριακών/γενετικών παραμέτρων, όπως ανάλυση δεδομένων αλληλούχισης εξονιώματος, ανάλυση των διαταραχών στον αριθμό των χρωμοσωμάτων (somatic copy number alterations / SCNA - παρουσία ανευπλοειδίας), μελέτη της μεθυλίωσης των εκκινητών ενός συνόλου γονιδίων, καθώς και αντίστοιχη μελέτη των μεταγραφικών RNA (mRNA) και των microRNA [22]. Η ανάλυση αυτών των παραμέτρων απέδειξε ότι οι όγκοι του παχέος εντέρου και του ορθού μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: (1) 13% υπερμεταλλαγμένων όγκων που παρουσιάζουν MSI λόγω ελαττωματικού MMR που συνήθως προκαλείται από αποσιώπηση του γονιδίου MLH1 λόγω υπερμεθυλίωσης του εκκινητή, 80-90% των σποραδικών υπερμεταλλαγμένων όγκων εμφανίζουν μετάλλαξεις του γονιδίου BRAF V600E (2) 3% όγκων με υπερβολικό αριθμό μεταλλάξεων (hypermuted), οι οποίοι χαρακτηρίζονται από

απενεργοποιητικές μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη δομή λειτουργίας ελέγχου (proofreading) των ενζύμων DNA Πολυμεράσης E ή Δ (POLE ή POLD) και (3) 84% όγκων με CIN, χαμηλότερο ρυθμό μεταλλάξεων, μικροδορυφορική σταθερότητα και απορρύθμιση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt λόγω μετάλλαξης του γονιδίου APC.

The Consensus Molecular Subtypes

Από μια μεγάλη πολυκεντρική μελέτη, που αποτελεί και την πιο πρόσφατη προσπάθεια μοριακής ταξινόμησης του ΟΚΚ, βασισμένη σε ένα σύνολο μοριακών χαρακτηριστικών όπως αλλαγές στον αριθμό των γονιδίων, μεταλλάξεις και έκφραση σε επίπεδο mRNA, διακρίνονται 4 διαφορετικοί υπότυποι (consensus molecular subtypes 1-4), καθένας εκ των οποίων χαρακτηρίζεται από διαφορετικά χαρακτηριστικά. Ο CMS1 (MSI-immune) χαρακτηρίζεται από την παρουσία MSI, CIMP, μεταλλάξεων στο BRAF και αυξημένη ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού, συχνότερη εμφάνιση σε γυναίκες με εντόπιση στο δεξί κόλον και χειρότερη πρόγνωση μετά από υποτροπή. Ο CMS2 (canonical) είναι ο υπότυπος με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης και χαρακτηρίζεται από αυξημένη σηματοδότηση Wnt και υψηλή έκφραση MYC, εντοπίζεται πιο συχνά στο αριστερό κόλον και εμφανίζει καλύτερη πρόγνωση. Ο CMS3 (metabolic) εμφανίζει μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS και απορρύθμιση του μεταβολισμού, ενώ ο CMS4 (mesenchymal) περιλαμβάνει διήθηση και αναδιάταξη του περιβάλλοντος του όγκου στρώματος, αγγειογένεση, αυξημένη σηματοδότηση TGF-β, πιθανότερη υποτροπή και χειρότερη συνολική επιβίωση [23]. Οι προαναφερθέντες υπότυποι πέραν των ιδιαίτερων μοριακών χαρακτηριστικών έχουν και διακριτή κλινική σημασία. Από την ανάλυση αυτή προέκυψε και μία πέμπτη κατηγορία (σε ποσοστό 13%) με μικτούς χαρακτήρες οι οποίοι πιθανώς αφορούν σε έναν μεταβατικό νεοπλασματικό φαινότυπο ή οφείλονται στην ετερογένεια των εν λόγω νεοπλασμάτων.



Εικόνα 2. Συσχέτιση μοριακών συστημάτων ταξινόμησης ορθοκολικού καρκίνου.

(Ανατύπωση από: Müller MF, Ibrahim AE, Arends MJ. Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Arch.* 2016;469(2):125-134.)

2.2.4 Η διαδοχή αδενώματος – καρκινώματος

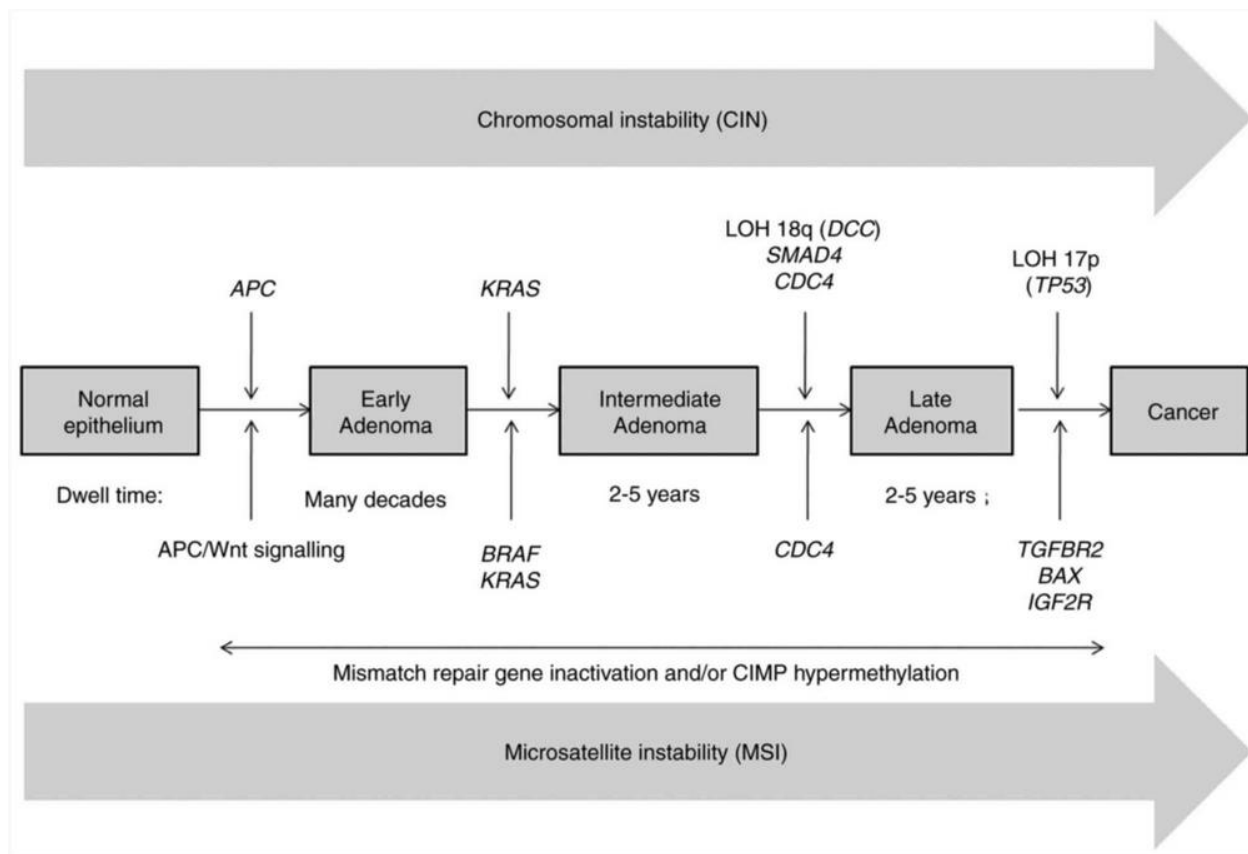
Η καρκινογένεση είναι μια πολυσταδιακή διαδικασία κατά την οποία οι γενετικές αλλαγές μετασχηματίζουν τις ιδιότητες των φυσιολογικών κυττάρων σε εκείνες των καρκινικών. Καθοριστικής συμβολής στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την καρκινογένεση, ήταν η ανάπτυξη του μοντέλου των Fearon και Vogelstein, το οποίο αποτελεί ένα πολυσταδιακό γενετικό μοντέλο σχηματισμού των όγκων παχέος εντέρου, σύμφωνα με το οποίο η συσσώρευση μεταλλαγών σε συγκεκριμένα γονίδια, οδηγεί σταδιακά ένα φυσιολογικό εντερικό επιθήλιο στην ανάπτυξη αρχικά αδενώματος, στη συνέχεια αδενοκαρκινώματος το οποίο εν τέλει μεθίσταται, μια διαδικασία που μπορεί

να διαρκέσει έως μια δεκαετία.

Οι περισσότεροι καρκίνοι του παχέος εντέρου του ανθρώπου πιστεύεται ότι εκδηλώνονται από αδενώματα του εντέρου (αδενωματώδεις πολύποδες), τα οποία είναι δυσπλαστικά αλλά όχι κακοήθη. Οι αδενωματώδεις πολύποδες σχηματίζονται στο κόλον, όταν οι φυσιολογικοί μηχανισμοί οι οποίοι ελέγχουν την επιθηλιακή ανανέωση απορρυθμιστούν.

Τα επιφανειακά κύτταρα κατά μήκος του εντέρου συνεχώς αποπίπτουν στον εντερικό σωλήνα και πρέπει συνεχώς να αντικαθίστανται. Ο πολλαπλασιασμός λαμβάνει χώρα αποκλειστικώς στις κρύπτες. Καθώς τα κύτταρα προωθούνται στην επιφάνεια του αυλού, παύουν να πολλαπλασιάζονται και τελικώς διαφοροποιούνται. Αυτή η διαδικασία σταδιακώς απορρυθμίζεται, καθώς τα αδενώματα αυξάνουν σε μέγεθος, καθίστανται δυσπλαστικά και τελικώς αποκτούν διηθητικό δυναμικό. Πρώτο βήμα σε αυτή τη διαδικασία είναι η δημιουργία και ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός εντερικών κρυπτών (abberant crypt foci). Οι συγκεκριμένες παρεκκλίνουσες εντερικές κρύπτες αποτελούν συναθροίσεις μονήρων ή πολλαπλών εντερικών κρυπτών, οι οποίες πιθανώς αντιπροσωπεύουν την πρωιμότερη ανιχνεύσιμη παθολογική βλάβη που μπορεί να οδηγήσει σε ΟΚΚ. Η δημιουργία των κρυπτών αυτών, γίνεται ορατή κατά τη διάρκεια ενδοσκοπήσεως με χρώση κυανού του μεθυλενίου, με τα ανοίγματα των κατ'εκτροπήν κρυπτών να είναι συνήθως μεγαλύτερα από εκείνα των φυσιολογικών κρυπτών. Στα κύτταρα των κατ'εκτροπήν κρυπτών έχουν ανιχνευθεί γενετικές μεταβολές οι οποίες περιλαμβάνουν μεταλλάξεις στο γονίδιο K-ras, καθώς και MSI [24,25].

Έτσι, τα κύτταρα αρχικά συσσωρεύονται στην επιφάνεια του εντερικού αυλού σχηματίζοντας έναν καλοήγη πολύποδα. Καθώς ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός επιτείνεται και η κυτταρική αποδιοργάνωση χειροτερεύει, τα κύτταρα αρχίζουν και διηθούν δια της υποβλεννογονίου μυϊκής στοιβάδας και μεταπίπτουν πλέον σε διηθητικό καρκίνο. Ακολουθεί η διήθηση των περικολικών ιστών, των λεμφαδένων και τελικά η ανάπτυξη απομακρυσμένων μεταστάσεων.



Εικόνα 3. Διαδοχή αδενώματος – ορθοκολικού καρκινώματος κατά Fearon και Vogelstein.

Η μετάλλαξη στο APC γονίδιο και η απορρύθμιση της σηματοδότησης Wnt, αποτελούν τα πρωταρχικά γεγονότα στην μετάπλαση του φυσιολογικού εντερικού επιθηλίου σε αδενωμάτωση. Στη συνέχεια σχηματίζονται μεγαλύτερα σε μέγεθος αδενώματα τα οποία φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο K-ras ή στο BRAF. Ακολουθεί απώλεια του γονιδίου SMAD4 στο χρωμόσωμα 18q κατά τον σχηματισμό προχωρημένου αδενώματος και τελικές μεταλλάξεις στο p53 στο καρκίνωμα. Η διαδοχή ακολουθεί τα τρία παθογενετικά μονοπάτια: CIN, MSI και CIMP. Στο μονοπάτι MSI παρατηρούνται παρόμοια γεγονότα, με εκείνα του μονοπατιού CIN. (Ανατύπωση από: Ha Thi Nguyen, Hong-Quan Duong, The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy. Oncol Lett 2018 Jul;16(1):9-18.)

Η εξελικτική πορεία από αδένωμα σε καρκίνωμα θεωρείται πλέον ως η κατεξοχήν πορεία διαμέσου της οποίας αναπτύσσεται η πλειονότητα των ΟΚΚ. Η υπόθεση ότι το διηθητικό νεόπλασμα αναπτύσσεται από ενδιάμεσες, προκαρκινικές, πρόδρομες μορφές στηρίζεται σε παθολογοανατομικά, επιδημιολογικά

και κλινικά δεδομένα, τόσο σε ανθρώπινα όσο και σε πειραματικά πρότυπα πειραματοζώων. Πρώιμοι καρκίνοι παρατηρούνται συχνά σε μεγάλους αδενωματώδεις πολύποδες, ενώ περιοχές αδενωματώδους αλλαγής συχνά ανευρίσκονται περίξ των διηθητικών νεοπλασμάτων. Καλοήθεις πολύποδες που δεν αφαιρέθηκαν παρατηρήθηκαν να εξαλλάσσονται με την πάροδο του χρόνου σε διηθητικούς καρκίνους. Πληθυσμοί υψηλού κινδύνου νόσησης από καρκίνο του παχέος εντέρου παρουσιάζουν επίσης υψηλή παρουσία ορθοκολικών πολυπόδων. Επιπρόσθετα, αδενώματα και τα καρκινώματα παρουσιάζουν παρόμοια κατανομή σε όλη την έκταση του εντέρου και αδενώματα τυπικώς ανευρίσκονται 10-15 χρόνια πριν την εμφάνιση καρκίνου, τόσο της σποραδικής όσο και της οικογενούς μορφής. Η υψηλότερη συχνότητα ανεύρεσης καλοήθων ορθοκολικών πολυπόδων είναι περί το πεντηκοστό έτος. Η μεγαλύτερη επίπτωση του ΟΚΚ σε σχέση με την ηλικία είναι περί το εξηκοστό έτος. Φαίνεται επομένως ότι απαιτείται περίπου μία δεκαετία για την εξαλλαγή ενός αδενωματώδους πολύποδα σε διηθητικό καρκίνο. Έχει υπολογισθεί ότι ένας πολύποδας μεγαλύτερος από 1cm παρουσιάζει 2,5% κίνδυνο εξαλλαγής σε διάστημα πενταετίας, 8% σε διάστημα δεκαετίας και 24% σε διάστημα εικοσαετίας. Σε πρότυπα πειραματοζώων με καρκίνο παχέος εντέρου, αδενώματα αναπτύσσονται πριν την ανάπτυξη καρκινωμάτων, τα οποία αναπτύσσονται ομοιόμορφα στον αδενωματώδη ιστό. Τέλος η σημαντική μείωση της συχνότητας εμφανίσεως καρκίνου του παχέος εντέρου μετά την αφαίρεση των πολυπόδων έχει αποδειχθεί σε τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες σε ανθρώπους. Η αφαίρεση των πολυπόδων ελαττώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου παχέος εντέρου. Ασθενείς με μικρά αδενώματα έχουν 2,3 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο καρκίνου μετά την αφαίρεση των πολυπόδων συγκρινόμενοι με αυτούς που δεν έχουν υποβληθεί σε πολυπεκτομή οι οποίοι έχουν 8 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να προσβληθούν από νόσο.

2.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Η προδιάθεση για την ανάπτυξη του ΟΚΚ σχετίζεται με μη τροποποιήσιμους και τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου. Το ατομικό ιατρικό ιστορικό, το φύλο, η ηλικία, η φυλή, τα κληρονομούμενα σύνδρομα δεν εξαρτώνται από το άτομο. Οι τροποποιήσιμοι παράγοντες σχετίζονται με τον τρόπο ζωής του ατόμου και τις συνήθειές του, διαδραματίζοντας εξίσου σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξή του.

2.3.1 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Ηλικία

Η ηλικία αποτελεί κυρίαρχο προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη ΟΚΚ, με την επίπτωση της νόσου να παρουσιάζει σταθερή αύξηση μετά την ηλικία των 50 ετών. Αυτή είναι και η ουδός έναρξης διενέργειας διαγνωστικών προσυμπτωματικών ελέγχων, σε μέσου ρίσκου ασυμπτωματικά άτομα. Το 90% των νέων διαγνώσεων αφορούν ηλικίες μεγαλύτερες των 50 ετών. Η μέση ηλικία διάγνωσης του ΟΚΚ είναι τα 66 έτη για τους άνδρες και τα 69 έτη για τις γυναίκες, με την πάθηση να εντοπίζεται στο ορθό για τις νεότερες ηλικίες (62 στους άνδρες και 63 στις γυναίκες αντίστοιχα), σε σύγκριση με την εντόπιση στο κόλον για άτομα μεγαλύτερης ηλικίας (67 στου άνδρες και 71 στις γυναίκες αντίστοιχα) [26]. Ο μέσος ρυθμός εμφάνισης νέων περιστατικών ΟΚΚ σε παγκόσμιο επίπεδο ανά έτος είναι 49.1 για κάθε 100.000 άνδρες και γυναίκες, αυξανόμενος για κάθε ηλικιακή ομάδα από 0.1 για ηλικίες 10-14 ετών μέχρι 300.6 για ηλικίες άνω των 85 ετών. Ειδικότερα για την Ελλάδα, σύμφωνα με τις εκτιμήσεις για τη συχνότητα και τη θνησιμότητα του ΟΚΚ στις χώρες της Ευρώπης, κατά το έτος 2020 αναφέρονται 41 και 31.3 περιπτώσεις ανδρών και γυναικών αντίστοιχα ανά 100.000 κατοίκους. Στις ΗΠΑ, σε βάθος 40 ετών, η επίπτωση του ορθοκολικού καρκίνου σημείωσε ετήσια αύξηση κατά 2.4% στην ηλικιακή ομάδα 20-29 ετών, κατά 1.0% στην ηλικιακή ομάδα 30-39 ετών, 1.3% σε αυτή των 40-49 ετών και 0.5% σε άτομα 50-54 ετών [27]. Η αυξανόμενη εμφάνιση της πάθησης σε ολοένα και νεότερο ενήλικο πληθυσμό είναι ανησυχητική και υπαγορεύει την εξεύρεση νέων στρατηγικών για την πρόωπη διάγνωση αλλά και αντιμετώπισή της.

Φύλο

Τα ποσοστά εμφάνισης του ΟΚΚ είναι 25% υψηλότερα στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες και τόσο τα αδενώματα τους παχέος εντέρου όσο και ΟΚΚ εμφανίζονται να έχουν μια πιο εγγύς κατανομή (δεξιό κόλον) στις γυναίκες ιδιαίτερα στις εμμηνοπαυσιακές, σε σύγκριση με τους άνδρες που εκδηλώνουν την νόσο περισσότερο στο περιφερικό τμήμα του παχέος εντέρου (ορθό) [28]. Ο ισόβιος κίνδυνος διάγνωσης καρκίνου παχέος εντέρου είναι 6.14% στους άνδρες και 5.92% στις γυναίκες με αντίστοιχη πιθανότητα θανάτου 2.6% και 2.65%. Οι διάφορες επιδημιολογικές διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα, αντανακλούν πιθανώς την διαφορετική έκθεση των ανδρών και των γυναικών σε παράγοντες κινδύνου όπως για παράδειγμα το κάπνισμα, την ορμονολογική ετερότητα και τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των παραγόντων [29].

Φυλή/Εθνικότητα

Από τη μελέτη της επίπτωσης και θνησιμότητας του ΟΚΚ μεταξύ φυλών και εθνοτικών ομάδων, ανακύπτουν σημαντικές διαφορές. Η υψηλότερη επίπτωση παρατηρείται στους πληθυσμούς της Δυτικής Ευρώπης, της Βόρειας Αμερικής, της Αυστραλίας και της Νέας Ζηλανδίας. Η συχνότητα του ΟΚΚ βαίνει ελαττούμενη όσο κατέρχεται κανείς προς το Νότο, με τις αφρικανικές χώρες να παρουσιάζουν την χαμηλότερη επίπτωση. Οι Ασιατικές χώρες, παρουσιάζουν μικρή επίπτωση της νόσου, ενώ χαμηλοί δείκτες παρατηρούνται και στις χώρες της Ανατολικής Ευρώπης, με εξαίρεση τον πληθυσμό των Εβραίων (Ashkenazi), οι οποίοι διατρέχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο νόσησης από ΟΚΚ, από οποιοδήποτε άλλο έθνος του κόσμου. Μερικές γονιδιακές μεταλλάξεις έχουν βρεθεί σε άτομα αυτής της εθνικότητας, με την πιο κοινή (H307KAPC) να εντοπίζεται σε περίπου 6% των Αμερικάνων Εβραίων [30]. Στις χώρες της Λατινικής Αμερικής η συχνότητα ποικίλλει. Είναι χαρακτηριστικό ότι μέσα στο Ισραήλ αξιοσημείωτη διαφορά υφίσταται μεταξύ εκείνων που έχουν γεννηθεί στην Ευρώπη και αυτών που κατάγονται από τη βόρειο Αφρική, με την επίπτωση της νόσου να είναι 2.5 φορές μεγαλύτερη στους πρώτους σε σχέση με τους τελευταίους. Στις ΗΠΑ, οι Αφροαμερικανοί έχουν τα υψηλότερα ποσοστά ΟΚΚ όλων των εθνοτικών ομάδων. Οι δείκτες επίπτωσης και θνησιμότητας είναι περίπου 20% υψηλότεροι σε Αφροαμερικανούς από ό, τι στους λευκούς Αμερικανούς. Επιπλέον, ο ΟΚΚ εμφανίζεται σε νεαρότερη ηλικία και με μεγαλύτερη συχνότητα σε Αφροαμερικανούς κάτω των 50 ετών. Φαίνεται επίσης να εντοπίζεται πιο συχνά στο δεξιό κόλον στην προαναφερθείσα εθνοτική ομάδα. Δεν είναι σαφές κατά πόσο αυτές οι φυλετικές διαφορές είναι βιολογικές ή οφείλονται στα χαμηλότερα ποσοστά πρόσβασης σε προσυμπτωματικό έλεγχο και σε πολυεκτομή μεταξύ των Αφροαμερικανών στις ΗΠΑ.

Ατομικό ιστορικό αδενωμάτων - ορθοκολικού καρκίνου

Το ιστορικό αδενωμάτων - ΟΚΚ ενισχύει τον κίνδυνο ανάπτυξης ή επανεμφάνισης αντίστοιχα της νόσου. Παράγοντες που καταδεικνύουν αυτή τη συσχέτιση είναι η ίδια καμπύλη κατανομής ηλικιών, η ομοιάζουσα τοπογραφική εντόπιση στο παχύ έντερο και η καθολική ανάπτυξη καρκίνου στην FAP. Αν θα παρουσιάσει εξαλλαγή ένα αδένωμα είναι άμεσα αλληλοεξαρτώμενο από το μέγεθός του, το είδος του και το βαθμό δυσπλασίας που το χαρακτηρίζει. Σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε εκτομή ΟΚΚ, αναπτύχθηκε μετάχρονη νόσος σε ποσοστό 1,5-3% εντός των πρώτων 5 μετεγχειρητικών ετών. Ο μετάχρονος καρκίνος μπορεί να εμφανιστεί μέχρι και πολλά χρόνια αργότερα, αλλά στο 50% των περιπτώσεων μετάχρονου ΟΚΚ αυτός εμφανίζεται εντός 5-7 ετών από τη διάγνωση της αρχικής εστίας. Παράλληλα το ατομικό ιστορικό μεγάλου (>1 cm) αδενωματούδους πολύποδα με λαχνωτή ή σωληνολαχνωτή ιστολογική εικόνα ή με υψηλού βαθμού δυσπλασία ιδιαίτερα αν είναι πολλαπλοί πολύποδες, αυξάνει το σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης ΟΚΚ περίπου κατά 3,5-6,5 φορές στους ασθενείς αυτούς, σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό [31].

Οικογενειακό ιστορικό αδενωμάτων – ορθοκολικού καρκίνου

Ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης ΟΚΚ σε άτομα που στο οικογενειακό τους περιβάλλον και σε 1^{ου} βαθμού συγγενή διεγνώσθη αδενωματούδης πολύποδας ή ΟΚΚ, είναι περίπου διπλάσιος σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό [32]. Ο κίνδυνος αυξάνεται περισσότερο εάν σε δύο 1^{ου} βαθμού συγγενείς ανευρέθη ΟΚΚ ή εάν η νόσος διεγνώσθη σε ηλικία μικρότερη των 50-60 ετών. Αναδρομική μελέτη σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την πρώιμη εμφάνιση ΟΚΚ ανέδειξε πως ασθενείς 18-49 ετών με οικογενειακό ιστορικό έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε σύγκριση με αυτούς με ελεύθερο οικογενειακό ιστορικό. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με πρώιμη διάγνωση είναι πιο πιθανό να έχουν θετικό οικογενειακό ιστορικό σε σύγκριση με ασθενείς που η διάγνωση έγινε σε ηλικία μεγαλύτερη των 50 ετών [33]. Ακόμα μια σχετική μελέτη, έδειξε πως το οικογενειακό ιστορικό ΟΚΚ σχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα για εμφάνιση κακοήθειας στο αριστερό κόλον και για τα δύο φύλα ενώ στο δεξιό κόλον για τους άνδρες [34].

Ατομικό ιστορικό ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου

Άτομα που πάσχουν από χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν ΟΚΚ, γεγονός που σχετίζεται με την έκταση και τη διάρκεια της νόσου. Οι ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα διαρκείας άνω των 8 ετών έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΟΚΚ, ιδιαίτερα εφόσον πάσχουν από

πανκολίτιδα. Ο κίνδυνος αυξάνεται με την πάροδο των ετών. Η επίπτωση του ΟΚΚ για ασθενείς με διάρκεια νόσου μεταξύ 10 και 20 ετών ανέρχεται περίπου στο 0.5% ανά έτος και στο 1% για κάθε έτος μετά την εικοσαετία. Οι ασθενείς με ελκώδη πανκολίτιδα διαρκείας 35 ετών έχουν κίνδυνο ανάπτυξης ΟΚΚ περί το 30% [35]. Ο κίνδυνος ΟΚΚ για ασθενείς με αριστερή κολίτιδα είναι μικρότερος αλλά υπαρκτός, ενώ για τους ασθενείς με ορθοπρωκτίτιδα, ο σχετικός κίνδυνος δεν είναι πρακτικά αυξημένος σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Η επιτήρηση με κολονοσκόπηση και η αφαίρεση των ψευδοπολυπόδων σε προκαρκινωματώδη στάδια μειώνουν το κίνδυνο ανάπτυξης νόσου και κολεκτομής σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα. Αναφέρεται πως οι ψευδοπολύποδες είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου, ιδιαίτερα αν έχουν μεγάλο μέγεθος και είναι πολύπλοκοι. Η συνύπαρξη ελκώδους κολίτιδας και σκληρυντικής χολαγγειίτιδας αυξάνει ακόμη περισσότερο το σχετικό κίνδυνο. Η ύπαρξη στενώσεων, θα πρέπει να εγείρει πάντα υποψία κακοήθειας.

Οι ασθενείς με νόσο Crohn παρουσιάζουν χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης ΟΚΚ, που θεωρείται ότι προσεγγίζει εκείνο των ασθενών με ιστορικό μακροχρόνιας νόσησης από ελκώδη κολίτιδα που περιορίζεται στο αριστερό κόλον. Ο ΟΚΚ σε ασθενείς με νόσο Crohn εμφανίζεται σε πιο νεαρή ηλικία σχέση με το γενικό πληθυσμό και μπορεί να εντοπίζεται σε περιοχή στένωσης ή χειρουργικής παράκαμψης του εντέρου. Τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι συνήθως βλεννώδους σύστασης και ο καρκίνος αναπτύσσεται σε θέσεις με βαριά δυσπλασία [36].

Φαίνεται επίσης ότι ορισμένα τουλάχιστον ογκογονίδια εκφράζονται με τρόπο διαφορετικό στους ασθενείς που πάσχουν από φλεγμονώδεις εντεροπάθειες, ο οποίος διαφέρει από την κλασική οδό που ακολουθούν οι καρκίνοι που αναπτύσσονται από αδενωματώδεις πολύποδες. Το γεγονός αυτό σε σχέση με την αυξημένη συχνότητα πολλαπλών καρκίνων στους ασθενείς αυτούς παραπέμπει πιθανώς σε ένα διαφορετικό βιολογικό μηχανισμό που ευθύνεται για την κακοήγη εξαλλαγή του βλεννογόνου του παχέος εντέρου στους ασθενείς αυτούς. Μερικές θεραπείες για φλεγμονώδεις κολίτιδες μπορεί να μειώσουν το κίνδυνο ΟΚΚ και έτσι οι περιπτώσεις που η νόσος είναι σε ύφεση ενέχουν μικρότερο κίνδυνο από ό, τι η χρονίως ενεργή νόσος, που δικαιολογούν μια μείωση στη συχνότητα της επιτήρησης.

Κληρονομικά σύνδρομα

Το 20% των περιπτώσεων ΟΚΚ έχει γενετική βάση, από αυτά, το 5% ανήκει στα κληρονομούμενα καρκινικά σύνδρομα των οποίων η γενετική βάση είναι ξεκάθαρη, ενώ το υπόλοιπο 15% ανήκει σε οικογενείς περιπτώσεις με πιθανή την ύπαρξη κληρονομικότητας, χωρίς ωστόσο να είναι γνωστή η γονιδιακή βάση. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί περισσότερα από 200 κληρονομικά σύνδρομα, τα οποία έχουν ποικίλες φαινοτυπικές εκδηλώσεις σε διάφορα όργανα. Στα περισσότερα από αυτά, οι κληρονομούμενες γαμετικές μεταλλάξεις μεταβιβάζονται με αυτοσωμικό επικρατή χαρακτήρα, ενώ

κρίνεται απαραίτητη η πλήρης απενεργοποίηση του συγκεκριμένου γονιδίου, η οποία επιτυγχάνεται με τη μορφή σωματικής μετάλλαξης στο επίπεδο ιστού. Σε μικρότερο ποσοστό, έχουμε τη μεταβίβαση γαμετικών μεταλλάξεων με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα, όπως στην περίπτωση της πολυποδίασης σχετιζόμενης με το MUTYH.

Ο κληρονομούμενος μη-πολυποδιακός καρκίνος του παχέος εντέρου (Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer-HNPCC), γνωστό ως και σύνδρομο Lynch, και η οικογενής αδενωματώδης πολυποδίαση (Familial Adenomatous Polyposis-FAP), ευθύνονται για το 5% των κληρονομούμενων ΟΚΚ, με την πλειονότητα των συγκεκριμένων περιπτώσεων να συγκαταλέγονται στους ασθενείς με σύνδρομο Lynch. Το σύνδρομο HNPCC ή σύνδρομο Lynch αποτελεί την πιο συχνή μορφή κληρονομούμενου ΟΚΚ και ευθύνεται για το 1%-3% όλων των περιπτώσεων καρκίνου παχέος εντέρου. Χαρακτηρίστηκε για πρώτη φορά από τον ογκολόγο Henry Lynch, κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και προδιαθέτει πλην του καρκίνου του παχέος εντέρου, για διάφορες άλλες μορφές καρκίνου, όπως του ενδομητρίου, του παγκρέατος, της ουροδόχου κύστης, του στομάχου, του λεπτού εντέρου και των ωοθηκών. Η νόσος εντοπίζεται συνήθως στο εγγύς κόλον και στην πλειοψηφία τους οι καρκίνοι αυτοί είναι χαμηλής διαφοροποίησης ενώ η παρουσία σύγχρονων (ταυτόχρονη έναρξη δύο ή περισσότερων όγκων) και μετάχρονων (μη αναστομωτικούς νέους όγκους που αναπτύσσονται τουλάχιστον έξι μήνες μετά την αρχική διάγνωση του πρώτου ΟΚΚ) καρκίνων είναι αρκετά συνήθης [37]. Ο δια βίου κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου στα άτομα με κληρονομικότητα για το σύνδρομο Lynch είναι 80% για ΟΚΚ, 60% για καρκίνο ενδομητρίου και λιγότερο από 20% για τις υπόλοιπες μορφές καρκίνου που σχετίζονται με το σύνδρομο, με μέσο όρο ηλικίας εμφάνισης του καρκίνου τα 45 έτη [38]. Κατά γενικό κανόνα, οι ασθενείς με σύνδρομο Lynch έχουν στους ΟΚΚ τους, μια μετάλλαξη βλαστικής σειράς σε ένα αλληλόμορφο του γονιδίου MMR, και το δεύτερο αλληλόμορφο γονίδιο είναι σωματικώς αδρανοποιημένο με σωματική μετάλλαξη, με LOH ή και με επιγενετική αποσιώπηση με υπερμεθυλίωση του προαγωγέα. Ως αποτέλεσμα, οι ΟΚΚ σε σύνδρομο Lynch έχουν εξασθενημένο MMR, και έτσι είναι πολύ εύκολοι στις μεταλλάξεις και έχουν έντονη MSI.

Υπεύθυνες για τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου Lynch είναι οι μεταλλάξεις σε ένα από τα γονίδια MMR, με πιο συχνά να φέρονται τα γονίδια MLH1 και MSH2, στα οποία εντοπίζονται το 50% και το 39% των μεταλλάξεων που έχουν βρεθεί, αντίστοιχα [39]. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου MSH6 φέρονται να είναι υπεύθυνες για το 7% των περιπτώσεων και χαρακτηρίζονται από ηπιότερο φαινότυπο, υψηλή συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου και ατελή διεισδυτικότητα [40]. Επιβεβαιωμένη είναι και η συμβολή των μεταλλάξεων των γονιδίων PMS1, PMS2, MSH3 και EpCAM αλλά σε πολύ μικρότερο ποσοστό.

Η FAP, αποτελεί το πρώτο σύνδρομο του ΟΚΚ του οποίου διαλευκάνθηκε η γενετική βάση, κυρίως λόγω

του χαρακτηριστικού φαινοτύπου του και συγκεκριμένα την ανάπτυξη εκατοντάδων έως χιλιάδων αδενωματώδων πολυπόδων στο παχύ έντερο, οι οποίοι αναπτύσσονται στη δεύτερη με τρίτη δεκαετία της ζωής. Η συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου στο γενικό πληθυσμό είναι περίπου 1 στους 8.000, ενώ ευθύνεται για το 1% των ΟΚΚ. Δεδομένου του μεγάλου αριθμού πολυπόδων στην περίπτωση μη χειρουργικής αφαίρεση αυτών, η πιθανότητα εξαλλαγής σε καρκίνο είναι 100%. Για την παθογένεση του συνδρόμου ευθύνεται μια γαμετική μετάλλαξη του γονιδίου APC, η οποία κληρονομείται κατά τον αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα. Το γονίδιο APC εδράζεται στο χρωμόσωμα 5q, καλύπτει μια περιοχή 100 χιλιάδων βάσεων, με περισσότερο από 75% της κωδικής αλληλουχίας να περιλαμβάνεται στο εξόνιο 15, καθιστώντας το τον πιο συχνό στόχο τόσο σωματικών όσο και γαμετικών μεταλλάξεων. Η θέση της μετάλλαξης καθορίζει τόσο τη σοβαρότητα της πολυποδίασης όσο και την εκδήλωση εξωεντερικών εκδηλώσεων. Ασθενείς με οικογενή πολυποδίαση μπορεί να αναπτύξουν πλήθος καλοηθών και κακοηθών εξωεντερικών εκδηλώσεων. Ιδιαίτερη σημασία έχουν η ανάπτυξη δεσμοειδών όγκων ινώδους σύστασης στην κοιλιακή χώρα, ηπατοβλαστώματος στα παιδιά, καρκίνου του δωδεκαδακτύλου και της περιοχής του φύματος του Vater. Σπανιότερες μορφές καρκίνου σχετιζόμενες με FAP αποτελούν ο καρκίνος του παγκρέατος, των εξωηπατικών χοληφόρων, του θυρεοειδούς αδένου (θηλώδης και θυλακιώδης τύπος) και του κεντρικού νευρικού συστήματος (μυελοβλάστωμα). Το σύνδρομο χαρακτηρίζεται επίσης από την εμφάνιση μιας σειράς εξωεντερικών εκδηλώσεων, όπως συγγενή υπερτροφία του μελανοφορού επιθηλίου του αμφιβληστροειδούς καθώς και οστεώματα του κρανίου και της γνάθου, μπορεί δε να συνοδεύεται από την ανάπτυξη πολυπόδων και στο ανώτερο πεπτικό σύστημα (στόμαχος, δωδεκαδάκτυλο, νήστιδα και ειλεός).

Μια παραλλαγή της FAP αποτελεί ο υπότυπος AFAP που χαρακτηρίζεται από την ανεύρεση μικρότερου αριθμού πολυπόδων, σε κάθε περίπτωση λιγότερων από εκατό, με έναν μέσο αριθμό 25 πολυπόδων, εντοπισμένους κυρίως στο δεξί κόλον. Στους ασθενείς αυτούς, η διάμεση ηλικία εμφάνισης καρκινικής διήθησης είναι περίπου τα 58 έτη, ενώ το 70% περίπου των περιστατικών θα έχει εμφανίσει καρκίνο παχέος εντέρου έως την ηλικία των 80 ετών. Σε αντίθεση με το σύνδρομο FAP στην προαναφερθείσα παραλλαγή, οι μεταλλάξεις του γονιδίου APC εντοπίζονται μόνο στο 30% των ασθενών. Στους υπόλοιπους που δεν φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο APC, έχει προταθεί ως πιθανός παθογενετικός μηχανισμός, η μετάλλαξη του γονιδίου MYH, κατά τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Έτεροι υπότυποι του συνδρόμου οικογενούς αδενωματώδους πολυποδίασης αποτελούν τα σύνδρομα Gardner και Turcot. Στο πρώτο, οι εξωεντερικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν δεσμοειδείς όγκους, επιδερμοειδείς κύστες, λιπώματα, συγγενή υπερτροφία του μελαγχρωματικού επιθηλίου του αμφιβληστροειδούς, νεοπλάσματα της περιοχής του φύματος του Vater, ίνωση του μεσεντερίου καθώς και οστεώματα. Το σύνδρομο Turcot αποτελεί συνδυασμό ΟΚΚ και πρωτοπαθών κακοηθών όγκων του

κεντρικού νευρικού συτήματος.

Η σχετιζόμενη με το MUTYH πολυποδίαση (MUTYH-associated Polyposis-MAP), είναι ένα σύνδρομο, που μεταβιβάζεται με αυτοσωματικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και οφείλεται σε διαλληλόμορφες βλαστικές μεταλλάξεις στο γονίδιο διόρθωσης εκτομής βάσεων στο ομόλογο mutY (MUTYH). Ο χαρακτηρισμός των σωματικών μεταλλάξεων στο γονίδιο APC, έδειξε ότι στην πλειονότητά τους ήταν G:C>T:A μεταστροφές. Το γεγονός αυτό καταδείκνυε την πιθανότητα κληρονόμησης μιας συγκεκριμένης δυσλειτουργίας στο μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών που προκαλούνται από οξειδωτικό στρες. Συνήθως το σύνδρομο παρουσιάζεται με λιγότερα από 500 αδενώματα στο παχύ έντερο. Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών δείχνουν ότι η βλαστικές μεταλλάξεις στο γονίδιο MUTYH μπορεί να ευθύνονται για ένα σημαντικό μέρος των οικογενών ΟΚΚ που εμφανίζονται χωρίς να προϋπάρχει ένα κυρίαρχο κληρονομικό οικογενές σύνδρομο, και ότι ένας σημαντικός αριθμός των διαλληλόμορφων φορέων μπορεί να σχετίζονται με καρκινικό φαινότυπο χωρίς ωστόσο να συνδέονται με πολυποδίαση. Ο φαινότυπος του συνδρόμου MAP, είναι πανομοιότυπος με αυτόν των ατόμων με AFAP, με τον μέσο όρο ηλικίας εμφάνισης της πολυποδίασης τα 46 έτη, ενώ του ορθοκολικού καρκίνου τα 48 έτη.

Προηγηθείσα ακτινοβολία την περιοχή της κοιλιακής χώρας και της πύελου

Ενήλικες με ιστορικό κακοήθειας και προηγηθείσας ακτινοθεραπείας στην κοιλιακή χώρα κατά την παιδική ηλικία, ή στην ενήλικη ζωή, διατρέχουν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης γαστρεντερικών νεοπλασμάτων, και η πλειονότης αυτών είναι ΟΚΚ. Το μέγεθος του κινδύνου ήταν παρόμοιο με αυτό που παρατηρείται σε ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό αδενωμάτων του παχέος εντέρου. Ακτινοβολία που έχει πραγματοποιηθεί στην πύελο για θεραπεία καρκίνου αυξάνει τον κίνδυνο για ΟΚΚ μετά από πάροδο 5-10 ετών. Επίσης ιστορικό ακτινοθεραπείας για καρκίνο του προστάτη έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του ορθού και μάλιστα με μέγεθος κινδύνου ανάλογο με αυτό των ασθενών με οικογενειακό ιστορικό ΟΚΚ [41].

Ακρομεγαλία

Οι ασθενείς με ακρομεγαλία σχετίζονται με ανάπτυξη πολλαπλών αδενωμάτων πολυπόδων στην περιοχή εγγύς της σπληνικής καμπής, η προκαρκινωματώδης φύση των οποίων πιθανόν να προδιαθέτει σε ανάπτυξη ΟΚΚ. Επιπρόσθετα η αναστολή έκφρασης του γονιδίου PPAR ενέχει χαρακτήρες ογκογένεσης ιδιαίτερα σε ασθενείς με μη ελεγχόμενη νόσο.

Κυστική ίνωση

Οι ασθενείς με κυστική ίνωση διατρέχουν 5-10 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης ΟΚΚ σε σύγκριση με τον υπόλοιπο πληθυσμό, σε πρώιμη ηλικία. Ενδοσκοπικά ευρήματα αναδεικνύουν την ύπαρξη αδενωμάτων στο 50% των ασθενών με κυστική ίνωση έως την ηλικία των 40 ετών [42]. Στους παθογενετικούς μηχανισμούς συγκαταλέγονται, η απορρύθμιση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/ β -κατενίνης και της ομοιοστασίας των εντερικών βλαστοκυττάρων, η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος, η διήθηση ανοσοποιητικών κυττάρων και το οξειδωτικό στρες.

Χειρουργικές επεμβάσεις

Συγκεκριμένες χειρουργικές επεμβάσεις έχουν συσχετισθεί με την ανάπτυξη ΟΚΚ. Σε αυτές συγκαταλέγονται η χολοκυστεκτομή, η σκωληκοειδεκτομή και η ουρητηροσιγμοειδική αναστόμωση. Η χολοκυστεκτομή έχει ενοχοποιηθεί στην εμφάνιση ΟΚΚ, πιθανόν λόγω αύξησης των δευτερογενών χολικών οξέων, αυξημένης εντεροηπατικής κυκλοφορίας αυτών και μείωση στη σύνθεση των πρωτογενών χολικών οξέων από το ήπαρ. Φαίνεται να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του δεξιού κυρίως κόλου μετά την παρέλευση δέκα ετών σε ηλικιωμένες γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε χολοκυστεκτομή [43].

Η σκωληκοειδεκτομή έχει υποστηριχθεί ότι αυξάνει την πιθανότητα ανάπτυξης ΟΚΚ, ενώ έχει αναδειχθεί η ύπαρξη σχέσης μεταξύ γαστρικής χειρουργικής, ειδικά της στελεχιαίας βαγοτομής και του κινδύνου εμφάνισης ΟΚΚ, που αποδίδεται σε ανωμαλίες στο μεταβολισμό των χολικών οξέων ως αποτέλεσμα της βαγοτομής [44].

Σύμφωνα με μελέτες υπάρχει συσχέτιση μεταξύ ουρητηροσιγμοειδοστομίας και ανάπτυξης ΟΚΚ στο σημείο εμφύτευσης των ουρητήρων. Ασθενείς με ουρητηροσιγμοειδική αναστόμωση παρουσιάζουν 100 έως 550 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου από το γενικό πληθυσμό, πολλά χρόνια μετά την επέμβαση [45,46]. Τέλος θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου στο κολόβωμα του ορθού, ασθενών με ελκώδη κολίτιδα που έχουν υποβληθεί σε κολεκτομή και ειλεοορθική αναστόμωση με σχηματισμό νεολυκήθου [47].

Μεταμόσχευση νεφρού

Η μεταμόσχευση νεφρού, σε συνδυασμό με μακροπρόθεσμη ανοσοκαταστολή, έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση ΟΚΚ [48]. Τα ποσοστά του καρκίνου γενικά σε μεταμοσχευμένους ασθενείς είναι παρόμοια με εκείνα των μη-μεταμοσχευθέντων που όμως είναι 20-30 ετών γηραιότεροι [49].

2.3.2 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Κάπνισμα

Το κάπνισμα θεωρείται ως ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου που μπορεί να σχετίζεται επιδημιολογικά με τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του ΟΚΚ. Τόσο για την επίπτωση της νόσου όσο και για την θνησιμότητα, η συσχέτιση είναι ισχυρότερη για τον καρκίνο που εντοπίζεται στο ορθό σε σχέση με το κόλον. Τα αποτελέσματα μιας μετα-ανάλυσης 106 μελετών παρατήρησης ανέδειξαν ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης ΟΚΚ είναι αυξημένος στους καπνιστές σε σύγκριση με τους μη καπνιστές [50]. Παράλληλα, ο κίνδυνος εμφάνισης ΟΚΚ σε μακροχρόνιους καπνιστές είναι 2-3 φορές μεγαλύτερος. Ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ έκθεσης στο κάπνισμα και της εμφάνισης της νόσου σε κλινικό επίπεδο υπολογίζεται σε 2-3 δεκαετίες. Για τη βλάβη ενοχοποιούνται τα καρκινογόνα προϊόντα του καπνού, τα οποία φθάνουν στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου είτε μέσω του πεπτικού σωλήνα, είτε μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας, προκαλώντας καταστροφή ή μετάλλαξη γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο. Τέλος, το κάπνισμα, θεωρείται επιβαρυντικός παράγοντας για την ανάπτυξη μεγάλων αδενωματώδων πολυπόδων με δυσπλαστικά χαρακτηριστικά, υπερπλαστικών αλλά και δυσπλαστικών οδοντωτών πολυπόδων, όπως και για την εμφάνιση ΟΚΚ σε άτομα με σύνδρομο Lynch [51,52].

Αιθανόλη

Η αυξημένη κατανάλωση οινοπνεύματος αποτελεί τροποποιήσιμο παράγοντα κινδύνου και για τα δυο φύλα, για την ανάπτυξη ΟΚΚ και σχετίζεται με επιπλεγμένες θεραπευτικές εκβάσεις και μεγαλύτερη θνησιμότητα σχετιζόμενη με τον καρκίνο. Το αλκοόλ μπορεί να λειτουργεί ως διαλύτης, αυξάνοντας τη διείσδυση άλλων καρκινογόνων μορίων στα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου, αλλά και να αναστέλλει την απορρόφηση του φυλλικού οξέος από αυτά [53]. Μετα-ανάλυση 27 μελετών κούρτης και 34 μελετών ασθενών μαρτύρων κατέληξε πως συγκριτικά με τη μη κατανάλωση αλκοόλ, υπήρχε σημαντική αύξηση στην πιθανότητα εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου σε άτομα με μέτρια (2 με 3 αλκοολούχα ποτά την ημέρα) και μεγάλη (περισσότερα από 4 αλκοολούχα ποτά την ημέρα), αλλά όχι σε άτομα με χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ (λιγότερο από ένα αλκοολούχο ποτό την ημέρα) [54].

Σακχαρώδης διαβήτης και αντίσταση στην ινσουλίνη

Ο σακχαρώδης διαβήτης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ΟΚΚ. Μετα-ανάλυση 14 μελετών (6 ασθενών μαρτύρων και 8 κούρτης), εκτιμά ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του κόλου είναι 38% αυξημένος σε διαβητικούς ασθενείς σε σύγκριση με μη διαβητικούς και 20% αυξημένος για καρκίνο του ορθού αντίστοιχα [55]. Πιθανός μηχανισμός σύνδεσης του σακχαρώδους διαβήτη και του ΟΚΚ θεωρείται η

υπερινσουλιναιμία, καθώς η ινσουλίνη λειτουργεί ως αυξητικός παράγοντας τόσο για τα φυσιολογικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα όσο και για τα καρκινικά κύτταρα του εντέρου. Ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας (IGF-1) και η δεσμευτική πρωτεΐνη-3 του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα (IGFBP-3) αυξάνουν την πιθανότητα εμφάνισης ΟΚΚ σύμφωνα με τα αποτελέσματα σχετικής μελέτης κοόρτης μεταξύ 14,916 ανδρών [56]. Εκτός από την αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση της νόσου, ο σακχαρώδης διαβήτης μπορεί να επηρεάσει την πρόγνωση των ασθενών με ΟΚΚ.

Σωματικό βάρος

Η παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη ΟΚΚ. Οι παχύσαρκοι ασθενείς εμφανίζουν 1,5 φορές αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθειας παχέος εντέρου σε σχέση με αυτούς που έχουν φυσιολογικό βάρος σώματος. Μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση των δεδομένων από 13 μελέτες ανέφεραν ότι η αύξηση του σωματικού βάρους μεταξύ πρώιμης ενήλικης ζωής και μέσης ηλικίας συσχετίστηκε με μια μικρή αλλά σημαντική αύξηση του κινδύνου ΟΚΚ [57]. Η αναλογία κινδύνου για αύξηση του σωματικού βάρους μεταξύ μέσης και τρίτης ηλικίας ήταν χαμηλότερη, αλλά εξακολουθεί να είναι στατιστικά σημαντική. Ο κίνδυνος ήταν υψηλότερος για εκείνους στην ανώτερη κατηγορία σωματικού βάρους. Άλλες επιδημιολογικές μελέτες σε άνδρες έδειξαν μια σαφή σύνδεση μεταξύ παχυσαρκίας (BMI >29kg/m²) και κολικού, αλλά όχι ορθικού καρκίνου, συσχέτιση που είναι περισσότερο έντονη σε εκείνους με μικρή φυσική δραστηριότητα. Το γεγονός αυτό στηρίζεται μερικώς στο φαινόμενο της αντίστασης της ινσουλίνης που παρουσιάζουν οι εν λόγω ασθενείς, αφού η έκθεση των κυττάρων του κόλου σε υψηλές συγκεντρώσεις ινσουλίνης προάγει το φαινόμενο της μιτογένεσης στα κύτταρα αυτά, ενώ η έκθεση σε γλυκόζη και λιπαρά οξέα συνδέεται με μεταβολικές αλλαγές και οξειδωτικό στρες. Η παχυσαρκία φαίνεται επίσης να αυξάνει την πιθανότητα θανάτου από ΟΚΚ.

Φυσική δραστηριότητα

Επιδημιολογικές μελέτες διαπιστώνουν ότι τα υψηλά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας μειώνουν τον κίνδυνο ΟΚΚ μεταξύ ανδρών και γυναικών κατά 50%. Επιπλέον, η φυσική δραστηριότητα αυξάνει την κινητικότητα του εντέρου με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου διέλευσης των κοπράνων επομένως και τη μείωση του χρόνου έκθεσης του εντερικού επιθηλίου σε καρκινογόνα ή μεταλλαξιογόνα. Έχει προταθεί ότι η φυσική δραστηριότητα μειώνει τον κίνδυνο ΟΚΚ μειώνοντας το σωματικό βάρος όπως επίσης διαδραματίζοντας έναν αντιφλεγμονώδη ρόλο, δρώντας είτε άμεσα στο ανοσοποιητικό σύστημα, είτε μέσω των επιδράσεων της στην παχυσαρκία, η οποία φαίνεται να προκαλεί μια χαμηλού βαθμού συστηματική φλεγμονή και να σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων ορού πολυάριθμων δεικτών φλεγμονής. Ο μηχανισμός με τον οποίο η φυσική άσκηση δρα προστατευτικά είναι άγνωστος, πιστεύεται

όμως ότι σχετίζεται με τις προσταγλανδίνες του βλεννογόνου του παχέος εντέρου. Από μελέτες που έγιναν τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες με παχυσαρκία και BMI >29 Kg/m² βρέθηκε σαφής συσχέτιση με την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου και κυρίως καρκίνου του κόλου.

Διατροφή

Το 70-80% των ΟΚΚ οφείλεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, στους οποίους σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν οι διατροφικές συνήθειες. Η βλαπτική επίδραση του περιβάλλοντος δεν είναι αποτέλεσμα επίδρασης μιας μικρής χρονικής περιόδου (μερικών εβδομάδων ή μηνών) αλλά απαιτεί μια συνεχή έκθεση πολλών παραγόντων για μεγάλο χρονικό διάστημα, συνήθως πολλών ετών. Τα καρκινογόνα των τροφών χαρακτηρίζονται ως εξωγενή καρκινογόνα και σε αυτά ανήκουν οι υδραζίνες, τα αλκαλοειδή της πυρολιξιδίνης, η σαφρόλη, η συκαζίνη, πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, νιτροζαμίνες, η τρυπτοφάνη και αρωματικά οξέα. Τα ενδογενή καρκινογόνα σχηματίζονται είτε από το μεταβολισμό των τροφών από τον ανθρώπινο οργανισμό είτε με την επίδραση της εντερικής χλωρίδας και τα κυριότερα από αυτά είναι το δεόξυχολικό, οι στεροειδείς ορμόνες όπως η οιστραδιόλη, η μεθειονίνη και τα αλειφατικά οξέα, τα οποία μετατρέπονται από τα κολοβακτηρίδια σε αιθιονίνη και δευτερογενείς αμίνες και τα νιτρώδη και νιτρικά, τα οποία μετατρέπονται σε νιτροζαμίνες.

Έχουν αναπτυχθεί θεωρίες συσχέτισης του ΟΚΚ με τον όγκο και την επιτάχυνση διόδου των κοπράνων. Η παρουσία φυτικών ινών και κυτταρίνης αυξάνουν τον όγκο, μειώνοντας τη συγκέντρωση του δεόξυχολικού οξέος και των βακτηριδίων, ενώ παράλληλα επιταχύνουν τη διόδο των κοπράνων ελαττώνοντας τη διάρκεια επαφής καρκινογόνων ουσιών με το εντερικό τοίχωμα.

Το ζωικό λίπος προκαλεί αυξημένη παραγωγή χολικών οξέων και χοληστερόλης στο ήπαρ, που μετατρέπονται σε δευτερογενή χολικά οξέα (ιδιαίτερα δεοξυχολικό και λιθοχολικό) και σε τοξικούς μεταβολίτες χοληστερόλης στο έντερο συνέπεια της δράσεως των βακτηρίων της εντερικής χλωρίδας. Η προαγωγή της καρκινογένεσης συνέπεια της αυξημένης κατανάλωσης λίπους με την τροφή οφείλεται στη μεταβολική δράση της μικροβιακής χλωρίδας στο καταναλισκόμενο λίπος. Τα δευτερογενή χολικά οξέα και οι λοιποί τοξικοί μεταβολίτες έχουν κυτταροτοξική δράση στο εντερικό επιθήλιο και προκαλούν αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου, τροποποιώντας τη μεταβολική δράση των βακτηριδίων, τα οποία είναι σε θέση να παράγουν ογκογεννητικά συστατικά. Οι πληθυσμοί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΟΚΚ έχουν υψηλό ποσοστό στα κόπρανα χολικό οξέων και μεταβολιτών της χοληστερόλης (κοπροστανόλη και κοπροστανόνη). Η θετική συσχέτιση μεταξύ ζωικού λίπους και ανάπτυξης ΟΚΚ είναι τόσο ισχυρή, ώστε δεν υπάρχει παράδειγμα χώρας με μεγάλη κατανάλωση λίπους και ζωικών τροφών που να έχει πληθυσμό με χαμηλή συχνότητα ορθοκολικού καρκίνου. Σε πειραματικές μελέτες σε ζώα στα οποία χορηγούταν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπη,

η σύγχρονη χορήγηση αντιβιοτικών, είχε ως αποτέλεσμα τη μειωμένη επίπτωση του ορθοκολικού νεοπλασματος σε σχέση με τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου [58]. Επιδημιολογικά δεδομένα προοπτικών μελετών έδειξαν πως η κατανάλωση κόκκινου ή/και επεξεργασμένου κρέατος αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης ΟΚΚ κατά 20-30%. Τα αποτελέσματα μιας μετα-ανάλυσης σχετικά με την μελέτη των παραγόντων κινδύνου της νόσου έδειξαν ότι η κατανάλωση κόκκινου κρέατος σε ποσότητα που αντιστοιχεί σε 5 μερίδες την εβδομάδα αυξάνει τον κίνδυνο νόσησης κατά 13%, με εντόπιση στο εγγύς κόλον για τους άνδρες και στο ορθό για τις γυναίκες [59]. Σύμφωνα με προοπτική μελέτη που διεξήχθη στο Ηνωμένο Βασίλειο, ημερήσια κατανάλωση 76 γραμμαρίων κόκκινου ή/και επεξεργασμένου κρέατος την ημέρα ενέχουν 20% μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου σε σύγκριση με την κατανάλωση 21 γραμμαρίων την ημέρα [60].

Η επίδραση του περιβάλλοντος, τόσο του τρόπου ζωής όσο και της διατροφής, περιγράφεται σε μελέτες πάνω στους μετανάστες. Οι Ιάπωνες οι οποίοι εγκαταστάθηκαν στις ΗΠΑ, μετά από μια γενεά παρουσίασαν αύξηση της συχνότητας του ΟΚΚ σε σύγκριση με τον πληθυσμό στον τόπο καταγωγής τους. Επίσης, μετανάστες στο Ισραήλ από την Ευρώπη και τις ΗΠΑ, παρουσίασαν μεγάλη συχνότητα ΟΚΚ σε σύγκριση με αυτούς από την Αφρική και την Ασία. Το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι οι παράγοντες διατροφής συνεισφέρουν περισσότερο από ότι οι γενετικοί παράγοντες στην αύξηση της νόσου. Η γενεσιουργός αιτία πιστεύεται ότι είναι συνήθως ένα συστατικό της διαίτας είτε αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης συστατικών της διατροφής και ενδογενούς ουσίας, με καθοριστικό ρόλο να παίζει το εντερικό μικροβίωμα (EM) τους παχέος εντέρου [61].

2.4 ΤΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ

2.4.1 Φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα

Οι όροι gut microbiota και gut microbiome εναλλάσσονται, ωστόσο υφίσταται μεταξύ τους μια σημαντική ειδιοποιός διαφορά. Ο όρος gut microbiota αναφέρεται στους μικροοργανισμούς που διαβιούν στο γαστρεντερικό σύστημα ενός ατόμου και αποτελείται από μέλη των βακτηρίων, των ιών τους (φάγων), των αρχαίων (archaea), των μυκήτων, καθώς και των ευκαριωτικών μικροοργανισμών και επομένως μπορεί να χαρακτηριστεί ως μικροχλωρίδα του εντέρου. Ο όρος gut microbiome αφορά στο σύνολο των προαναφερθέντων στελεχών όπως και των γονιδίων των μικροβίων της εντερικής μικροχλωρίδας του εντέρου [62].

Στον ανθρώπινο οργανισμό, η γαστρεντερική οδός αποικίζεται από περίπου 10^{14} μικροοργανισμούς, οι οποίοι συνιστούν την φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα, με τον απόλυτο αριθμό των μικροοργανισμών να παρουσιάζει σημαντική ετερογένεια κατά μήκος της γαστρεντερικής οδού, από την στοματική κοιλότητα έως το ορθό [63].

Η εντερική μικροχλωρίδα μεταβάλλεται κατά τα διάφορα στάδια της ζωής ενός ατόμου. Η περίοδος κατά την οποία ο οργανισμός του ανθρώπου επηρεάζεται περισσότερο από το μικροβίωμα είναι η μεταγεννητική περίοδος, κατά την οποία το ελεύθερο μικροβίων νεογνό μεταφέρεται από το στείρο περιβάλλον της μήτρας σε έναν κόσμο που βρίθει μικροβίων και κατά την οποία η επιφάνεια του δέρματος και οι βλεννογόνοι του νεογνού σταδιακά αποικίζονται από μικροοργανισμούς. Η άμεση επαφή των νεογέννητων με μικρόβια του γεννητικού σωλήνα κατά το φυσιολογικό τοκετό επηρεάζει την ανάπτυξη του EM, όπως φαίνεται και από την ομοιότητα του μικροβιώματος των νεογνών με εκείνο του κόλπου των μητέρων τους. Μετά τον πρώτο χρόνο της ζωής, το EM των παιδιών αρχίζει να ομοιάζει με εκείνο ενός νεαρού ενήλικα και τότε είναι η περίοδος κατά την οποία το EM ασκεί την μεγαλύτερη επίδραση πάνω στο ανοσοποιητικό σύστημα του παιδιού. Η πλήρης σύνθεση των κυριότερων βακτηριακών πληθυσμών, πάντως, δεν σταθεροποιείται μέχρι τουλάχιστον τα δύομισι πρώτα χρόνια της ζωής [64]. Η σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας στους ηλικιωμένους ανθρώπους (>65 ετών) είναι ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ατόμων και διαφέρει από εκείνη των νεότερων. Παρ'ότι η επιδείνωση της λειτουργίας των οδόντων και των σιελογόνων αδένων, της πέψης και του χρόνου διέλευσης των τροφών στο έντερο, αλλά και η φλεγμονή επηρεάζουν την εντερική μικροχλωρίδα, ίσως ο πλέον σημαντικός αλλά και μεταβαλλόμενος παράγοντας είναι οι διαιτητικές συνήθειες που διαμορφώνουν τη

μικροχλωρίδα, η οποία στη συνέχεια με τη σειρά της επηρεάζει την υγεία των ηλικιωμένων [65]. Η πρώτη διαμόρφωση μιας ετερογενούς και ισορροπημένης εντερικής μικροχλωρίδας αποτελεί προϋπόθεση για την ανάπτυξη και ωρίμανση ενός υγιούς ανοσοποιητικού συστήματος. Περίπου 400–500 διαφορετικά είδη μικροβίων συνιστούν τη χλωρίδα του ΕΜ. Η μαζική παράλληλη αλληλούχηση του γονιδιώματος των μικροβίων του εντέρου έχει αποκαλύψει την πολυπλοκότητα του ΕΜ, με χιλιάδες διαφορετικούς φυλότυπους που ανήκουν κατά μείζονα λόγο στα φύλα των Firmicutes (30-50%), Bacteroidetes (20-40%) και Actinobacteria (1-10%). Μικρότεροι πληθυσμοί ανήκουν στα Proteobacteria, Verrucomicrobiota ή Fusobacteria. Τα υποχρεωτικά αναερόβια βακτήρια όπως Bacteroides, Eubacterium, Bifidobacterium, Fusobacterium, Peptostreptococcus και Atopobium αποτελούν την πλειονότητα της μικροβιακής χλωρίδας του παχέος εντέρου με τα δυνητικά αναερόβια βακτήρια να υπολείπονται αριθμητικά. Η αναλογία των δύο κυρίαρχων φύλων που διαβιούν στην εντερική περιοχή, Firmicutes/Bacteroidetes, πιθανώς συνδέεται με την εμφάνιση πολλαπλών νοσηροτήτων του γαστρεντερικού σωλήνα του ξενιστή, ωστόσο η μεταβλητότητα που έχει παρατηρηθεί και σε περιπτώσεις υγιών ατόμων καθιστά αμφισβητήσιμη τη σημασία της συγκεκριμένης αναλογίας. Υπολογίζεται ότι περίπου 70% των μικροβιακών αυτών κοινοτήτων αποτελείται από βακτήρια που δεν μπορούν να καλλιεργηθούν με τις συνήθεις μικροβιολογικές τεχνικές. Η στοματική κοιλότητα περιέχει υψηλό αριθμό βακτηρίων (10^{12}). Ο στόμαχος φέρει περίπου 10^3 – 10^4 βακτήρια, το δωδεκαδάκτυλο 10^5 – 10^6 και ο τελικός ειλεός 10^8 – 10^9 βακτήρια (ανά γραμμάριο ιστού ή κοπράνων). Ωστόσο, ο μεγαλύτερος αριθμός των βακτηριακών κυττάρων έχει βρεθεί στο παχύ έντερο (10^{12} βακτήρια ανά γραμμάριο εντερικού ιστού). Το μικροβίωμα του παχέος εντέρου είναι πυκνότερο και περισσότερο πολυποίκιλο σε σχέση με το μικροβίωμα του λεπτού εντέρου, αποικίζεται από 10^3 είδη μικροβίων, στην πλειονότητά τους αναερόβια βακτήρια και αντιπροσωπεύει το 70% του συνόλου των μικροοργανισμών του ξενιστή [66]. Οι μικροβιακοί πληθυσμοί που σχετίζονται με τη βλεννογόνια στιβάδα (mucosa-associated flora) διαφέρουν από εκείνους που βρίσκονται στον εντερικό αυλό (luminal flora) [67]. Εκτός από την επιμήκη μικροβιακή διαφοροποίηση, καταγράφεται παράλληλα και μια αξονική διαφορά μικροβιακών πληθυσμών από τον εντερικό αυλό προς την βλεννογόνια εντερική στιβάδα. Ο πληθυσμός αναερόβιων μικροοργανισμών είναι μικρότερος στη βλεννογόνια στιβάδα σε σχέση με τον εντερικό αυλό. Τα γένη Bacteroides, Bifidobacterium, Streptococcus, Enterobacteriaceae, Enterococcus, Clostridium, Lactobacillus και Ruminococcus κυριαρχούν στον εντερικό αυλό και είναι ανιχνεύσιμα στα κόπρανα, ενώ μόνο τα Clostridium, Lactobacillus, Enterococcus και Akkermansia είναι τα κυρίαρχα γένη στη βλεννογόνια στιβάδα και ανιχνεύονται στις επιθηλιακές κρύπτες του λεπτού εντέρου [68]. Η συλλογή και καλλιέργεια μικροβιακών πληθυσμών από την χλωρίδα των κοπράνων είναι μια μη επεμβατική τεχνική, η οποία διευκολύνει την ανάλυση του μικροβιώματος του κόλου. Τα βακτήρια αυτά είναι αντιπροσωπευτικά της

μικρογλωρίδας του αριστερού κόλου και διαφέρουν από εκείνα με δεξιά εντόπιση. Εκτός από τα κυρίαρχα φύλα, στην γαστρεντερική οδό αποικούν και πρωτογενή παθογόνα, όπως για παράδειγμα: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni* και *Bacteroides fragilis*, αλλά σε χαμηλό ποσοστό (0,1% ή λιγότερο ολόκληρου του EM) [69]. Η μείωση του λόγου Firmicutes/Bacteroidetes, του πληθυσμού των Proteobacteria και των παθογόνων βακτηρίων συνδυαστικά με την αύξηση της αναλογίας των βακτηρίων που παράγουν βουτυρικό οξύ (*Bifidobacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii*) και των γενών (*Prevotella*, *Ruminococcus* κ.λπ.) συνιστούν ένα υγιές γαστρεντερικό μικροβίωμα [70].

Το EM το οποίο αποτελείται από ένα τεράστιο αριθμό ειδών και ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ατόμων μπορεί παρά την ποικιλομορφία του να ταξινομηθεί με βάση τη σύνθεση των ειδών που συσσωματώνονται σε καλά ισορροπημένες μικροβιακές συμβιωτικές καταστάσεις (εντερότυποι) του ξενιστή, σταθερές σε σχέση με την γεωγραφική κατανομή κατά τον γαστρεντερικό σωλήνα αλλά ανταποκρινόμενες με διαφορετικό τρόπο στη λήψη φαρμάκων και στη διατροφή. Παράλληλα, αξιοσημείωτο στοιχείο είναι ότι η αφθονία των μοριακών λειτουργιών πιθανότατα να μη σχετίζεται με την αφθονία των ειδών εντός των εντεροτύπων. Οι εντερότυποι που έχουν περιγραφεί σε υγιείς ενήλικες είναι τριών τύπων [70]. Συγκεκριμένα ο εντερότυπος 1 (παρουσιάζει μεγάλη αφθονία σε *Bacteroides*), ο εντερότυπος 2 (παρουσιάζει μεγάλη αφθονία σε *Prevotella*) και ο εντερότυπος 3 (παρουσιάζει μεγάλη αφθονία σε *Ruminococcus*). Τα βακτηρίδια του εντεροτύπου 1 εκδηλώνουν ένα ευρύ σακχαρολυτικό δυναμικό, έχοντας την ικανότητα να παράγουν ενέργεια από διατροφικούς υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, ο εντερότυπος 2 λειτουργεί ως αποικοδομητής των ευρισκόμενων γλυκοπρωτεϊνών στο στρώμα του εντερικού βλεννογόνου και ο εντερότυπος 3 συνδέεται με την αποικοδόμηση της βλεννίνης και με τη μεμβρανική μεταφορά σακχάρων. Τέλος οι εντερότυποι εμφανίζουν σημαντικές μεταβολικές λειτουργίες, με τη σύνθεση της βιοτίνης, ριβοφλαβίνης, παντοθενικού και του ασκορβικού οξέος να παρατηρούνται κυρίως στον εντερότυπο 1 και τη σύνθεση θειαμίνης και φολικού οξέος να κυριαρχούν στον εντερότυπο 2.

2.4.2 Λειτουργίες εντερικού μικροβιώματος

Το ΕΜ διαδραματίζοντας συμβιωτικό ρόλο με τον εντερικό βλεννογόνο αποτελεί ένα όργανο με εκτεταμένη μεταβολική ικανότητα, λειτουργική πλαστικότητα και ανοσοπροστατευτικούς μηχανισμούς.

Μεταβολισμός θρεπτικών ουσιών

Το ΕΜ λαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος των θρεπτικών του ουσιών από τους υδατάνθρακες που προσλαμβάνονται με τη διατροφή. Ένα τμήμα του συνόλου των προσλαμβανόμενων υδατανθράκων διαφεύγει της πέψης στο ανώτερο τμήμα του πεπτικού σωλήνα διότι οι μονοσακχαρίτες συνδέονται με χημικούς δεσμούς που δεν διασπώνται από τα ανθρώπινα πεπτικά ένζυμα. Οι συγκεκριμένοι τύποι υδατανθράκων χαρακτηρίζονται ως ανθεκτικοί, συγκαταλεγόμενων της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης, της ινουλίνης, των ανθεκτικών αμύλων και οδηγούνται στα τμήματα της γαστρεντερικής οδού, όπου είναι διατιθέμενα για μικροβιακή ζύμωση. Εκτός από τους διαιτητικούς υδατάνθρακες, οι υδατάνθρακες που προέρχονται από τις γλυκοπρωτεΐνες της βλέννας του ξενιστή είναι και αυτές διαθέσιμες για μικροβιακή ζύμωση. Από τη ζύμωση των ανθεκτικών υδατανθράκων από μικροοργανισμούς που ανήκουν στα βακτηριακά γένη των *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium* και *Enterobacteria*, τα τελικά προϊόντα που προκύπτουν είναι λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (short chain fatty acids-SCFA) όπως βουτυρικό, προπιονικό και μυρμηγκικό οξύ, τα οποία αποτελούν πηγές ενέργειας για τον ξενιστή [71]. Πιο συγκεκριμένα η παραγωγή βουτυρικού οξέος δρα προστατευτικά έναντι μεταβολικών παραπροϊόντων όπως το D-γαλακτικό οξύ [72]. Τα μέλη του γένους *Bacteroides*, αποτελούν τους βασικούς μικροοργανισμούς της εντερικής μικροχλωρίδας στον μεταβολισμό των υδατανθράκων εκφράζοντας ένα μεγάλο αριθμό ενζύμων όπως γλυκοζυλο-τρανσφεράσες, γλυκοσιδικές υδρολάσες και πολυσακχαριδικές λυάσες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το βακτήριο *Bacteroides thetaiotaomicron*, το γονιδίωμα του οποίου κωδικοποιεί 260 υδρολάσες, αριθμός πολύ μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο που κωδικοποιείται από το ανθρώπινο γονιδίωμα.

Οι πρωτεΐνες που μαζί με τους υδατάνθρακες συνιστούν ένα ιδιαίτερα βασικό μέρος της διατροφής του ατόμου, πέπτονται σε μεγάλο βαθμό από τα πεπτικά ένζυμα του ξενιστή. Πέραν από τις διαιτητικές πρωτεΐνες, το παγκρεατικό υγρό, η βλέννη και τα νεκρά επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού συστήματος διαθέτουν πρωτεϊνικές ποσότητες (προερχόμενες από τον ξενιστή), όπου διατίθενται για μικροβιακή ζύμωση. Το μικροβίωμα του εντέρου είναι εμπλουτισμένο με έναν αποτελεσματικό μηχανισμό μεταβολισμού πρωτεϊνών, που λειτουργεί διαμέσου των μικροβιακών πρωτεϊνών και πεπτιδασών συνδυαστικά με τις ανθρώπινες πρωτεϊνάσες. Πολλοί μεταφορείς των αμινοξέων στο

κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων συντελούν στην μεταφορά των αμινοξέων από τον εντερικό αυλό στα βακτήρια, όπου πολλά γονιδιακά προϊόντα μετατρέπουν τα αμινοξέα σε μικρά μόρια σηματοδότησης και αντιμικροβιακά πεπτίδια (βακτηριοσίνες). Ακόμη μια σημαντική λειτουργία του EM που πρέπει να τονιστεί είναι η σύνθεση των βιταμινών του συμπλέγματος Β και Κ. Τα μέλη επίσης του γένους *Bacteroides* επιτελούν τη σύνθεση συζευγμένου λινολεϊκού οξέος.

Το EM συμμετέχει αποτελεσματικά και στο μεταβολισμό των λιπιδίων. Πιο συγκεκριμένα λειτουργεί καταστέλλοντας την αναστολή της δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στα λιποκύτταρα. Ακόμη, το βακτήριο *Bacteroides thetaiotaomicron* διεγείρει την υδρόλυση των λιπιδίων στα λιποκύτταρα, το οποίο επιτυγχάνεται λόγω της ρύθμισης της έκφρασης ενός συνενζύμου το οποίο είναι απαιτούμενο από την παγκρεατική λιπάση με σκοπό την ολοκλήρωση της πέψης των λιπιδίων [73].

Μια σημαντική μεταβολική λειτουργία του EM είναι η μετατροπή των πρωτογενών χολικών οξέων σε δευτερεύοντα χολικά οξέα, δεσοξυχολικά και λιθοκολικά οξέα στο παχύ έντερο κυρίως από το *Bacteroidetes intestinalis* και σε μικρότερο βαθμό το *Bacteroidetes fragilis* και το *Escherichia coli* [74]. Επιπρόσθετα το EM αυξάνει τις συγκεντρώσεις οξέων στο πλάσμα και συγκεκριμένα του πυροσταφυλικού, κιτρικού, μηλικού και φουμαρικού οξέος, γεγονός που δεικνύει αυξανόμενο ενεργειακό μεταβολισμό [75]. Πέραν της συμμετοχής του μικροβιώματος του εντέρου στη μετατροπή των χολικών οξέων σε παράγωγα χολικών οξέων, αποδεικνύεται επίσης η εμπλοκή του στη διάσπαση φαινολικών ενώσεων και γενικότερα πολυφαινολών που καταναλώνονται στη διατροφή. Οι πολυφαινόλες υπάρχουν ως γλυκοσυλιωμένα παράγωγα τα οποία είναι συνδεδεμένα με σάκχαρα και εκείνες οι οποίες είναι ανενεργές στη διατροφή υφίστανται βιομετατροπή σε ενώσεις δραστηρικής μορφής, κατόπιν αφαίρεσης του μισού τμήματος σακχάρου από μικροοργανισμούς του EM.

Μεταβολισμός φαρμάκων και ξενοβιοτικών

Η εντερική μικροχλωρίδα αποτελεί το μεταβολικό υπόστρωμα των ξενοβιοτικών. Το EM μπορεί να τροποποιήσει την μεταβολική έκβαση (απορρόφηση, κατανομή, βιομετατροπή και απέκκριση) διαφόρων ξενοβιοτικών ουσιών όπως φαρμακευτικές ουσίες, περιβαλλοντικές τοξίνες και βαρέα μέταλλα, επηρεάζοντας εν γένει την φαρμακοκινητική τους. Η άμεση χημική τροποποίηση των ξενοβιοτικών από το EM, είτε μέσω της γαστρεντερικής οδού, είτε μέσω της εντεροηπατικής κυκλοφορίας, οδηγεί σε αυξημένο μεταβολισμό ή βιοενεργοποίηση. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η αποσύζευξη του αντινεοπλασματικού παράγοντα ιρινοτεκάνη, από τη μικροβιακή β-γλυκουρονιδάση, που μπορεί να οδηγήσει σε παρενέργειες για τον ασθενή όπως, διάρροια, φλεγμονή και ανορεξία [76].

Αντιμικροβιακή προστασία

Οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί της εντερικής χλωρίδας παράγουν ουσίες με αντιμικροβιακή δράση (βακτηριοσίνες, υπεροξειδίο του υδρογόνου) οι οποίες αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων παθογόνων βακτηρίων. Επιπλέον η εντερική μικροχλωρίδα ασκεί με ανταγωνιστικό τρόπο τον προστατευτικό της ρόλο, διασπώντας ,απαραίτητες για την επιβίωση των παθογόνων μικροοργανισμών, θρεπτικές ουσίες και παράγοντας μόρια με ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη τους. Ένας μηχανισμός αντιμικροβιακής προστασίας είναι η ύπαρξη δίστιβου βλεννώδους στρώματος με σύνθεση πληθώρας γλυκοπρωτεϊνών βλεννίνης και πάχους 150 μm, το οποίο αποτρέπει την επαφή των επιθηλιακών κυττάρων κυρίως του παχέος εντέρου με τους μικροοργανισμούς του εντερικού αυλού. Παράλληλα το EM και ειδικότερα τα βακτήρια *Bacteroides thetaiotaomicron* και *Lactobacillus innocua* επάγει τη σύνθεση αντιμικροβιακών πρωτεϊνών (antimicrobial proteins-AMP), όπως καθελιδίνες, λεκτίνες τύπου C και προ-ντεφενσίνες από τα κύτταρα Paneth του ξενιστή μέσω ενός μηχανισμού που εμπλέκει υποδοχείς αναγνώρισης μοριακών μοτίβων (pattern recognition receptor-PRR), οι οποίες αλληλεπιδρούν τόσο με τους συμβιωτικούς μικροοργανισμούς όσο και με τους παθογόνους [77]. Οι PRR ενεργοποιούνται με τη σειρά τους από μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με μικρόβια (microbe-associated molecular patterns-MAMPs). Η αλληλεπίδραση PRR-MAMP έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση πληθώρας σηματοδοτικών μονοπατιών απαραίτητων για την λειτουργική ακεραιότητα του βλεννώδους εντερικού φραγμού και παραγωγής αντιμικροβιακών πρωτεϊνών, βλεννίνης και γλυκοπρωτεϊνών. Ένας άλλος μηχανισμός αντιμικροβιακής προστασίας είναι η τοπική παραγωγή ανοσοσφαιρινών κυρίως από Gram-αρνητικά βακτήρια όπως το *Bacteroides*, μέσω της ενεργοποίησης δενδριτικών κυττάρων τα οποία με τη σειρά τους επάγουν την παραγωγή IgA από τα πλασματοκύτταρα.

Ανοσορρύθμιση

Η ανάγκη ενός υγιούς μικροβιώματος για διατήρηση της ομοιόστασης, θέτει το ανοσοποιητικό σύστημα του εντερικού βλεννογόνου σε μια δυναμική ισορροπία ανοχής σε αντιγόνα εξωγενούς προέλευσης και των μικροοργανισμών της συμβιωτικής μικροχλωρίδας και παρεμπόδισης ανάπτυξης δυνητικά παθογόνων μικροβιακών πληθυσμών. Η ισορροπία ανάμεσα στην ανοσολογική ανοχή και τη φλεγμονή ρυθμίζεται με την αλληλεπίδραση μεταξύ επίκτητης ανοσίας, φυσικής ανοσίας και EM. Η διαταραχή της αλληλεπίδρασης EM-ξενιστή αναφέρεται ως δυσβίωση και τροποποιεί δυσμενώς την εντερική ομοιόσταση. Τα στοιχεία του ανοσοποιητικού συστήματος που συνεισφέρουν στους ανοσοτροποποιητικούς μηχανισμούς είναι ο σχετιζόμενος με το έντερο λεμφικός ιστός (GALT), ρυθμιστικά και εκτελεστικά T λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα που παράγουν IgA ανοσοσφαιρίνη,

εγγενή λεμφοειδή κύτταρα τύπου 3 (Group 3 innate lymphoid cells-ILC3), μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα. Πειραματικά δεδομένα αναδεικνύουν το ρόλο του EM στην φυσιολογική ανάπτυξη του περιφερικού ανοσοποιητικού συστήματος σε ανοσοεπαρκείς ξενιστές. Σε μελέτες που συνέκριναν επίμυες με φυσιολογική εντερική χλωρίδα σε σχέση με επίμυες που είχαν στειρό μικροβίων εντερικό περιεχόμενο, έχει βρεθεί ότι οι σπλήνες των επίμυων με στειρό μικροβίων έντερο περιέχουν λιγότερα και μικρότερα βλαστικά κέντρα στους λεμφαδένες και μειωμένο αριθμό CD4+ T κυττάρων μνήμης στο εντερικό επιθήλιο, η παραγωγή κυτταροκινών ανήκει σε ανοσιακή απόκριση τύπου Th2 και ότι τα ζώα αυτά έχουν ελαττωμένη ικανότητα έκκρισης μικροβιοκτόνων παραγόντων. Ο επαναποικισμός των επίμυων αυτών με ειδικά για τους επίμυες βακτήρια μπορεί να αντιστρέψει ορισμένες από τις εν λόγω διαταραχές, όπως δείχνει πειραματικά η αποκατάσταση της συστημικής ανεπάρκειας των T λεμφοκυττάρων, καθώς και της ανισοροπίας του λόγου Th1/Th2 των επίμυων μετά από το μονήρη αποικισμό του εντέρου τους με το βακτήριο *Bacteroides fragilis* [78].

Προστατευτικός φραγμός εντερικού επιθηλίου

Το EM διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη δομική και λειτουργική σταθερότητα της γαστρεντερικής οδού. Το βακτήριο *Bacteroides thetaiotaomicron* επάγει την έκφραση της μικρής πλούσιας σε προλίνη πρωτεΐνης 2A (Small proline-rich protein 2A-sprg2A), η οποία απαιτείται για τη συγκράτηση των δεσμοσωμάτων στις επιθηλιακές λάχνες [79]. Επιπρόσθετα, το βακτήριο *Lactobacillus rhamnosus*, παράγει τις πρωτεΐνες p40 και p75, οι οποίες αποτρέπουν την επαγόμενη από κυτοκίνες απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου [80]. Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα είναι άλλος ένας ρυθμιστικός διάλυλος της σταθερότητας του εντερικού φραγμού. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το βακτηριακό στέλεχος *Akkermansia muciniphilia*, το οποίο αυξάνει τα επίπεδα των ενδοκανναβινοειδών, που με τη σειρά τους ελέγχουν την δομική σταθερότητα του εντερικού φραγμού μειώνοντας την μεταβολική ενδοτοξαιμία [81]. Το EM συνεισφέρει στη δομική ανάπτυξη του εντερικού βλεννογόνου επάγοντας τον μεταγραφικό παράγοντα αγγειογενίνη-3, ο οποίος εμπλέκεται στην ανάπτυξη της εντερικής μικροκυκλοφορίας [82].

2.5 ΣΥΧΕΤΙΣΗ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Η συμβιωτική σχέση μεταξύ της εντερικής μικροχλωρίδας και των δομών της γαστρεντερικής οδού, αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη διατήρηση της εντερικής ομοιόστασης. Οι διαφοροποιήσεις του ΕΜ λόγω ποσοτικών και ποιοτικών διαταραχών της σύστασης της εντερικής μικροχλωρίδας εξαιτίας δυσβιωτικών φαινομένων, ή φλεγμονής και λόγω διαταραχής στους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης του ξενιστή με τους διάφορους μικροοργανισμούς, φαίνεται να διαταράσσουν τη συμβιωτική αυτή σχέση προάγοντας την παθογένεση του ΟΚΚ.

2.5.1 Σύσταση εντερικής μικροχλωρίδας και ορθοκολικός καρκίνος

Η πρώτη αναφορά για την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ της εντερικής μικροχλωρίδας και του ΟΚΚ έγινε το 1975 [83]. Στη συνέχεια, δεδομένα πλήθους μελετών, ανέδειξαν την σύνδεση συγκεκριμένων βακτηριακών στελεχών με τον ΟΚΚ. Σχετική μελέτη που δημοσιεύθηκε το 1995 συνδέει συγκεκριμένους βακτηριακούς πληθυσμούς -δύο είδη από το γένος *Bacteroides* (*Bacteroides vulgatus* και *Bacteroides stercoris*), δύο είδη από το γένος *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium longum* και *Bifidobacterium angulatum*), πέντε είδη από το γένος *Eubacterium* (*Eubacterium rectale* 1 και 2, *Eubacterium eligens* 1 και 2, *Eubacterium cylindroides*), τρία είδη από το γένος *Ruminococcus* (*Ruminococcus torques*, *Ruminococcus albus* και *Ruminococcus gnavus*) και τα βακτήρια *Streptococcus hansenii*, *Fusobacterium prausnitzii* and *Peptostreptococcus productus* 1, ως μεμονωμένες νοσολογικές οντότητες- με αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης ΟΚΚ [84]. Οι συγγραφείς ανέφεραν επίσης τέσσερα βακτηριακά είδη (στελέχη του γένους *Eubacterium*, *Lactobacillus* S06, *Peptostreptococcus* DZ2 and *Fusobacterium* AB) τα οποία σχετίζονται με μικρότερη πιθανότητα ανάπτυξης ΟΚΚ [84]. Επιπρόσθετα οι βακτηριακοί πληθυσμοί που αποικίζουν τον εντερικό βλεννογόνο, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών με ΟΚΚ και υγιών ατόμων. Συγκεκριμένα τα βακτηριακά γένη *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus*, *Gemella*, *Mogibacterium* και *Klebsiella* παρουσιάζουν ποσοτική αύξηση του πληθυσμού τους, ενώ τα βακτηριακά γένη *Feacalibacterium*, *Blautia*, *Lachnospira*, *Bifidobacterium* και *Anaerostipes* παρουσιάζουν ποσοτική μείωση του πληθυσμού τους στο συνολικό ΟΚΚ ασθενώς με ΟΚΚ. Παράλληλα, σε ιστολογικό επίπεδο, το ΕΜ ασθενών με ΟΚΚ παρουσιάζει ελαττωμένη ποικιλομορφία σε σχέση με

αυτό των υγιών ατόμων [85]. Το βακτηριακό φύλο Firmicutes, κυριαρχεί πληθυσμιακά σε ασθενείς με ΟΚΚ σε αντίθεση με το βακτηριακό φύλο Proteobacteria που υπερτερεί ποσοτικά στο φυσιολογικό ΕΜ. Συμπληρωματικά, μεγαλύτερη αφθονία των βακτηριακών γενών Lactococcus και Fusobacterium και μικρότερη αφθονία των βακτηριακών γενών Pseudomonas και Escherichia-Shigella παρατηρήθηκε σε ιστολογικά δείγματα καρκινικών ιστών σε σχέση με παρακείμενους υγιείς ιστούς [86]. Σε δείγματα κοπράνων από ασθενείς με ΟΚΚ παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση σε στελέχη των βακτηριακών γενών Bacteroides και Prevotella σε σχέση με υγιή άτομα [87]. Από ιστολογικές μελέτες σε ασθενείς με ΟΚΚ πρώιμου σταδίου, βρέθηκε αύξηση σε υγιή εντερικά δείγματα των ασθενών, βακτηρίων των γενών Proteobacteria και Fusobacteria και μείωση σε αυτά του γένους Bacteroides [88]. Σε επίπεδο βακτηριακών στελεχών, παρατηρήθηκε αύξηση στα βακτήρια Bacteroides fragilis, Escherichia coli, Streptococcus bovis/galloyticus, Enterococcus faecalis και Fusobacterium nucleatum και μείωση των βακτηρίων Bacteroides vulgatus και Faecalibacterium prausnitzii σε δείγματα κοπράνων από ασθενείς με ΟΚΚ σε σύγκριση με αντίστοιχα δείγματα υγιών ατόμων [89]. Σε τελικού σταδίου ΟΚΚ, εντοπίστηκε αύξηση του βακτηριακού πληθυσμού στελεχών του γένους Fusobacterium σε καρκινικούς ιστούς σε σχέση με υγιείς παρακείμενους σε αυτούς ιστούς [90]. Οι τροποποιήσεις στη σύνθεση του ΕΜ έχουν διαπιστωθεί και από μελέτες πειραματικών προτύπων καρκινογένεσης. Σε πειραματικό μοντέλο ΟΚΚ επαγόμενο από κολίτιδα, AOM-DSS (Azoxymethane/Dextran sodium sulfate) επίμυος βρέθηκε τροποποίηση της σύστασης του ΕΜ στα κόπρανα με χαρακτηριστική μείωση της ποικιλομορφίας, ποσοτική αύξηση των στελεχών του γένους Bacteroides και μείωση των στελεχών του γένους Prevotella, έπειτα από τον πρώτο θεραπευτικό κύκλο με DSS [91]. Στη συνέχεια, έπειτα από τον τρίτο θεραπευτικό κύκλο με DSS, διαπιστώθηκε μείωση των στελεχών του γένους Bacteroides και Porphyromonadaceae, εύρημα που σημειώνει τον πιθανό προστατευτικό ρόλο τους ως αντιφλεγμονώδεις μεσολαβητές. Ο επαναποικισμός επίμυων με εντερικό περιεχόμενο στείρο μικροβίων (germ-free mice) με την εντερική μικροχλωρίδα από AOM-DSS θεραπευόμενους επίμυες επέφερε αύξηση της καρκινογένεσης και μείωση της μικροβιακής ποικιλομορφίας, σε σύγκριση με εκείνους που επαναποικίστηκαν με φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα [91]. Σε πειραματικό μοντέλο καρκινογένεσης επαγόμενης από τον παράγοντα με καρκινογενή δράση 1,2-διμεθυλδραζίνη, βρέθηκε αύξηση σε στελέχη των ειδών Bacteroides and Proteobacteria και μείωση βακτηριακών στελεχών που παράγουν βουτυρικό οξύ, όπως Roseburia και Eubacterium, στον εντερικό αυλό επίμυων με ΟΚΚ συγκριτικά με τους φυσιολογικούς επίμυες [92]. Σε πρόσφατη πειραματική μελέτη, βρέθηκε πως σε επίμυες APC^{Min/+}/i110^{-/-} που στερούνταν εντερικό μικροβιακό περιεχόμενο, δεν υπήρξε καρκινογένεση, σε αντίθεση με εκείνους που είχαν τροποποιηθεί με επαναποικισμό, αναδεικνύοντας κατ' αυτό τον τρόπο, τον κυρίαρχο ρόλο του ΕΜ στον επαγόμενο από φλεγμονή ΟΚΚ [93].

2.5.2 Μικροβιακές διαφορές μεταξύ δεξιού και αριστερού παχέος εντέρου

Η κατανόηση της κατανομής και των διαφορών της μικροβιακής χλωρίδας κατά μήκος του παχέος εντέρου σε υγιή άτομα κρίνεται απαραίτητη για την μελέτη του εντερικού μικροπεριβάλλοντος σε ασθενείς με ΟΚΚ. Η διαφορετική συγκέντρωση του οξυγόνου κατά μήκος του εντερικού σωλήνα θεωρείται αιτιολογικός παράγοντας για τους διαφορετικούς χαρακτήρες της μικροβιακής χλωρίδας στα διάφορα τμήματα του παχέος εντέρου. Το δεξί κόλον αποικίζεται από αερόβιους μικροοργανισμούς όπως στελέχη του γένους *Pseudomonas* και δυνητικά αναερόβιους μικροοργανισμούς όπως στελέχη των γενών *Enterobacteraceae* και *Actinomyces*, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων οξυγόνου. Αντίθετα το αριστερό κόλον αποικίζεται από αναερόβια είδη όπως στελέχη των γενών *Fingoldia*, *Anaerococcus*, *Peptoniphilus* και *Porphyromonas*. Αξιολόγηση της μικροβιακής σύστασης σε νεοπλάσματα δεξιού και αριστερού παχέος εντέρου αναδεικνύει την αύξηση της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών από το εγγύς προς το περιφερικό κόλον. Βακτηριακά γένη όπως το *Fusobacterium* και το *Lactococcus* αποικίζουν νεοπλασματικούς ιστούς που εντοπίζονται σε όλο το μήκος του παχέος εντέρου. Τα βακτηριακά στελέχη των γενών *Escherichia*, *Shigella* και *Prevotella* εντοπίζονται συχνά στο δεξί κόλον σε αντίθεση με στελέχη των γενών *Prevotella* και μέλη των οικογενειών *Enterococcaceae*, *Erysipelotrichaceae* και *Fusobacteroidaceae* που εντοπίζονται σε περιφερικούς ΟΚΚ. Παράλληλα μέλη των βακτηριακών οικογενειών *Streptococcaceae*, *Verruimicrobiaceae* και *Pseudomonaceae* βρίσκονται σε υψηλή πληθυσμιακή συγκέντρωση σε καρκινικού ιστούς που προέρχονται από το εγγύς παχύ έντερο, ενώ αντίθετα περιφερικά και ορθικά νεοπλάσματα χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη μικροβιακή ετερογένεια και αφθονία σε βακτηριακά στελέχη των γενών *Alistipes*, *Akkermansia*, *Halomonas* και *Shewanella*. Τέλος, βακτηριακά γένη *Blautia*, *Faecalibacterium* και *Clostridium*, συσχετίζονται με καρκίνους που εντοπίζονται στο δεξιό τμήμα του παχέος εντέρου. Όλα τα προαναφερθέντα δεδομένα αναδεικνύουν σημαντικές διαφορές στη σύσταση της μικροβιακής χλωρίδας εξαρτώμενες από την ανατομική εντόπιση του ορθοκολικού νεοπλάσματος.

CRC site	Abundant microbes
Proximal colon	<i>Prevotella</i>
	<i>Enterobacteriaceae (Escherichia, Shigella)</i>
	<i>Streptococcaceae (Lactococcus)</i>
	<i>Verrucomicrobiaceae</i>
	<i>Pseudomonaceae</i>
	<i>Blautia</i>
	<i>Faecalibacterium</i>
	<i>Clostridium</i>
Distal colon	<i>Bacteroidetes</i>
	<i>Enterococcaceae</i>
	<i>Erysipelotrichaceae</i>
	<i>Fusobacteroidaceae (Fusobacterium)</i>
	<i>Alistipes</i>
	<i>Akkermansia</i>
	<i>Halomonas</i>
	<i>Shewanella</i>

Πίνακας 1. Σύσταση εντερικού μικροβιώματος αναλογα με την εντόπιση του ορθοκολικού νεοπλασματος

(Ανατύπωση από: Koliarakis I, Psaroulaki A, Nikolouzakis TK, et al. Intestinal microbiota and colorectal cancer: a new aspect of research. *J BUON*.)

2.5.3 Υποθετικά μοντέλα συσχέτισης εντερικού μικροβιώματος και ορθοκολικής καρκινογένεσης

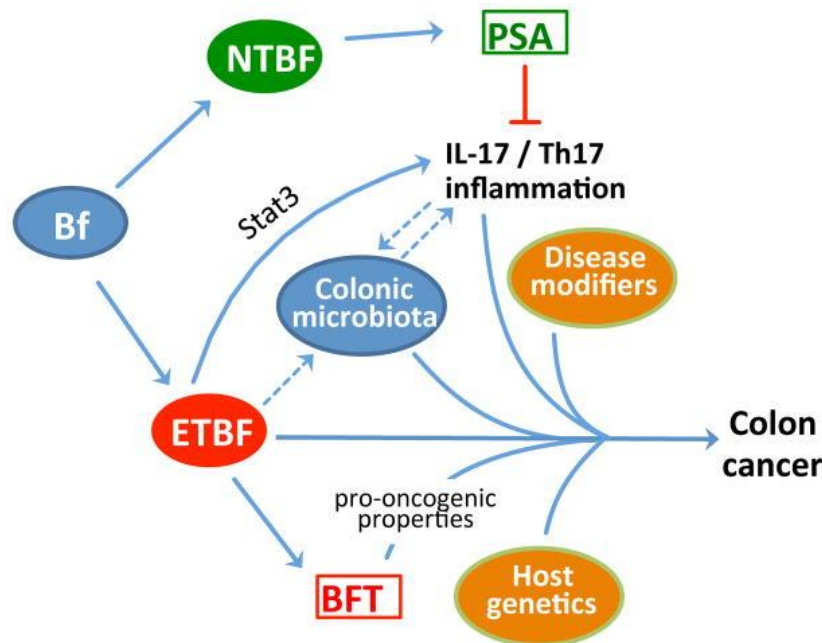
Η υπόθεση “Alpha-Bug”

Σύμφωνα με το υποθετικό αυτό μοντέλο, συγκεκριμένα διακριτά προ-ογκογενετικά βακτηριακά στελέχη, που βρίσκονται συχνά σε χαμηλή αφθονία, ενισχύουν τη δυσβιωτική σχέση μεταξύ EM και του ξενιστή.

Η θεωρητική βάση της προαναφερθείσας υπόθεσης τονίζει τους παθολογικούς μηχανισμούς που συνεισφέρουν στην ανισορροπία της εντερικής μικροχλωρίδας. Τα διακριτά βακτηριακά στελέχη “Alpha-bugs” επάγουν την εντερική ογκογένεση μέσω τροποποιήσεων των επιθηλιακών εντεροκυττάρων και του οικοσυστήματος της εντερικής μικροχλωρίδας ενεργοποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα που σχετίζεται με τον εντερικό βλεννογόνο. Ταυτόχρονα οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί συσχετίζονται με την ορθοκολική καρκινογένεση εκτοπίζοντας τα προστατευτικά για το έντερο βακτηριακά στελέχη. Σε αυτούς συγκαταλέγονται τα εξής βακτηριακά στελέχη: Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF), *S. bovis*, superoxide-producing *E. Faecalis*, *F. nucleatum* και *E. Coli*.

Οι Sears και Pardoll πρότειναν το υποθετικό μοντέλο “Alpha-bug”, βασισμένοι σε προηγούμενη πειραματική μελέτη ορθοκολικής καρκινογένεσης από το βακτηριακό στέλεχος Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) σε *Apc^{Min/+}* επίμυες [94]. Παρ’όλο που το συγκεκριμένο βακτήριο θεωρείται συμβιωτικό της εντερικής μικροχλωρίδας, λειτουργεί και σαν ευκαιριακά αναερόβιο παθογόνο καθώς απομονώνεται σε κλινικά δείγματα σε ποσοστό >80% των λοιμώξεων που προκαλούνται από είδη του γένους *Bacteroides*, σε αντίθεση με το γεγονός ότι αντιπροσωπεύει το 0.3% όλων των στελεχών του συγκεκριμένου γένους [95]. Η ικανότητα του στελέχους ETBF να επάγει εξαρτώμενες από βοηθητικά Th17 λεμφοκύτταρα φλεγμονώδεις ανοσοαποκρίσεις θεωρείται καθοριστικής σημασίας για την παθογένεση της νόσου σε πειραματικά μοντελα *Min* (Multiple Intestinal Neoplasia, *Min*) επίμυων, καθώς η αναστολή της ιντερλευκίνης 17 (IL-17) ή η μείωση των CD4⁺ T λεμφοκυττάρων αναστέλλει την ETBF-επαγόμενη κολίτιδα, την υπερπλασία του εντερικού επιθηλίου του κόλου και την εντερική ογκογένεση. Στο παχύ έντερο των *Min* επίμυων, το στέλεχος ETBF ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μόριο STAT3 (Signal Transducer And Activator Of Transcription 3) το οποίο είναι απαραίτητο για την διαφοροποίηση των βοηθητικών Th17 λεμφοκυττάρων και κατ’έκταση μεταβάλλει το δυναμικό της εντερικής ογκογένεσης, τροποποιώντας το σύμπλεγμα εντερικού ενδοαυλικού μικροπεριβάλλοντος-EM. Οι φλεγμονώδεις αυτές διεργασίες καταστέλλουν εκλεκτικά την ανάπτυξη ογκο-προστατευτικών βακτηριακών στελεχών της εντερικής μικροχλωρίδας. Αντίθετα το βακτηριακό στέλεχος nontoxigenic *B. fragilis* (NTBF) θεωρείται μη νοσογόνο καθώς δεν ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μόριο STAT3, ούτε επάγει Th17 ανοσοαποκρίσεις. Οι λειτουργικές αυτές διαφορές μεταξύ των δύο βακτηριακών στελεχών ETBF και NTBF, αναδεικνύουν τον προ-ογκογενετικό και προ-φλεγμονώδη ρόλο που διαδραματίζει η τοξίνη fragilysin (*Bacteroides Fragilis Toxin*, BFT) στην ορθοκολική καρκινογένεση. Η τοξίνη ενεργοποιεί τη διάσπαση της E-καδχερίνης και διακόπτει την ενδοκυττάρια προσκόλληση και έτσι διαταράσσει τον επιθηλιακό εντερικό φραγμό. Παράλληλα, ενεργοποιείται το σηματοδοτικό μονοπάτι β-κατενίνης το οποίο οδηγεί σε έκφραση της πρωτεΐνης c-Myc και συνεχή πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων HT29/C1 του κόλου. [96]. Επιπρόσθετα το βακτήριο *Escherichia coli* προωθεί την

ορθοκολική ογκογένεση, τόσο in vitro όσο και in vivo, μέσω της παραγωγής κολιμπακτίνης αλλά και άλλων ουσιών με νεοπλασματική δράση [97]. Επίσης ο υπότυπος που σχετίζεται με παθολογικά γονιδιωματικά νησίδια pks+ του βακτηριακού στελέχους E. Coli, φαίνεται να σχετίζεται με την ανάπτυξη του ορθοκολικού καρκίνου ανεξάρτητα υπάρχουσας φλεγμονής σε πειραματικό μοντέλο ογκογένεσης AOM/IL-10^{-/-} (Azoxy methane/Interleukin).



Εικόνα 4. Υπόθεση “alpha-bug” και ορθοκολική καρκινογένεση

Τα στελέχη NTBF αποτελούν συμβιωτικά στοιχεία της εντερικής μικροχλωρίδας εκφράζοντας τον πολυσακχαρίτη A (Polysaccharide A, PSA), μόριο το οποίο αναστέλλει τις IL-17 και Th17 επαγόμενες ανοσοαποκρίσεις. Αντίθετα τα στελέχη ETBF ενεργοποιούν το σηματοδοτικό μόριο STAT3 οδηγώντας σε IL-17 και Th17 φλεγμονώδη απόκριση, στοιχείο απαραίτητο για την υπερπλασία των εντεροκυττάρων του κόλου και την επαγόμενη καρκινογένεση σε πειραματικά μοντέλα Min επίμυων. Η προ-ογκογενετική τοξίνη BFT δρα σε συνδυασμό με το EM για την ανάπτυξη του ΟΚΚ.

(Ανατύπωση από: Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. Nature reviews. Microbiology. 2012 Oct;10(10):717-725.)

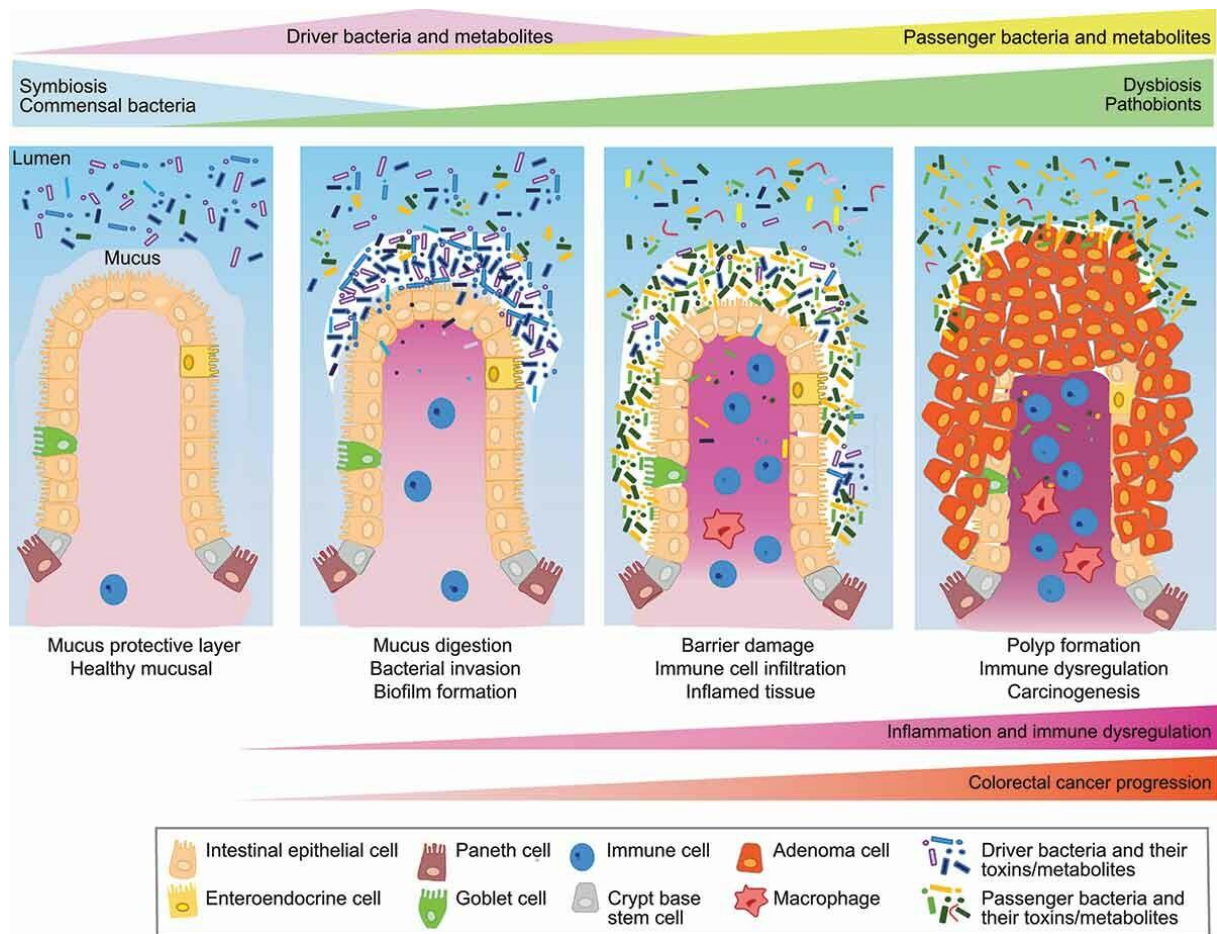
Το μοντέλο “driver-passenger”

Σύμφωνα με το υποθετικό μοντέλο “driver-passenger”, ένα αρχικό “οδηγό” βακτηριακό στέλεχος (driver) του ΕΜ με προ-καρκινογενετικά χαρακτηριστικά θεωρείται πως σχετίζεται με την έναρξη της παθογένεσης του ΟΚΚ [98]. Ο αποικισμός των καρκινικών ιστών εξαρτάται από τους συγκεκριμένους γενότυπους και τη λοιμογόνο δύναμη του κάθε οδηγού βακτηριακού υποτύπου. Ο αποικισμός από τα συγκεκριμένα βακτήρια, ακολουθείται από την αντικατάστασή τους από έτερα βακτηριακά στελέχη τα οποία προάγουν την ανάπτυξη της ορθοκολικής καρκινογένεσης. Οι βακτηριακοί “συνεπιβάτες” (passengers) έχουν μεταβολικά και λοιμογόνα χαρακτηριστικά τα οποία τους επιτρέπουν να ανταγωνίζονται και τελικά να υπερισχύουν των βακτηριακών στελεχών “οδηγών”. Τα βακτηριακά στελέχη “συνεπιβάτες” θεωρούνται αυτόχθονα μέλη της εντερικής μικροχλωρίδας, αποικίζουν σε μικρό βαθμό τον φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο και εμφανίζουν ένα ανταγωνιστικό με τα υπόλοιπα βακτήρια συγκριτικό πλεονέκτημα που σχετίζεται με το νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον, καθώς έχουν ρυθμιστικό ρόλο στην εξέλιξη της ορθοκολικής καρκινογένεσης. Για παράδειγμα θρεπτικά μικροστοιχεία και άλλοι συμπαράγοντες που σχετίζονται με το νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον όπως οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species-ROS) μπορούν επιλεκτικά να αποτελέσουν υπόστρωμα από συγκεκριμένους βακτηριακούς “συνεπιβάτες”. Σε αντίθεση με τα βακτηριακά στελέχη “οδηγούς” που είναι πάντα πληθυσμοί με προ-καρκινογενή χαρακτηριστικά, οι βακτηριακοί “συνεπιβάτες” θεωρούνται είτε προ-καρκινογενείς μικροβιακοί πληθυσμοί ή προστατευτικοί, ανάλογα με τα εγγενή χαρακτηριστικά τους [98]. Τα σχετιζόμενα με τον ορθοκολικό καρκίνο βακτήρια *S. gallolyticus*, *E. faecalis*, *B. fragilis* ETBF, *E. coli*, και *F. Nucleatum* διαταράσσουν και προσκολλώνται στον φυσιολογικό εντερικό βλεννογόνο, γεγονός που τα καθιστά δυνητικούς βακτηριακούς οδηγούς που εκκινούν την ορθοκολική καρκινογένεση. Η προσκόλλησή τους στον εντερικό βλεννογόνο, σχετίζεται με το ογκογενετικό δυναμικό τους και επηρεάζει τον ρυθμό νεοπλασματικής εξέλιξης, λόγω επαγόμενης φλεγμονής μέσω της διέγερσης συγκεκριμένων υποδοχέων της εγγενούς ανοσίας [99]. Σε μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2014, χρησιμοποιώντας τεχνικές αλληλούχισης του βακτηριακού γονιδιώματος σε δείγματα από υγιείς, αδενωματώδεις και καρκινικούς ιστούς, έγινε ταυτοποίηση βακτηριακών οικογενειών όπως και διακριτών στελεχών, τα οποία ακολουθούν την υπόθεση “driver-passenger” κατά τη ανάπτυξη του ΟΚΚ [100]. Ταυτοποιήθηκαν επτά βακτηριακά γένη ως δυνητικοί “οδηγοί” συμπεριλαμβανομένων των *Pseudomonadaceae* και *Neissenaceae* και 12 βακτηριακά γένη ως δυνητικοί “συνεπιβάτες”, συμπεριλαμβανομένων των βακτηριακών στελεχών *E. coli* και *Streptococcus gallolyticus* (Sgg). Σε έτερη μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2018, υποστηρίχθηκε πως τα επικρατέστερα βακτηριακά φύλα που σχετίζονται με την FAP είναι τα *Bacteroidetes* και *Firmicutes* με κύριους εκπροσώπους τα βακτηριακά

στελέχη *B. fragilis* ETBF και *rks+* *E. coli* αντίστοιχα [101]. Παράλληλα, ο σύγχρονος αποικισμός με τα βακτηριακά στελέχη *B. fragilis* ETBF και *rks+* *E. coli* οδηγεί σε ορθοκολική καρκινογένεση λόγω εκφύλισης του βλεννώδους στρώματος του εντερικού επιθηλίου και επακόλουθης προσκόλλησης περισσότερων βακτηριακών στελεχών *rks+* *E. coli*, τα οποία επάγουν γονιδιακές βλάβες στα επιθηλιακά εντεροκύτταρα μέσω της έκκρισης κολιμπακτίνης και IL-17.

Η υπόθεση “driver-passenger”, περιγράφει την ακολουθία των μεταβολών σε επίπεδο νεοπλασματικού μικροπεριβάλλοντος. Συγκεκριμένα η πρώτη τροποποίηση εντοπίζεται στο επίπεδο γονιδιακής βλάβης, ακολουθείται από νεοπλασματικές μεταβολές και τέλος από την εναλλαγή συγκεκριμένων βακτηριακών πληθυσμών. Οι συνηθέστερες μεταλλάξεις που συναντώνται στην ορθοκολική καρκινογένεση και σχετίζονται με τη δράση των βακτηρίων “οδηγών” αφορούν στα γονίδια APC, CTNNB1, p53, K-ras και MYC [102].

Από την μελέτη των δυο υποθετικών μοντέλων και παρά την ομοιάζουσα συσχέτιση των βακτηριακών στελεχών που ενέχουν ρόλο “οδηγού” με τα βακτηριακά στελέχη που ακολουθούν την υπόθεση “Alpha-Bug”, προκύπτει μια ειδοποιός διαφορά. Παρά το γεγονός της πυροδότησης της ορθοκολικής καρκινογένεσης από τα βακτήρια “οδηγούς”, οι συγκεκριμένοι βακτηριακοί πληθυσμοί αποικίζουν προσωρινά τον εντερικό βλεννογόνο και τελικώς αντικαθίστανται από άλλους βακτηριακούς πληθυσμούς “συνεπιβάτες”. Αντίθετα, σύμφωνα με το μοντέλο “Alpha-Bug”, τα βακτηριακά στελέχη που συνδεόνται αιτιολογικά με την ανάπτυξη ορθοκολικού νεοπλάσματος, αποικίζουν μόνιμα το αναπτυσσόμενο νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον.



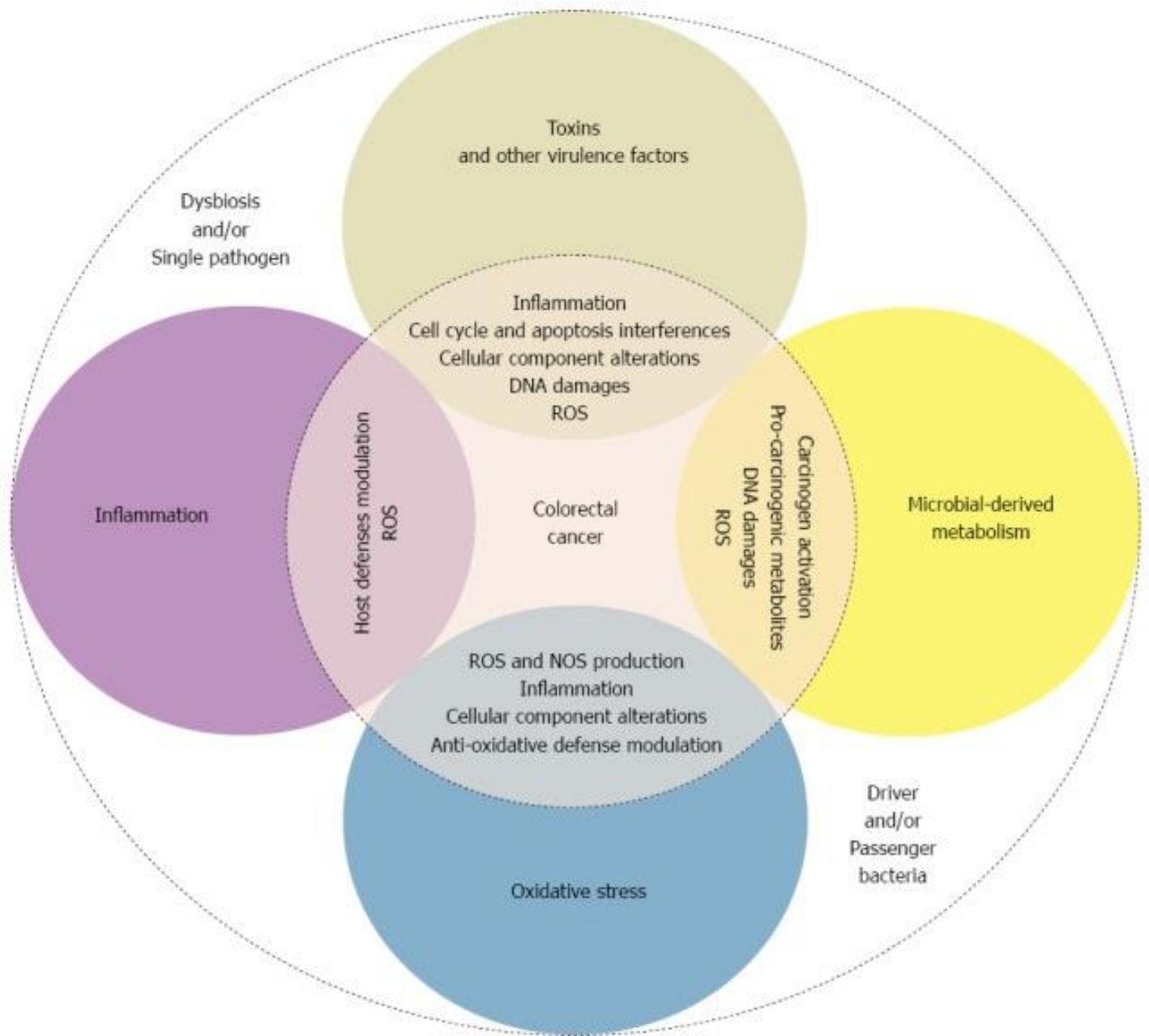
Εικόνα 5. Υπόθεση “Driver-Passenger” και ορθοκολική καρκινογένεση

Συμβιωτικά βακτηριακά στελέχη βρίσκονται στον εντερικό αυλό του κόλου, επί τα εκτός του εντερικού επιθηλίου, το οποίο καλύπτεται από ένα βλεννώδες προστατευτικό στρώμα. Στα αρχικά στάδια του ορθοκολικού νεοπλασματος, “οδηγά” βακτήρια λειτουργούν ως εκκινητές της καρκινογένεσης μέσω της λύσης του βλεννώδους προστατευτικού στρώματος και τον σχηματισμό βιομεμβρανών. Συνέπεια της εκκίνησης της ορθοκολικής καρκινογένεσης, η τροποποίηση του εντερικού μικροπεριβάλλοντος έχει ως αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό συγκεκριμένων βακτηριακών στελεχών “συνεπιβατών”. Ο αποκρισμός με τους συγκεκριμένους βακτηριακούς υποτύπους, δημιουργεί περαιτέρω δυσβιωτικά φαινόμενα και οδηγεί στη εξέλιξη του ΟΚΚ μέσω της φλεγμονής και της ανοσολογικής απορρύθμισης. Επιπρόσθετα, η βιοσύνθεση βλαπτικών για το DNA τοξινών, αλλά και η παραγωγή τοξικών μεταβολιτών από το ΕΜ, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην ορθοκολική καρκινογένεση.

(Ανατύπωση από: Avril M, DePaolo RW. "Driver-passenger" bacteria and their metabolites in the pathogenesis of colorectal cancer. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1941710.)

2.5.4 Μικροβιακά στελέχη και μηχανισμοί ορθοκολικής καρκινογένεσης

Η εξέλιξη της ορθοκολικής καρκινογένεσης αποτελεί μια πολυπαραγοντική διαδικασία στην οποία εμπλέκονται αιτιολογικά πολυάριθμοι διακριτοί μηχανισμοί, όπως βακτηριακές τοξίνες και λοιμογόνοι παράγοντες που σχετίζονται με βλάβες στο γενετικό υλικό, μεταβολίτες του ΕΜ, ανοσορρυθμιστικοί και φλεγμονώδεις σηματοδοτικοί μεσολαβητές, οξειδωτικό στρες και ρύθμιση αντιοξειδωτικών συστημάτων του ξενιστή. Οι μηχανισμοί αυτοί επιδρούν σε ποικίλες κυτταρικές δομές έχοντας ως αποτέλεσμα τροποποιήσεις των αμυντικών μηχανισμών του ξενιστή που οδηγούν σε γενωμική αστάθεια, ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών εντεροκυττάρων του κόλου και τελικά σε ορθοκολική καρκινογένεση. Κατά την φυλογενετική τους εξέλιξη τα βακτήρια αποκτούν λοιμογόνους χαρακτήρες, οι οποίοι προσδιορίζουν την παθογονικότητά τους, όπως για παράδειγμα η ικανότητά τους να διαπερνούν τον εντεροεπιθηλιακό φραγμό και να προσκολλώνται στα εντεροκύτταρα. Οι περισσότεροι παθογενετικοί μηχανισμοί δράσης των διάφορων βακτηριακών στελεχών και τα προ-καρκινογενή αποτελέσματα εξαρτώνται από τους συγκεκριμένους λοιμογόνους χαρακτήρες. Οι βακτηριακές τοξίνες συμμετέχουν στην ορθοκολική καρκινογένεση ρυθμίζοντας σηματοδοτικές οδούς των κυττάρων του ξενιστή, αυξάνοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την επιθηλιακή έκκριση προ-φλεγμονωδών μεσολαβητών και την επαγωγή γονιδιακής βλάβης. Το ΕΜ αλληλεπιδρά με το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή. Η βακτηριακή επαγωγή ανοσοαπόκρισης, σχετίζεται με τη δημιουργία ενός φλεγμονώδους δυσβιωτικού μικροπεριβάλλοντος που ευνοεί την εξέλιξη της εντερικής νεοπλασίας. Η παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και αζώτου αποτελεί βασικό κυτταρικό μηχανισμό άμυνας έναντι των παθογόνων βακτηρίων. Ωστόσο το οξειδωτικό στρες, η διαταραχή δηλαδή της ισορροπίας μεταξύ των προ-οξειδωτικών μορίων και την επάρκεια των αντι-οξειδωτικών μηχανισμών του ξενιστή οδηγεί σε μη αναστρέψιμες γονιδιακές βλάβες όπως ενεργοποίηση ογκογονιδίων και αναστολή λειτουργίας ογκοκατασταλτικών γονιδίων αλλά και δομική αποσταθεροποίηση διάφορων κυτταρικών δομών.

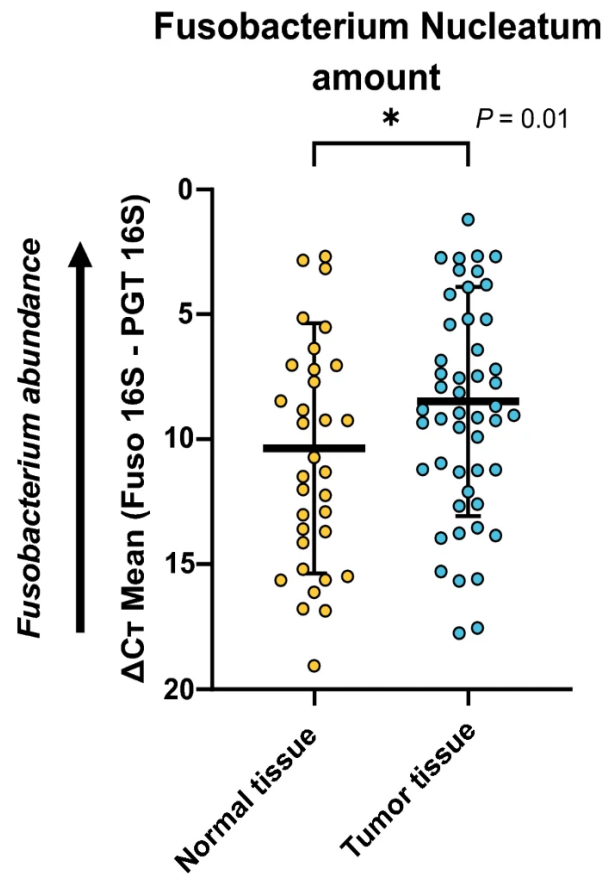


Εικόνα 6. Καρκινογενετικοί μηχανισμοί εντερικού μικροβιώματος

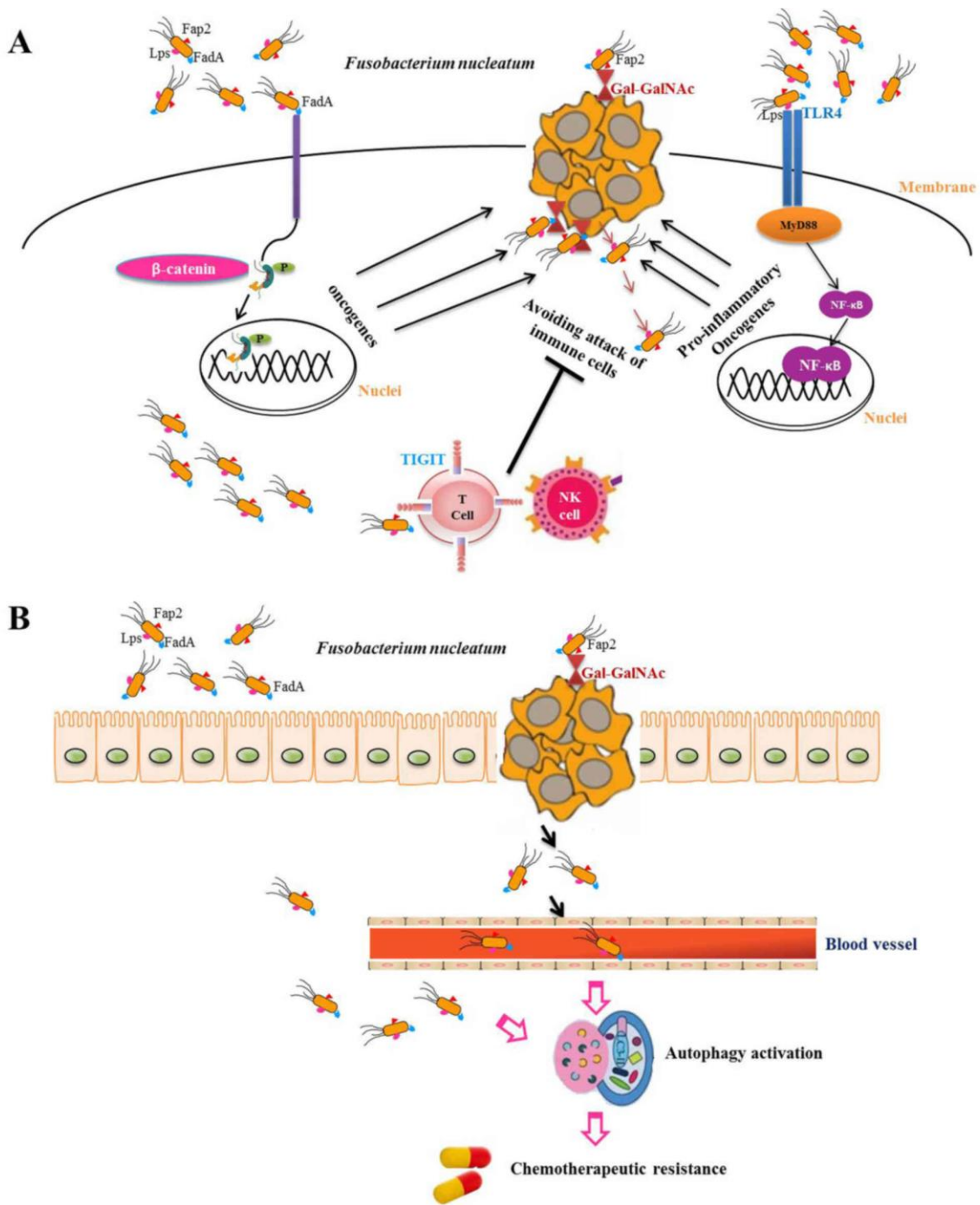
(Ανατύπωση από: Gagnière J, Raisch J, Veziat J, et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2016;22(2):501-518.)

Fusobacterium nucleatum

Το *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), είναι ένα αναερόβιο Gram-αρνητικό ευκαιριακό παθογόνο βακτήριο, που αποικίζει τη στοματική κοιλότητα. Πρόσφατα το *F. Nucleatum*, βρέθηκε σε πρωτοπαθείς εστίες ασθενών με ΟΚΚ που εντοπιζόταν στο τυφλό και το ορθό [103]. Το συγκεκριμένο βακτηριακό στέλεχος συνδέεται με την αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, τη σχετιζόμενη με την νεοπλασματική εξεργασία φλεγμονή και την αντοχή στους ανοσολογικούς μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή [104]. Υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του *F. Nucleatum* και της αύξησης της έκφρασης προ-φλεγμονωδών γονιδίων όπως τα PTGS2 (Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2) και MMP3 (Matrix Metalloproteinase-3) [105]. Η βακτηριακή πρωτεΐνη FadA συνδέεται με τη διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη E-καδχερίνη, όπως επίσης αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα Toll-Like Receptor 4 (TLR4), την πρωτεΐνη MyD88 (Myeloid differentiation primary response 88) και την πρωτεϊνική κινάση σερίνης/θρεονίνης PAK 1, ενεργοποιώντας το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνης, αλλά και μεταγραφικούς παραγόντες όπως ο TCF, ο c-Myc και η κυκλίνη D1 [106,107]. Οι συγκεκριμένοι μηχανισμοί κυτταρικού πολλαπλασιασμού οδηγούν σε μείωση των πρωτεϊνών TOX (Thymocyte Selection Associated High Mobility Group Box) και σχετίζονται με μεταστατικά φαινόμενα [108]. Επιπρόσθετα, η βακτηριακή πρωτεΐνη FadA, αυξάνοντας την ιντερλευκίνη-6 (IL-6), την ιντερλευκίνη-8 (IL-8), την ιντερλευκίνη-18 (IL-18), αλλά και την έκφραση του παράγοντα NF- κ B ενισχύει τη φλεγμονή που προάγει την ορθοκολική καρκινογένεση [106]. Παράλληλα η υπερέκφραση της αλληλουχίας microRNA miR-135b συνδέεται εξίσου με τη φλεγμονώδη διήθηση σε ασθενείς με ΟΚΚ [109]. Το βακτηριακό στέλεχος *F. nucleatum* αναστέλλει τη δραστηριότητα των κυττάρων φυσικών φονέων (Natural Killers, NK) και επιδρά στην υπερέκφραση της πρωτεΐνης MUC2 και του παράγοντα νέκρωσης όγκων α (TNF- α) στο νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον, ενισχύοντας της ορθοκολική καρκινογένεση. Η βακτηριακή πρωτεΐνη Far-2, συνδέεται με την λεκτίνη Gal-GalNAc και το σύμπλεγμα προσκολλάται στον υποδοχέα του ανοσοποιητικού συστήματος TIGIT (T- cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains) αναστέλλοντας την κυτταροτοξικότητα των κυττάρων NK όπως και τις δράσεις των T λεμφοκυττάρων [110]. Ο αποικισμός με *F. Nucleatum* συνδέεται με προχωρημένο ΟΚΚ σταδίου 3 και 4 όπως και με MSI ανεξάρτητα του φαινοτύπου μεθυλίωσης CpG νησίδων και μεταλλάξεων BRAF [111]. Μελέτη του νεοπλασματικού μικροπεριβάλλοντος σε επίμυες APC^{Min/+} που αποικίζονταν με *F. Nucleatum* έδειξε αυξημένη παρουσία μυελοειδών κατασταλτικών κυττάρων, ουδετερόφιλων και M2 μακροφάγων σχετιζόμενων με το νεόπλασμα, όπως και δενδριτικών κυττάρων σε σύγκριση με τον πληθυσμό της ομάδας ελέγχου [105]. Παράλληλα, ύστερα από χημειοθεραπευτική παρέμβαση, το *F. nucleatum*, ενεργοποιώντας το TLR4/MYD88 σηματοδοτικό μονοπάτι ενισχύει την αυτοφαγία των καρκινικών εντεροκυττάρων, οδηγώντας σε αντοχή στη θεραπεία [112].



Εικόνα 7. Βακτηριακοί πληθυσμοί *Fusobacterium nucleatum* σε υγιείς και καρκινικούς ιστούς (Ανατύπωση από: Lee DW, Han SW, Kang JK, et al. Association Between *Fusobacterium nucleatum*, Pathway Mutation, and Patient Prognosis in Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2018;25(11):3389-3395.)



Εικόνα 8. Μηχανισμοί δράσης *Fusobacterium nucleatum* στην ορθοκολική καρκινογένεση (A) και στην επαγωγή χημειοθεραπευτική αντοχής (B).

(Ανατύπωση από: Yang Z, Ji G. *Fusobacterium nucleatum*-positive colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2019;18(2):975-982.)

Enterococcus faecalis

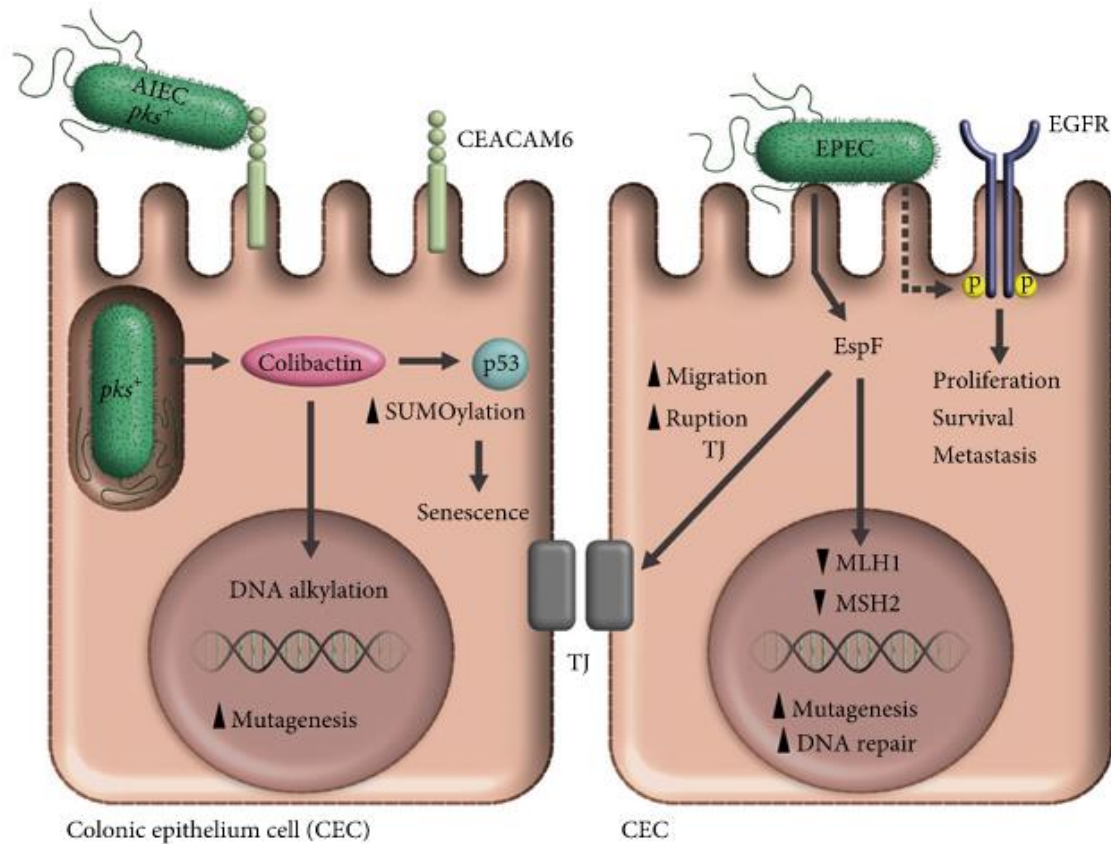
Το *Enterococcus faecalis* (*E. Faecalis*) είναι ένα δυνητικά αναερόβιο Gram-θετικό βακτήριο. Δεδομένα πρόσφατων μελετών αναδεικνύουν τη συσχέτιση του *E. Faecalis* με την ορθοκολική καρκινογένεση, λόγω της ύπαρξης του βακτηρίου σε δείγματα κοπράνων ασθενών με νεοπλάσματα παχέος εντέρου σε αντίθεση με δείγματα υγιών ατόμων αλλά και σε καρκινικούς όπως και παρακείμενους του νεοπλάσματος ιστούς [113]. Σε πειραματική μελέτη με knock-out *il10^{-/-}* επίμυες, το συγκεκριμένο βακτηριακό στέλεχος φαίνεται πως σχετίζεται με φλεγμονή του κόλου, δυσπλασία και ορθικό καρκίνωμα [114]. Το *E. Faecalis* συνδέεται με την έκφραση της ανοσοκατασταλτικής κυτοκίνης TGF-β από τα εντεροεπιθηλιακά κύτταρα πειραματικών επιμυών τα οποία δεν έχουν υποστεί μεταβολές στο γενετικό τους υλικό (wild type), ενεργοποιώντας το σηματοδοτικό μονοπάτι SMAD, την απώλεια της έκφρασης της πρωτεΐνης TLR2 και την αναστολή της έκφρασης προ-φλεγμονωδών γονιδίων που εξαρτώνται από το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα NF-κB [115]. Επιπρόσθετα της ικανότητας του βακτηρίου να επάγει χρόνια φλεγμονή, περιγράφεται παραγωγή ROS όπως σουπεροξειδίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου που προκαλούν βλάβες στο γενετικό υλικό και επακόλουθη χρωμοσωμική αστάθεια, ανευπλοειδία και τετραπλοειδία στα εντεροεπιθηλιακά κύτταρα [116,117]. Ταυτόχρονα το *E. Faecalis* ενισχύοντας την έκφραση της COX-2 και της πρωτεΐνης Wnt3α και καταστέλλοντας την έκφραση του ανασταλτικού παράγοντα Wif1 (Wnt inhibitor factor 1) οδηγεί σε ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/β-catenin. Παράλληλα η ενεργοποίηση της κινάσης MAPK, σχετίζεται με τη δημιουργία M1 πολωμένου φαινοτύπου στα μακροφάγα, δημιουργώντας συνθήκες φλεγμονής στο νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον [118].

Escherichia coli

Το *Escherichia coli* (*E. coli*) είναι ένα δυνητικά αναερόβιο Gram-αρνητικό συμβιωτικό βακτήριο που αποικίζει τον εντερικό βλεννογόνο αμέσως μετά τη γέννηση. Τα στελέχη *E. coli* κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με τα λοιμογόνα χαρακτηριστικά τους στους εξής 4 βασικούς φυλογενετικούς υποτύπους: A, B1, B2 και D. Οι υπότυποι B2 και D σχετίζονται με χρόνιες φλεγμονώδεις εντεροπάθειες οι οποίες αποτελούν γνωστό προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη του ΟΚΚ [119]. Συγκεκριμένα ο βακτηριακός υπότυπος B2 σχετίζεται με τα γονιδιωματικά νησίδια πολυκετιδικής συνθεσης (polyketide synthase-pks) που εκφράζουν συγκεκριμένες τοξίνες επιβλαβείς για το γενετικό υλικό (genotoxins) οι οποίες καλούνται κυκλομοντουλίνες (cyclomodulin toxins). Βακτηριακά στελέχη *E. coli* που παράγουν κυκλομοντουλίνες αποικίζουν σε μεγαλύτερο πληθυσμό τον εντερικό βλεννογόνο ασθενών σε προχωρημένο στάδιο ΟΚΚ (III/IV), σε σύγκριση με ασθενείς με εντερικά νεοπλάσματα σταδίου I [120]. Έχουν αναγνωριστεί τέσσερις τοξίνες της οικογένειας των κυκλομοντουλινών με σημαντικό ρόλο στην

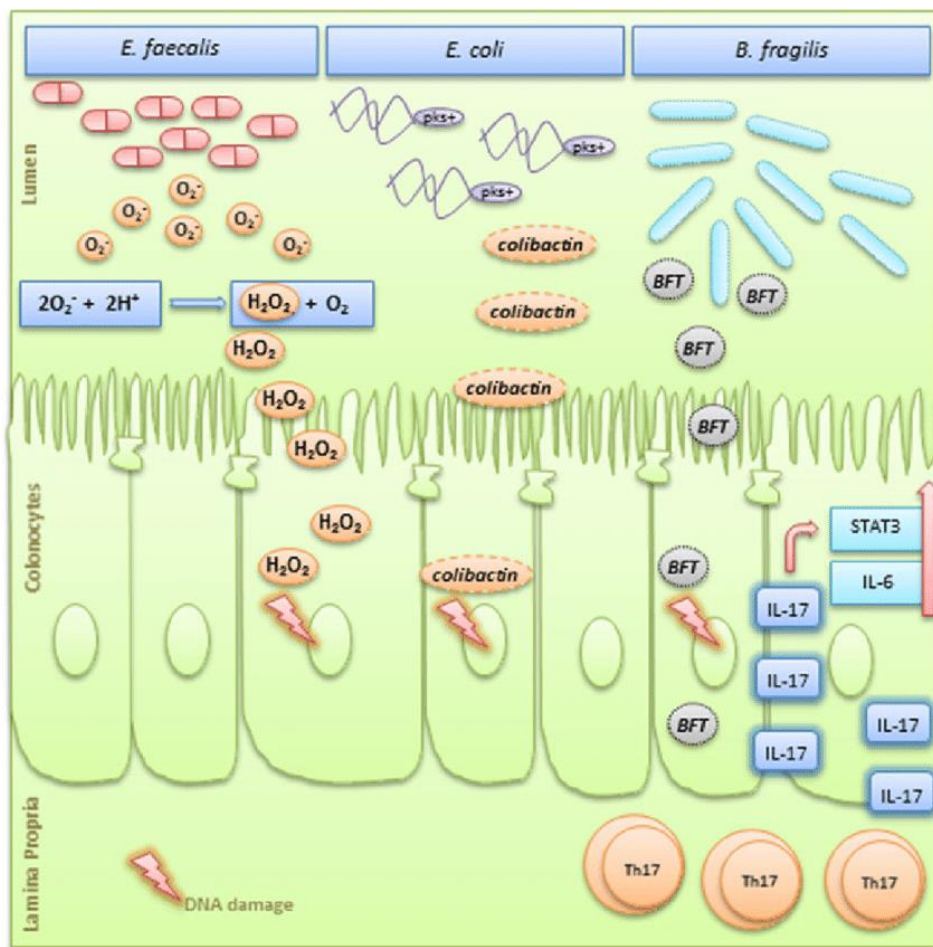
ορθοκολική καρκινογένεση και είναι οι εξής: CIF (cycle-inhibiting factor), CNF (cytotoxic necrotizing factor), CDT (cytotoxic distending toxin) και κολιμπακτίνη. Οι συγκεκριμένες βακτηριακές τοξίνες αλληλεπιδρούν με τον κυτταρικό κύκλο του επιθηλιακού εντεροκυττάρου προκαλώντας γενωμική αστάθεια μέσω ανεξέλεγκτου κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης και απόπτωσης [121]. Η τοξίνη CIF σχετίζεται με το εντεροπαθογόνο *E. coli* (enteropathogenic *E. coli*-EPEC), επάγει την αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού ακτίνης και μεσολαβεί στην αναστολή του σημείου ελέγχου G2-M του κυτταρικού κύκλου με την απενεργοποιημένη κυκλινο-εξαρτώμενη κινάση 1 (cyclin-dependent kinase 1, CDK1) [122]. Η τοξίνη CNF επάγει την παροδική ενεργοποίηση της COX-2 και των Rho GTPασών όπως οι Rac, RhoA, and Cdc42. Η τοξίνη CDT έχει ενεργότητα DNAάσης προκαλώντας βλάβες τύπου θραύσης των δύο αλυσίδων DNA, αναστολή του κυτταρικού κύκλου και κυτταρική απόπτωση. Οι τοξίνες CDT και CNF σχετίζονται με την αναστολή του συστήματος MMR, οδηγώντας τα επιθηλιακά εντεροκύτταρα σε γενωμική αστάθεια και τελικά μέσω των παθογενετικών μηχανισμών CIN και MSI όπως και της μεθυλίωσης των νησιδίων CpG, σε ορθοκολική νεοπλασία. Στελέχη *rks*⁺ *E. coli* που παράγουν κολιμπακτίνη επάγουν τη δημιουργία χρωματινικών γεφυρών ανάφρασης και χρωμοσωμικές μεταβολές όπως ανευπλοειδία και τετραπλοειδία, θραύση των δύο αλυσίδων DNA και αναστολή της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου [123]. Παράλληλα ενεργοποιείται το μονοπάτι κατάργησης του σημείου ελέγχου G2-M του κυτταρικού κύκλου, και οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με το λοιμογόνο βακτηριακό σύμπλοκο T3SS (Type III secretion system) αναστέλλουν τη δράση των πρωτεϊνών του συστήματος MMR, MSH2 και MLH1 [124]. Η αποδόμηση του βλεννώδους προστατευτικού στρώματος του εντερικού επιθηλίου αυξάνει την προσκόλληση βακτηριακών στελεχών *rks*⁺ *E. coli*. Η επαφή βακτηρίου-εντεροκυττάρου θεωρείται αναγκαίος παράγοντας για την παθογονική δράση των πρωτεϊνικών προϊόντων της πολυκετιδικής συνθετάσης. Κατ' αυτόν τον τρόπο σε ένα μικροπεριβάλλον στο οποίο οι βακτηριακοί πληθυσμοί μπορούν εύκολα να έρθουν σε επαφή με τα εντεροεπιθηλιακά κύτταρα ευνοείται η τοξική δράση της κολιμπακτίνης [125]. Διαγραφή των γονιδιωματικών νησιδίων μείωσε τον αριθμό των εντερικών νεοπλασμάτων χωρίς να επηρεάσει το φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον, γεγονός που τονίζει το ρόλο της κολιμπακτίνης στην ορθοκολική καρκινογένεση ανεξάρτητα του παράγοντα της φλεγμονής [126]. Τα εντερο-δισυδρικά στελέχη *E. coli* (AIEC) χρησιμοποιούν τον μοριακό συνδέτη CEACAM6 για να εισέλθουν στα εντεροκύτταρα και στη συνέχεια παράγουν κολιμπακτίνη η οποία επάγει την μεταμεταφραστική τροποποίηση της σουμοϋλίωσης (SUMOylation) στην πρωτεΐνη p53. Συμπληρωματικά τα στελέχη EPEC κατά την είσοδό τους στα επιθηλιακά εντεροκύτταρα επάγουν την αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα EGFR, ενός πρωτεϊνικού μορίου που σχετίζεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, το μεταστατικό δυναμικό και τους δείκτες συνολικής επιβίωσης σε ασθενείς με ΟΚΚ, μειώνοντας παράλληλα τα επίπεδα των πρωτεϊνών του συστήματος MMR, MLH1 and MSH2 και αποδομώντας τις στενές

συνάψεις μεταξύ των επιθηλιακών εντεροκυττάρων. Το βακτηριακό στέλεχος *pks*⁺ *E. coli* συσχετίζεται με την επιθήλιο-μεσεγγυματική μετατροπή, διαδικασία που αντικατοπτρίζει τη μετάβαση από την εντερική νεοπλασία στη μεταστατική νόσο.



Εικόνα 9. Ογκογενετική δραστηριότητα του βακτηρίου *Escherichia coli*

(Ανατύπωση από: Hernández-Luna M.A., López-Briones S., Luria-Pérez R. The Four Horsemen in Colon Cancer. *J. Oncol.* 2019;2019:1–12. doi: 10.1155/2019/5636272.)



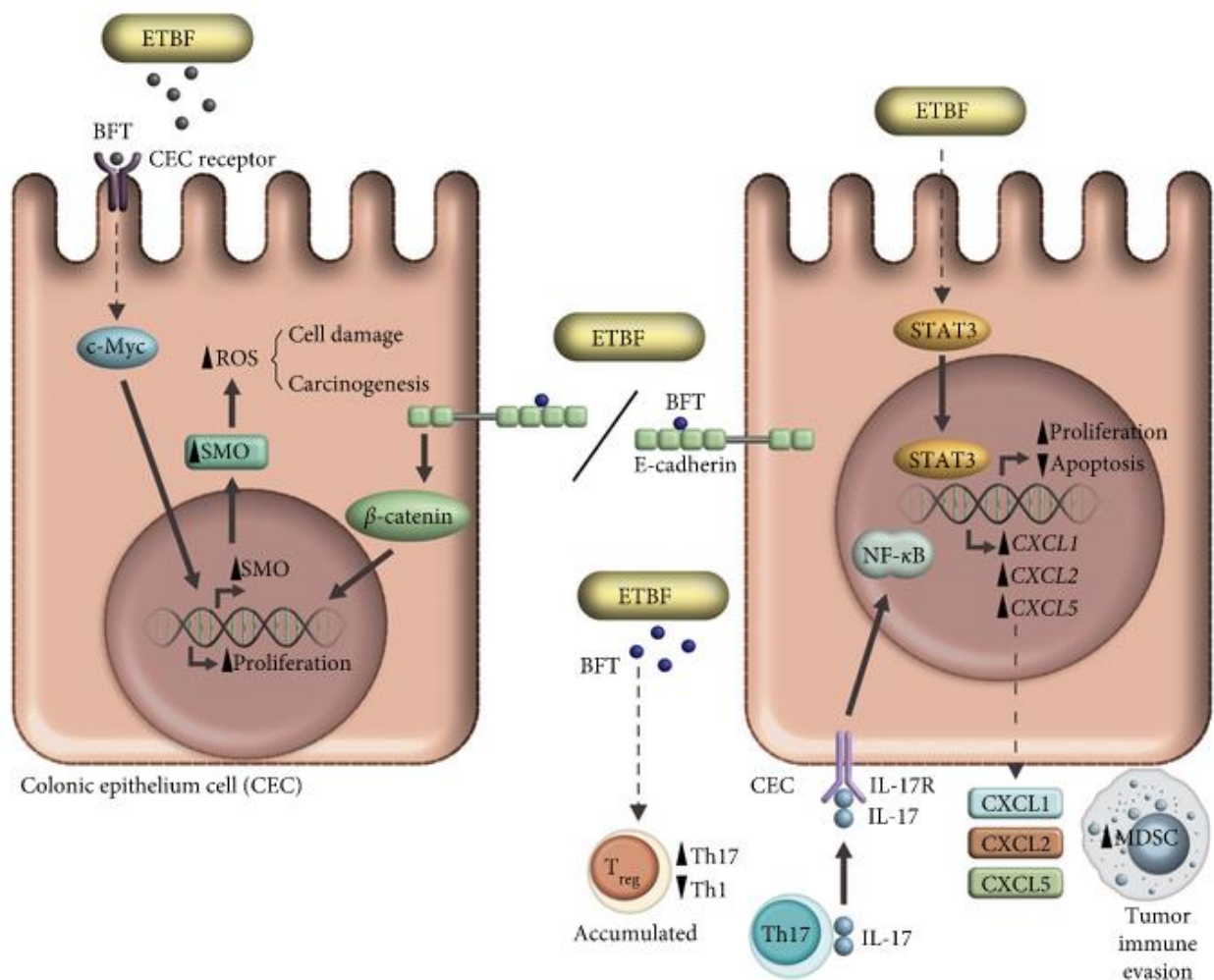
Εικόνα 10. Μηχανισμοί πρόκλησης προκαρκινικών βλαβών των βακτηριακών στελεχών *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* και *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis* στα επιθηλιακά εντεροκύτταρα του παχέος εντέρου.

(Ανατύπωση από: Coleman OI, Nunes T. Role of the Microbiota in Colorectal Cancer: Updates on Microbial Associations and Therapeutic Implications. *Biores Open Access*. 2016;5(1):279-288. Published 2016 Oct 1.)

Bacteroides fragilis

Το *Bacteroides fragilis* (*B. Fragilis*) είναι ένα υποχρεωτικά αναερόβιο Gram-αρνητικό συμβιωτικό βακτήριο που αποικίζει το κόλον και αντιπροσωπεύει το 1-2% της συνολικής εντερικής μικροχλωρίδας. Έχουν περιγραφεί δύο μοριακοί βακτηριακοί υπότυποι του *B. Fragilis*, το μη εντεροτοξινογόνο στέλεχος (nontoxigenic *B. fragilis*, NTBF) και το εντεροτοξινογόνο στέλεχος (enterotoxigenic *B. fragilis*, ETBF). Ο

τελευταίος βακτηριακός υπότυπος, ο οποίος σχετίζεται με το διαρροϊκό σύνδρομο, συνδέεται με την ύπαρξη μιας παθογενετικής γονιδιωματικής νησίδας (*B. fragilis* pathogenicity island, BfPAI) η οποία εκφράζει την εντεροτοξίνη fragilysin (BFT) [127]. Η τοξίνη BFT, είναι μία μεταλλοπρωτεΐνωση εξαρτώμενη από ψευδάργυρο, η οποία προσδένεται στα επιθηλιακά κύτταρα του κόλου και ενεργοποιεί την αποδόμηση του μορίου της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης E-καδχερίνης [128]. Η διάσπαση του συγκεκριμένου πρωτεϊνικού μορίου αποτελεί ένα προκαρκινογόνο ερέθισμα, ενεργοποιεί τις οδούς σηματοδότησης Wnt και NF-κB, τον αυξανόμενο κυτταρικό πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών εντεροκυττάρων του κόλου μέσω μετατόπισης του μορίου της β-κατενίνης στον πυρήνα και την υπερέκφραση του ογκογονιδίου c-Myc και την διατάραξη του φυσιολογικού επιθηλιακού φραγμού, επάγοντας φλεγμονώδεις διεργασίες που σχετίζονται με την νεοπλασία και εν γένει την ορθοκολική καρκινογένεση [129]. Σε μοριακό επίπεδο, η πρωτεολυτική δράση της βακτηριακής τοξίνης είναι υπεύθυνη για την αποδόμηση των πρωτεϊνών των αποφρακτικών συνδέσεων όπως της πρωτεΐνης zonula occludens-1 (ZO-1), προκαλώντας τη δυσλειτουργία του εντεροεπιθηλιακού φραγμού λόγω αυξημένης επιθηλιακής διαπερατότητας και κατεστραμμένων εντερικών κρυπών και κολοκυττάρων [130]. Το εντεροτοξινογόνο στέλεχος ETBF, επάγει την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μορίου STAT3, τόσο στα επιθηλιακά κολοκύτταρα, όσο και σε μια ομάδα εντερικών ανοσοκυττάρων. Η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης STAT3 θεωρείται αναγκαίος παράγοντας για την ανάπτυξη των βοηθητικών Th17 λεμφοκυττάρων και την έκκριση της IL-17, δημιουργώντας έτσι ένα φλεγμονώδες νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον στο οποίο συμμετέχουν οι χημειοκίνες CXCL1, CXCL2 and CXCL5 και τα κατασταλτικά κύτταρα μυελικής προέλευσης (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) [131]. Σε πειραματική μελέτη η χορήγηση ενός εξουδετερωτικού κατά της IL-17 αντισώματος είχε ανασταλτικό ρόλο στο σχηματισμό νεοπλασμάτων, αναδεικνύοντας έτσι το ρόλο της συγκεκριμένης κυτοκίνης στην εξέλιξη της καρκινογένεσης [132]. Η βακτηριακή τοξίνη BFT επάγει την έκφραση την οξειδάσης της σπερμίνης (Spermine oxidase SMO), ενός καταβολικού ενζύμου πολυαμινών, που σχετίζεται παθογενετικά με την ορθοκολική καρκινογένεση μέσω παραγωγής ROS, φλεγμονής, επακόλουθης γονιδιακής βλάβης και τελικά απόπτωσης των εντεροεπιθηλιακών κυττάρων [133].



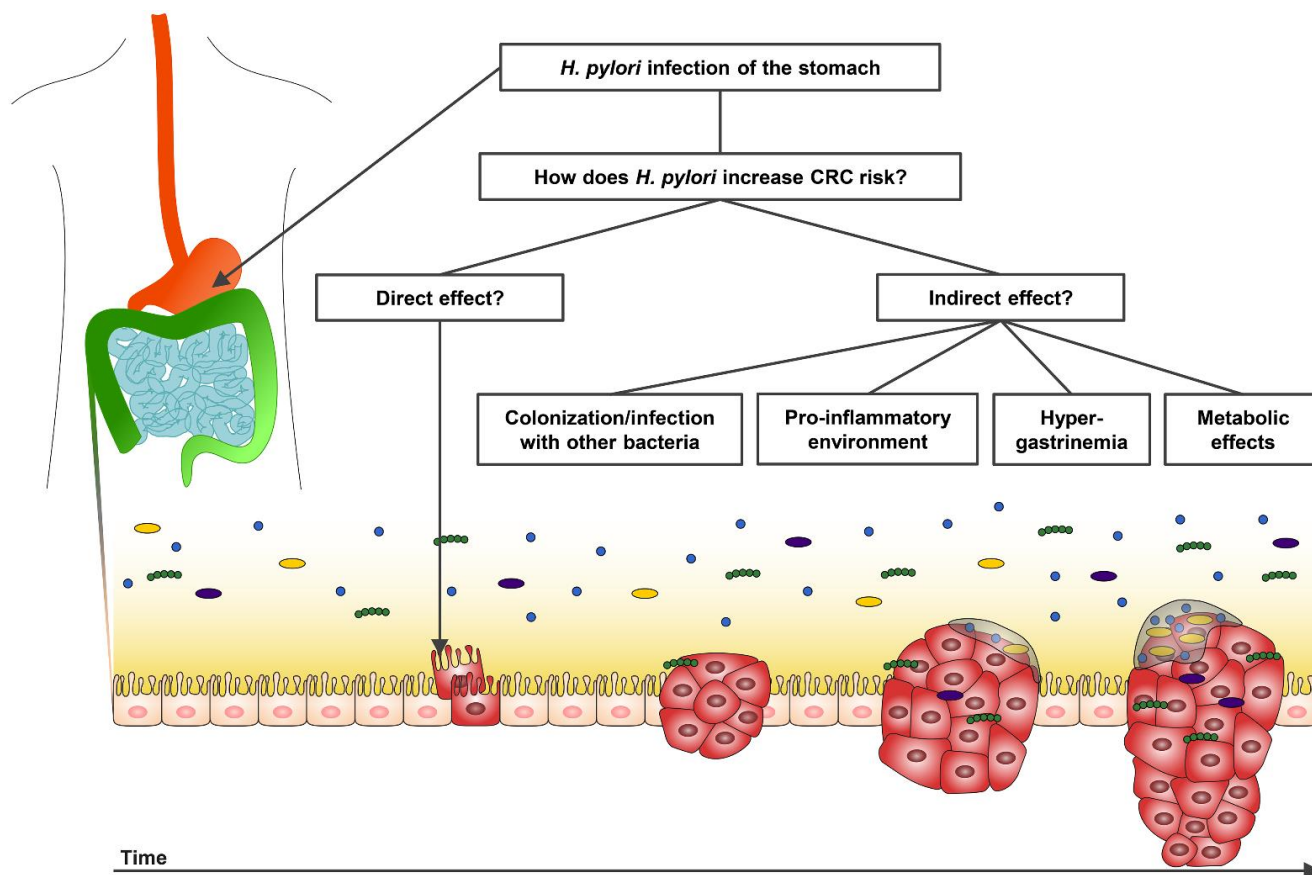
Εικόνα 11. Ογκογενετική δραστηριότητα του βακτηρίου *Bacteroides fragilis*

(Ανατύπωση από: Hernández-Luna M.A., López-Briones S., Luria-Pérez R. The Four Horsemen in Colon Cancer. *J. Oncol.* 2019;2019:1–12. doi: 10.1155/2019/5636272.)

Helicobacter pylori

Το *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) είναι ένα Gram-αρνητικό βακτήριο που συμμετέχει στη χρόνια φλεγμονή και εμπλέκεται αιτιολογικά στην παθογένεια του γαστρικού έλκους, του λεμφώματος του λεμφικού ιστού των βλεννογόνων (mucosa associated lymphoid tissue-MALT) και του γαστρικού αδενοκαρκινώματος [134]. Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί που συνδέουν το βακτηριακό στέλεχος *H. Pylori* με την ανάπτυξη ορθοκολικών νεοπλασμάτων. Αρχικά το βακτηριακό στέλεχος προκαλεί

αλλαγές στη σύσταση των μικροβιακών πληθυσμών του εντερικού βλεννογόνου οι οποίες δύνανται να πυροδοτήσουν την εκκίνηση της ορθοκολικής καρκινογένεσης. Τα αυξημένα επίπεδα γαστρίνης σχετίζονται με την ενίσχυση της έκφρασης της COX-2 και της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης BCL2 έναντι του προ-αποπτωτικού πρωτεϊνικού μορίου BAX. Ταυτόχρονα παρατηρείται αύξηση του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού με επέκταση της ζώνης αναγέννησης των εντερικών κρυπτών, υπερπλασία των καλυκοειδών κυττάρων goblet και πάχυνση του τοιχώματος του εντερικού βλεννογόνου [135]. Η υπερέκκριση γαστρίνης διαταράσσει τη σύσταση του εντερικού μικροβιώματος κατά τρόπο ώστε να διευκολυνθεί ο αποικισμός από έτερα βακτηριακά στελέχη σχετιζόμενα με τον ορθοκολικό καρκίνο όπως το *B. fragilis* and *E. faecalis*. Παράλληλα η παραγωγή αντιδραστικών ριζών οξυγόνου και αζώτου από το *H. Pylori*, προκαλεί βλάβες στο γενετικό υλικό ευνοώντας την εξέλιξη της ορθοκολικής νεοπλασίας [136]. Συγκεκριμένα ο λοιμογόνος παράγοντας HP-NAP ((*Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein), συνδέεται με την παραγωγή ROS από τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα [137]. Παράλληλα οι υπότυποι του βακτηριακού στελέχους που σχετίζονται με την έκφραση του λοιμογόνου παράγοντα CagA συνδέονται με αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης OKK [138]. Επιπρόσθετα το βακτηριακό στέλεχος *H. Pylori* επάγει την έκκριση πολυάριθμων προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως ο παράγοντας TNF- α , η ιντερφερόνη- γ (IFN- γ), η ιντερλευκίνη-1 β (IL-1 β), η IL-6 και η IL-8. Οι προφλεγμονώδεις μεσολαβητές παράγονται από επιμολυσμένα εντεροκύτταρα συνεισφέροντας στην επαγόμενη από φλεγμονή ορθοκολική καρκινογένεση [139].



Εικόνα 12. *Helicobacter pylori* και πιθανοί παθογενετικοί μηχανισμοί ορθοκολικής καρκινογένεσης.

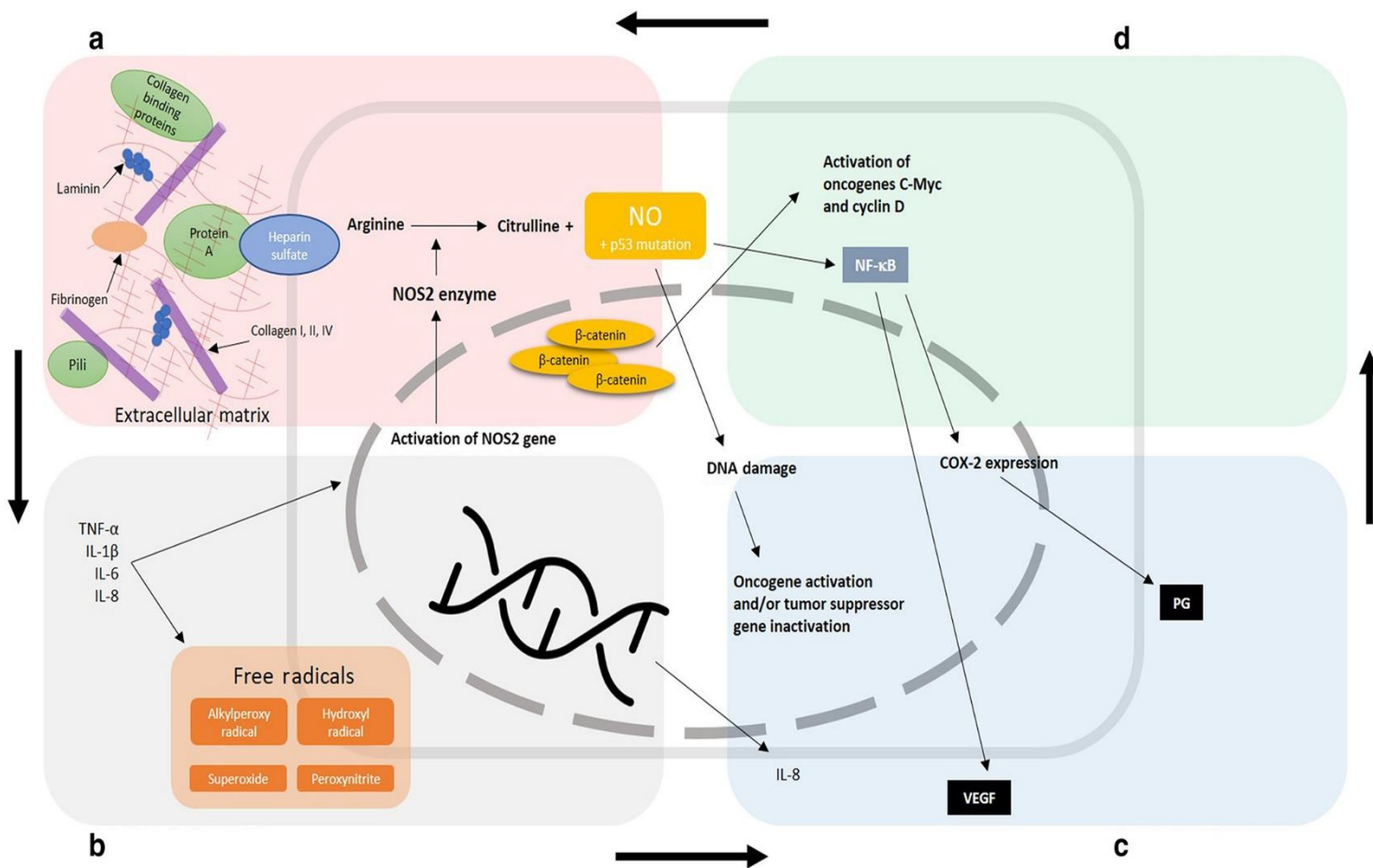
Η φυσιολογική ανατομική θέση λοίμωξης από το βακτηριακό στέλεχος *H. Pylori* είναι ο στόμαχος. Τίθεται ωστόσο το ερώτημα, πώς και με ποια χρονική συσχέτιση το βακτήριο εμπλέκεται στην μετατροπή του υγιούς εντερικού επιθηλίου σε ΟΚΚ. Εκτός από την άμεση επίδραση στο εντερικό επιθήλιο, το *H. Pylori* σχετίζεται με έμμεσες επιδράσεις όπως την ενεργοποίηση έτερων βακτηριακών πληθυσμών στον αποικισμό του φυσιολογικού εντερικού μικροπεριβάλλοντος και/ή τη πρόκληση συστηματικών προ-φλεγμονωδών, ορμονικών και μεταβολικών τροποποιήσεων.

(Ανατύπωση από: Butt J, Erplein M. *Helicobacter pylori* and colorectal cancer-A bacterium going abroad?. *PLoS Pathog.* 2019;15(8):e1007861. Published 2019 Aug 8.)

Streptococcus bovis/Streptococcus gallolyticus

Το *Streptococcus bovis* (*S. Bovis*), ένα Gram-θετικό βακτήριο, είναι το πρώτο μικροβιακό στέλεχος που

συνδέθηκε αιτιολογικά με την ορθοκολική καρκινογένεση. Το 1951 περιγράφηκε από τον McCoy και τους συνεργάτες, το πρώτο περιστατικό εντεροκοκκικής ενδοκαρδίτιδας σχετιζόμενης με καρκίνο του σιγμοειδούς [140]. Η συσχέτιση αυτή επαληθεύθηκε δέκα χρόνια αργότερα, όταν σε μελέτη ασθενών με βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα λόγω *S. Bovis*, βρέθηκε πως στην πλειονότητα των περιστατικών υπήρξε συννοσηρότητα με εντερική νεοπλασία [141]. Επιπρόσθετα σε αντίστοιχη μελέτη αναφέρθηκε πως οι ασθενείς με τέτοιου είδους λοιμώδεις καρδιακές βλάβες είχαν πενταπλάσια πιθανότητα εμφάνισης ΟΚΚ [142]. Το συγκεκριμένο βακτηριακό στέλεχος εμπλέκεται τόσο σε μοριακές όσο και κυτταρικές τροποποιήσεις οι οποίες συνδεόνται με την εξέλιξη της ορθοκολικής νεοπλασίας. Πιο συγκεκριμένα, αλληλεπιδρά με φυσιολογικά αλλά και νεοπλασματικά εντεροκύτταρα και επάγει προκαρκινογενείς σηματοδοτικές οδούς που εμπλέκουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Η αλληλεπίδραση του *S. Bovis* με τα επιθηλιακά εντεροκύτταρα οδηγεί σε αυξημένη έκφραση προφλεγμονωδών μορίων όπως η IL-1β, η IL-8, η COX-2 και η προσταγλανδίνη E2 (PGE2) και ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμός των εντερικών κρυπτών. [143]. Ο υπότυπος *S. gallolyticus* σχετίζεται με την ικανότητα δημιουργίας βιομεμβρανών σε περιοχές πλούσιες σε κολλαγόνο και προσκόλλησης σε πρωτεογλυκάνες θειϊκής ηπαρίνης κακοθών κυττάρων μέσω της πρωτεΐνης HLP-A (Histone-like protein A), αλλά και την αύξηση των επιπέδων των πρωτεϊνών β-κατενίνης, c-Myc και του πυρηνικού αντιγόνου πολλαπλασιαζομένων κυττάρων PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) στα νεοπλασματικά κολοκύτταρα [144]. Η προσκόλληση του βακτηριακού στελέχους στα εντεροκύτταρα με κακοήγη φαινότυπο επάγει την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών που με τη σειρά τους μεσολαβούν στη δημιουργία ελευθέρων ριζών όπως νιτρικό οξείδιο (NO). Στα επιθηλιακά εντεροκύτταρα το NO, φαίνεται πως σχετίζεται άμεσα με την ρύθμιση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, την ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού NF-Kb, την αγγειογένεση μέσω ενεργοποίησης του αγγειακών αυξητικών ενδοθηλιακών παραγόντων και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό λόγω ενεργοποίησης της κυκλίνης D [145]. Η διαταραχή του πρωτεϊνικού συμπλόκου E-καδχερίνης/β-κατενίνης, επηρεάζει την διακυτταρική προσκόλληση και ακόλουθα η ενεργοποίηση της σηματοδοτικής Wnt οδηγεί σε μεταστατική διασπορά [146]. Επίσης ο βακτηριακός υπότυπος *S. Gallolyticus* ενεργοποιεί τύπους μυελοκυττάρων που διηθούν τον όγκο όπως μυελοκατασταλτικά κύτταρα, μακροφάγα που σχετίζονται με τον όγκο και δενδριτικά κύτταρα τα οποία αναστέλλουν τη δράση των T λεμφοκυττάρων [147]. Το συγκεκριμένο στέλεχος δημιουργεί ένα ανοσοκατασταλτικό μικροπεριβάλλον στο οποίο προωθείται η φλεγμονή και η ανάπτυξη της νεοπλαστικής εξεργασίας ενεργοποιώντας ανοσοκύτταρα που διηθούν το νεόπλασμα. Συγκεκριμένα σχετική μελέτη κυτταρομετρίας ροής ανέδειξε την ενεργοποίηση CD11⁺Toll-like receptor 4 (TLR-4)⁺ μυελοκυττάρων τα οποία ενισχύουν το ανοσοκατασταλτικό νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον [148].



Εικόνα 13. Ο ρόλος του βακτηρίου *Streptococcus bovis/gallolyticus* στα διάφορα στάδια της ορθοκολικής καρκινογένεσης

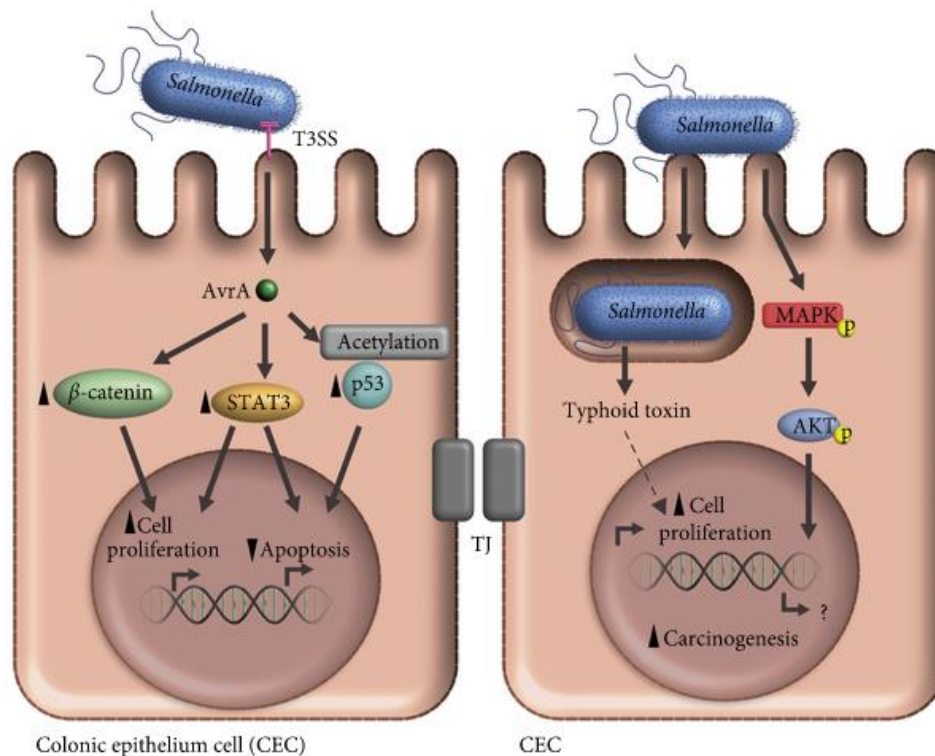
(Ανατύπωση από: Abu-Ghazaleh N, Chua WJ, Gopalan V. Intestinal microbiota and its association with colon cancer and red/processed meat consumption. *J Gastroenterol Hepatol.* 2021;36(1):75-88.)

Salmonella enterica

Το βακτήριο *Salmonella enterica* (*S. enterica*), είναι ένα Gram-αρνητικό βακτήριο το οποίο εμπλέκεται στην εξέλιξη της ορθοκολικής καρκινογένεσης μέσω δυο διακριτών πρωτεϊνικών μορίων, μιας τυφοειδούς τοξίνης που ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των κυκλομοντουλινών και της πρωτεΐνης AnrA (Antivirulence protein A). Η πρωτεΐνη AnrA μεταφέρεται στα επιθηλιακά εντεροκύτταρα διαμέσω του εκκριτικού συστήματος τύπου III και προκαλεί βλάβες στο γενετικό υλικό, αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και κυτταρική μετανάστευση, φλεγμονώδεις αντιδράσεις και δυσλειτουργία των ανοσολογικών αποκρίσεων με τους εξής μηχανισμούς: αναστολή της NF-κB σηματοδοτικής οδού αναστολή της έκκρισης των προφλεγμονωδών μεσολαβητών IL-12, INF-γ και TNF-α, αναστολή της

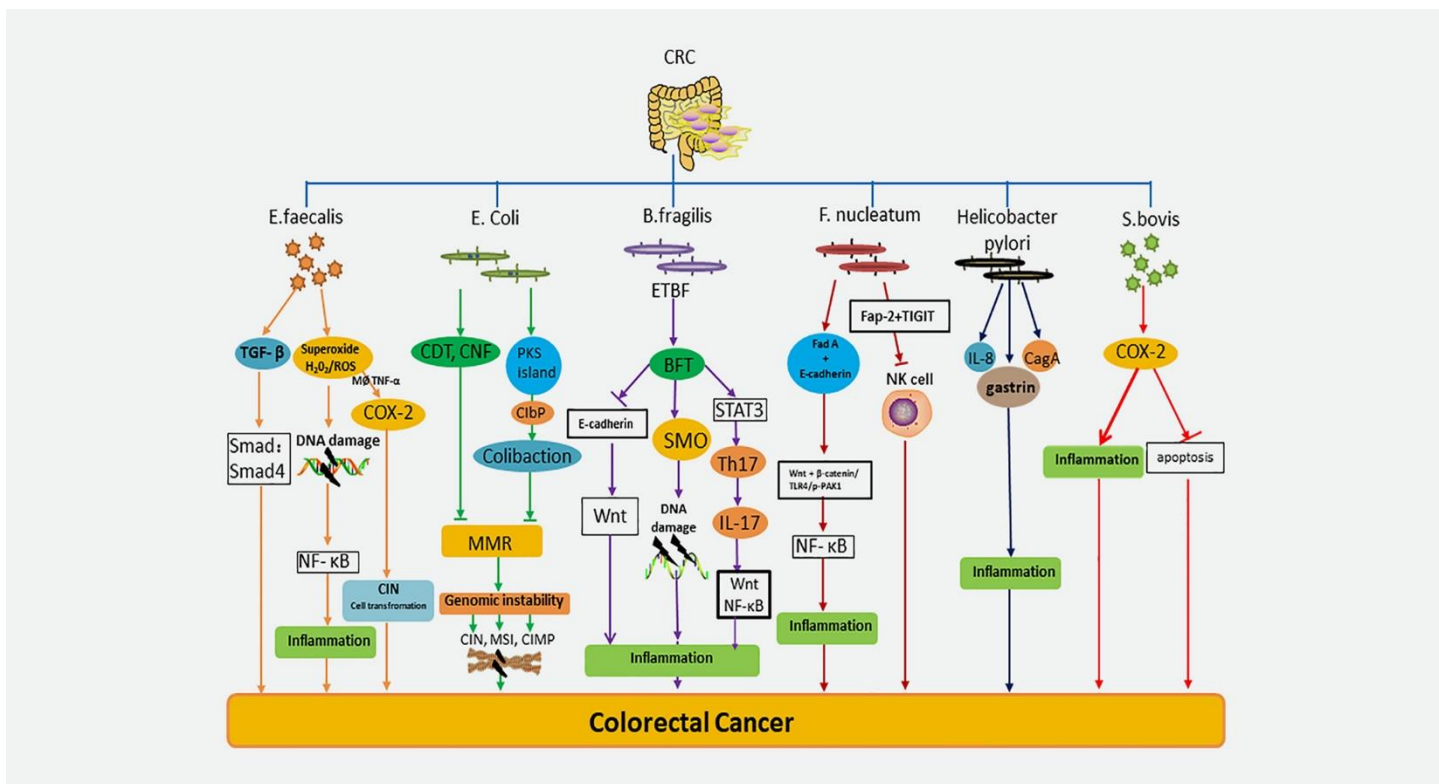
έκφρασης της IL-6 και αύξηση των επιπέδων της ιντερλευκίνης-10 (IL-10) [149,150,151].

Συμπληρωματικά η βακτηριακή πρωτεΐνη AvrA σχετίζεται με ενεργοποίηση των Wnt/ β -κατενίνης και STAT3 σηματοδοτικών οδών επάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό με την ενεργοποίηση της β -κατενίνης λόγω των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων της φωσφορυλίωσης και της από-ουβικουιτίνωσης του μορίου της [152,153]. Επιπρόσθετα η ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού JAK/STAT τροποποιεί τη λειτουργία ρυθμιστικών μηχανισμών για το εντεροκύτταρο, όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση. Συγκεκριμένα η ακετυλο-τρανσφεράση της πρωτεΐνη AvrA μεταβάλλει την λειτουργία της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53, οδηγώντας σε διακοπή της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου και αναστολή της απόπτωσης, μειώνοντας τα επίπεδα προ-αποπτωτικών μορίων όπως η πρωτεΐνη Bax [154]. Παράλληλα η τυφοειδής τοξίνη καταστέλλει την έκκριση κυτοκινών και ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μονοπάτι MAPK/APT το οποίο σχετίζεται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό [155].



Εικόνα 14. Ογκογενετική δραστηριότητα του βακτηρίου *Salmonella enterica*

(Ανατύπωση από: Hernández-Luna M.A., López-Briones S., Luria-Pérez R. The Four Horsemen in Colon Cancer. *J. Oncol.* 2019;2019:1–12. doi: 10.1155/2019/5636272.)



Εικόνα 15. Βακτηριακοί μηχανισμοί ορθοκολικής καρκινογένεσης

(Ανατύπωση από: Dai Z, Zhang J, Wu Q, et al. The role of microbiota in the development of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2019;145(8):2032-2041.)

2.6 ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΟΡΘΟΚΟΛΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Λόγω της άρρηκτης σύνδεσης του με την εντερική νεοπλασία, πολυάριθμες μελέτες επικεντρώνονται στη μελέτη της επίδρασης του ΕΜ στη θεραπεία του ΟΚΚ. Εκτός των κλασικών χημειοθεραπευτικών σχημάτων και της ακτινοθεραπείας, δεδομένα προκλινικών και κλινικών μελετών, συσχετίζοντας πολλαπλές θεραπευτικές μεταβλητές αναδεικνύουν την συνεργιστική δράση του ΕΜ με δυνητικούς θεραπευτικούς παράγοντες όπως τους αναστολείς ανοσολογικών σημείων ελέγχου ICIs (immune checkpoint inhibitors) [156]. Ταυτόχρονα η αποτελεσματικότητα διαφόρων ανοσοκατασταλτικών θεραπευτικών παραγόντων φαίνεται πως εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του εντερικού μικροπεριβάλλοντος.

2.6.1 Συστηματικές αντινεοπλασματικές θεραπείες

Χημειοθεραπεία

Το ΕΜ επιδρά στην αποτελεσματικότητα των τυπικών χημειοθεραπευτικών σχημάτων. Για παράδειγμα, είναι γνωστό πως ορισμένα βακτηριακά στελέχη ρυθμίζουν την κυτταροτοξικότητα του θεραπευτικού σχήματος, μεσολαβώντας στην μεταβολική επεξεργασία των αντικαρκινικών παραγόντων. Η οξαλιπλατίνη είναι μια αντινεοπλασματική χημειοθεραπευτική ουσία, που ανήκει στην κατηγορία παραγώγων πλατίνης, χρησιμοποιούμενη ευρέως στη θεραπεία του ΟΚΚ και αλληλεπιδρά με το γενετικό υλικό σχηματίζοντας ένδο- και διακλωνικές διασταυρούμενες γέφυρες, αναστέλλοντας με αυτόν τον τρόπο την αντιγραφή και τη μετάφραση του DNA, προκαλώντας κυτταρικό θάνατο [157]. Το χημειοθεραπευτικό σχήμα με οξαλιπλατίνη, επάγει αντινεοπλασματικές επίκτητες ανοσοαποκρίσεις κυρίως μέσω της ενεργοποίησης εκτελεστικών κασπασών και την έκκριση μοριακών μοτίβων που σχετίζονται με βλάβες (Damage-associated molecular patterns, DAMPs), όπως οι πρωτεΐνες καλρετικουλίνη, HMGB1 (high mobility group box 1 protein), CXCL10 και ανεξίνη A1 [158]. Ωστόσο σε ένα ανοσολογικά ασταθές περιβάλλον αναστέλλεται η κυτταροτοξική δράση της οξαλιπλατίνης. Παράλληλα η αντινεοπλασματική δράση της οξαλιπλατίνης βασίζεται στην λειτουργική ακεραιότητα του ΕΜ. Διατάραξη της εντερικής μικροχλωρίδας με ευρέως φάσματος αντιβιοτικά μειώνει την

κυτταροτοξικότητα της οξαλιπλατίνης αναστέλλοντας την παραγωγή ROS μέσω της ενεργοποίησης του ενζύμου NADPH oxidase NOX2 από μυελοκύτταρα που διηθούν τον όγκο. Οι ROS θεωρούνται απαραίτητα στοιχεία της αντινεοπλασματικής δράσης της οξαλιπλατίνης. Το EM αλληλεπιδρά με την γονοτοξική ικανότητα της οξαλιπλατίνης έναντι των καρκινικών κυττάρων, ενισχύοντας τη παραγωγή ROS από τα διηθητικά μυελοκύτταρα [159]. Επιπρόσθετα, άλλοι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες όπως η ανθρακυκλίνη, η καμπθοεκίνη και αλκυλιωτικοί παράγοντες, οι οποίοι στηρίζουν την αντινεοπλασματική δράση τους στην ενεργοποίηση ROS, επηρεάζονται από τον συγκεκριμένο ρυθμιστικό μηχανισμό. Η οξαλιπλατίνη οδηγεί σε απόπτωση τα επιθηλιακά κύτταρα των υγιών εντερικών κρυπτών που εντοπίζονται στον ειλέο αλλά όχι στο κόλο, διαταράσσοντας την δομική ακεραιότητα του εντεροεπιθηλιακού φραγμού οδηγώντας κατ' αυτόν τον τρόπο σε δυσβιωτικά φαινόμενα και συστηματική φλεγμονή σε ασθενείς με καρκίνο του εγγύς κόλου [160]. Η απόπτωση των ειλεϊκών κρυπτών συνδέεται με αλλαγές στη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας του ειλεού και ειδικότερα σε επικράτηση της οικογένειας των Erysipelotrichaceae έναντι της οικογένειας των Fusobacteriaceae [158].

Η καπεσιταβίνη, η οποία λειτουργεί σαν ένα από του στόματος χορηγούμενος μη-κυτταροτοξικός πρόδρομος της κυτταροτοξικής 5-φθοριοουρακίλης αναστέλλει τη δράση της θυμιδικής συνθάσης επηρεάζοντας την αντιγραφή του DNA και χρησιμοποιείται συνδυαστικά με την οξαλιπλατίνη σε μεταστατικούς ΟΚΚ. Το EM διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην δραστηριότητα των φθοριοπυριμιδινών ενισχύοντας ή καταστέλλοντας τη δραστηριότητά τους μέσω μεταβολικών αλληλομετατροπών που περιλαμβάνουν τις βακτηριακές βιταμίνες B6, B9 και τον μεταβολισμό των νουκλεοτιδίων [158].

Η γεμισιταβίνη είναι ένα νουκλεοσιδικό ανάλογο που χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το χημειοθεραπευτικό σχήμα FOLFOX σε ασθενείς με ΟΚΚ. Συγκεκριμένα βακτηριακά στελέχη μεταβολίζουν την γεμισιταβίνη στην ανενεργή μορφή της. Ο μεταβολισμός του φαρμάκου εξαρτάται από την έκφραση ενός βακτηριακού ενζύμου, της απαμινάσης της κυτιδίνης CDD_L (cytidine deaminase), το οποίο συναντάται σε βακτήρια της κλάσης των Gammaproteobacteria. Σε πειραματικό μοντέλο ορθοκολικής καρκινογένεσης σε επίμυες, προέκυψε πως η αντίσταση στην γεμισιταβίνη επάγεται από βακτηριακούς πληθυσμούς Gammaproteobacteria εντός του νεοπλάσματος και εξαρτάται από την έκφραση της βακτηριακής απαμινάσης της κυτιδίνης ενώ αναστέλλεται από την φθοριοκινολόνη σιπροφλοξασίνη [161].

Το EM σχετίζεται με την χημειοθεραπευτική αντίσταση μέσω της αυτοφαγίας των καρκινικών εντεροκυττάρων. Συγκεκριμένα το βακτηριακό στέλεχος *F. nucleatum* συνδέεται με την χημειοθεραπευτική αντίσταση στην οξαλιπλατίνη και την 5-φθοριοουρακίλη μέσω των αυτοφαγικών πρωτεϊνών ULK1 και ATG7, την ενεργοποίηση της TLR4/MyD88 εξαρτώμενης ανοσιακής απάντησης και την γενωμική απώλεια συγκεκριμένων μικροδορυφορικών αλληλουχιών (miR-18a και miR-4802)

[162]. Επιπρόσθετα το αντινεοπλασματικό φάρμακο ιρινοτεκάνη, ένας αναστολέας του ενζύμου τοποϊσομεράση-I, μετατρέπεται στο τυφλό από την β-γλυκουρονιδάση του βακτηριακού στελέχους E.coli στον ενεργό μεταβολίτη του SN-38 προκαλώντας δοσοεξαρτώμενη διάρροια. [158] Αποτελέσματα πειραματικών μελετών σε Αγουτί επίμυες ανέδειξαν την αύξηση συγκεκριμένων βακτηριακών πληθυσμών τα στελέχη των οποίων παράγουν β-γλυκουρονιδάση (E.coli, Clostridium spp. και Staphylococcus spp.) και μείωση αυτών των οποίων τα στελέχη δεν παράγουν το συγκεκριμένο ένζυμο (Bifidobacterium spp. and Lactobacillus spp.), έπειτα από χορήγηση μιας μόνο δόσης ιρινοτεκάνης [163]. Η κυκλοφωσφαμίδη επάγει αντινεοπλασματικές ανοσιακές αποκρίσεις, αποπτωτικά φαινόμενα και καταστροφή κατασταλτικών T λεμφοκυττάρων ή ενεργοποίηση βοηθητικών Th1 και Th17 λεμφοκυττάρων [164]. Επιπρόσθετα το συγκεκριμένο χημειοθεραπευτικό μόριο μεταβάλλει τη σύσταση των βακτηριακών πληθυσμών του εντερικού μικροβιώματος, μειώνοντας τα γένη των lactobacilli και enterococci και προκαλώντας τη μεταφορά Gram-θετικών βακτηρίων στα δευτερογενή λεμφικά όργανα. Οι τροποποιήσεις του εντερικού μικροπεριβάλλοντος, έχουν ως αποτέλεσμα μεταβολές στη σύσταση του EM, ελαττώνοντας τον αριθμό των συμβιωτικών μικροοργανισμών όπως το στέλεχος Lactobacillus spp., δίνοντας έτσι ένα συγκριτικό πλεονέκτημα αποικισμού σε άλλα δυνητικά παθογόνα στελέχη όπως το E. coli.

Ακτινοθεραπεία

Το EM σχετίζεται άμεσα με την απόκριση στην ακτινοθεραπεία. Λειτουργικές μεταβολές κατά μήκος του παχέως εντέρου που ενισχύονται με διάφορες φλεγμονώδεις διεργασίες αποτελούν μέρος της κυτταροτοξικής δράσης της ακτινοθεραπείας στο ταχέως πολλαπλασιαζόμενο εντερικό επιθήλιο. Η ιονίζουσα ακτινοβολία ενεργοποιεί παράγοντες του συστήματος πήξης, δημιουργώντας ελκωτικού τύπου βλάβες οι οποίες εκθέτουν υποκείμενες του εντεροεπιθηλιακού φραγμού δομές σε δυνητικά παθογόνα βακτηριακά στελέχη, αυξάνοντας τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις λόγω προσαρμογής του ανοσοποιητικού συστήματος στη βακτηριακή διαμετάθεση [165]. Ανάλυση του EM ασθενών έπειτα από ακτινοθεραπεία, ανέδειξε μείωση των πληθυσμών συμβιωτικών βακτηρίων που ανήκουν στα γένη Bifidobacterium, Faecalibacterium, και Clostridium spp, ενώ αντίθετα αύξηση σε πληθυσμούς των γενών Bacteroides και Enterococcus spp [166]. Παράλληλα η ακτινοβολία στην περιοχή της πυέλου σχετίζεται με αύξηση κατά 3% στην βακτηριακή τάξη Fusobacteria [167]. Επιπρόσθετα, αποτελέσματα σχετικής πειραματικής μελέτης έδειξαν πως η ακτινοθεραπεία σχετίζεται με αύξηση των αποικιών του βακτηριακού γένους Alistipes και μείωση του πληθυσμού του γένους Prevotella, στο παχύ έντερο [168]. Η φλεγμονώδης βλάβη των επιθηλιακών εντεροκυττάρων λόγω προηγηθείσας ακτινοθεραπείας, έχει ως αποτέλεσμα

ποσοτικές και ποιοτικές μεταβολές στη σύσταση του ΕΜ οδηγώντας έτσι σε περαιτέρω φλεγμονώδεις διεργασίες και ιστικές βλάβες εντοπισμένες στο εντερικό μικροπεριβάλλον.

Ανοσοθεραπεία

Το ανοσοποιητικό σύστημα διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στην εξέλιξη όσο και στη θεραπεία της ορθοκολικής καρκινογένεσης. Η ανεπαρκής απόκριση ασθενών στα χημειοθεραπευτικά σχήματα, οδήγησε στην εξεύρεση ποικίλων θεραπευτικών στρατηγικών που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα όπως εμβόλια (αυτόλογα, πεπτιδικά, δενδριτικών κυττάρων, βακτηριακά και ικών φορέων), αγωνιστές των υποδοχέων Toll-like (Toll-like receptor agonists), θεραπεία βασισμένη στη χρήση κυτοκινών, αυτόλογες κυτταρικές θεραπείες και ICIs. Τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα των ανοσοθεραπευτικών παραγόντων σχετίζονται με τη ρύθμιση του ανοσολογικού μικροπεριβάλλοντος από τη σύσταση και τους χαρακτήρες του ΕΜ. Το ΕΜ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μορφοποίηση και τη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης. Συμβιωτικά βακτηριακά στελέχη ρυθμίζουν τις ανοσιακές αποκρίσεις παράγοντας μόρια που μεσολαβούν στην αλληλεπίδραση ξενιστή-μικροβιώματος. Βακτηριακά στελέχη του γένους *Fusobacterium* επιδρούν στο ορθοκολικό νεοπλασματικό μικροπεριβάλλον, επάγοντας τη δράση των MDSCs. Οι ICIs είναι μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία δρουν σε ανασταλτικά μόρια και σηματοδοτικά μονοπάτια, όπως ο πρωτεϊνικός υποδοχέας CTLA-4 και ο βιοχημικός διάυλος PD-1/PD-L1 επάγοντας την απόπτωση των T-λεμφοκυττάρων και έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στην κλινική πράξη [169]. Ορθοκολικά νεοπλάσματα με ελαττωματικό μηχανισμό MMR ή με φαινότυπο MSI εμφανίζουν καλή απόκριση στη θεραπεία με αναστολείς ανοσολογικών σημείων ελέγχου [170]. Το ΕΜ επηρεάζει την αποτελεσματική αναστολή των πρωτεϊνικών μορίων CTLA-4 και PD-L1. Εντερικά νεοπλάσματα έχουν φτωχή απόκριση στη θεραπευτική αναστολή του υποδοχέα CTLA-4, σε πειραματικές μελέτες με επίμυες στείρου εντερικού περιεχομένου (germ free), ή επίμυες που τους είχαν χορηγηθεί ευρέως φάσματος αντιβιοτικά σε σύγκριση με επίμυες με εντερικό περιεχόμενο ελεύθερο συγκεκριμένων παθογόνων SPF (specific-pathogen-free) [165]. Το αντίσωμα που στοχεύει στον υποδοχέα CTLA-4 επάγει την εξαρτώμενη από τα T-λεμφοκύτταρα απόπτωση των εντεροεπιθηλιακών κυττάρων, προκαλώντας βλάβες που εκθέτουν τον εντερικό βλεννογόνο σε δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς και τροποποιώντας τον πληθυσμό των βακτηριακών στελεχών του γένους *Bacteroides* [171]. Επιπρόσθετα η αφθονία βακτηριακών στελεχών *B. fragilis* σε δείγματα κοπράνων σχετίζεται αρνητικά με το μέγεθος του νεοπλάσματος έπειτα από την αναστολή του CTLA-4 υποδοχέα. Παράλληλα η αναστολή της πρωτεΐνης PD-L1 ενισχύεται από τη δράση βακτηριακών στελεχών των γενών *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Clostridiales* και *Bifidobacterium* [172]. Το βακτηριακό στέλεχος

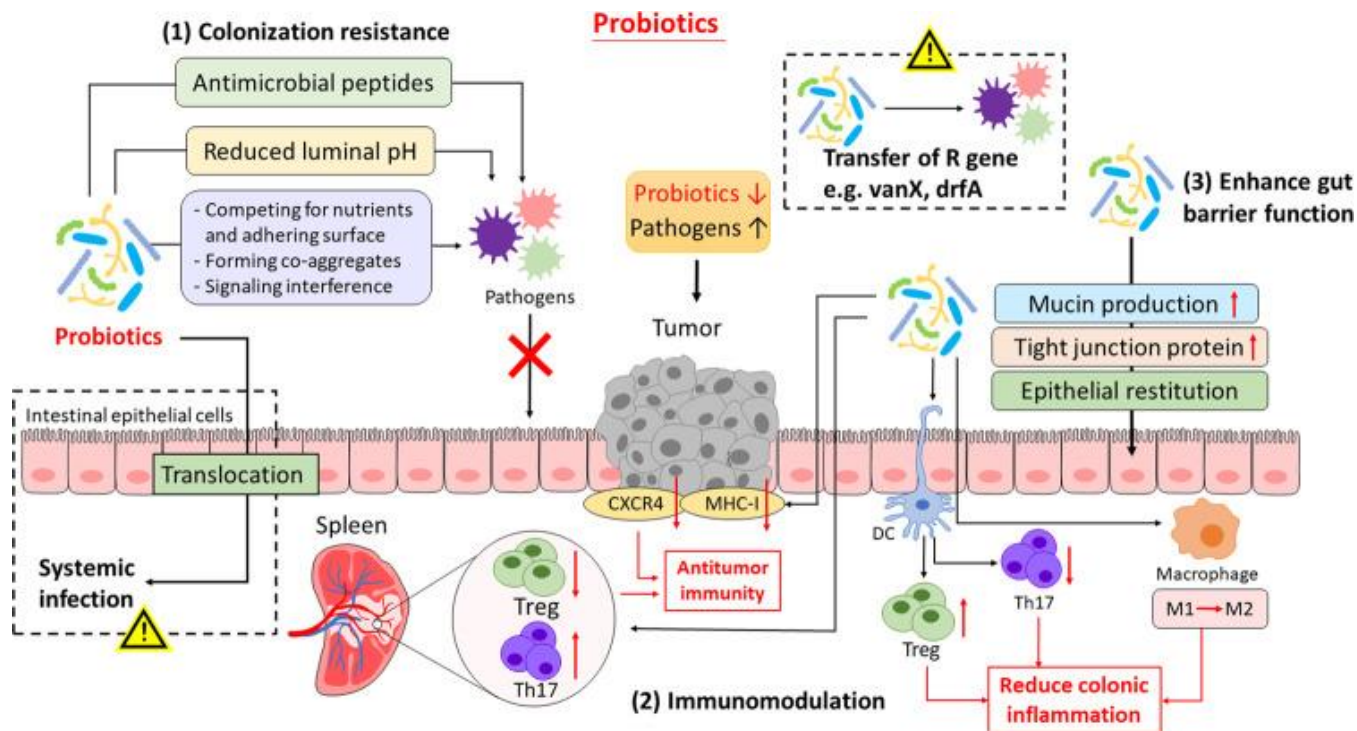
Akkermansia muciniphila βελτιώνει την αποτελεσματικότητα των ανοσοθεραπευτικών παραγόντων λόγω της επίδρασης του με δενδριτικά κύτταρα στους λεμφοαδένες [172]. Επίσης το βακτήριο Bacteroides spp. επάγει τις αντινεοπλασματικές ανοσολογικές αποκρίσεις των βοηθητικών και κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων [171]. Ταυτόχρονα, οι ασθενείς που παρουσιάζουν καλή απόκριση στην ανοσοθεραπεία με αναστολείς PD-L1 σχετίζονται με αυξημένους βακτηριακούς πληθυσμούς των γενών Faecalibacterium και Ruminococcaceae σε σύγκριση με τους ασθενείς με πτωχή απόκριση [173]. Το βακτηριακό στέλεχος Bifidobacterium pseudolongum παράγει ινοσίνη, έναν μεταβολίτη που δρα στον υποδοχέα της αδενοσίνης A_{2A} που εκφράζεται από τα λεμφοκύτταρα που διηθούν τον όγκο και βελτιώνοντας τη δραστηριότητα των ανασταλτικών αντισωμάτων PD-1 και CTLA-4 σε MC38 επίμυες με ΟΚΚ. Το συγκεκριμένο στέλεχος επιδρά στη συστηματική ανοσορρύθμιση μέσω της συσχέτισής του με τα λεμφοκύτταρα που διηθούν τον όγκο και την έκκριση IFN- γ από τα CD4⁺ and CD8⁺ T λεμφοκύτταρα. Τα αντιβιοτικά σχετίζονται με μειωμένη δραστηριότητα των ICIs, ειδικά όταν συγχωρηγούνται με αναστολείς αντλίας πρωτονίων ή κορτικοστεροειδή. Λόγω της προκαλούμενης μικροβιωτικής δυσβίωσης και της αναστολής της ικανότητας ρύθμισης του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, τόσο σε τοπικό όσο και σε συστηματικό επίπεδο θεωρείται αναγκαία η διερεύνηση της σχέσης μεταξύ αντιβιοτικών μικροβιώματος και ανοσοθεραπείας. Ο Lida και οι συνεργάτες ανέδειξαν τη ρυθμιστική αλληλεπίδραση μεταξύ του EM και της ανοσοθεραπείας με ολιγοδεοξυνουκλεοτίδια φωσφορικής κυτοσίνης-γουανίνης CpG ODN (cytosine-phosphate-guanine oligodeoxynucleotide) [159]. Σε πειραματικό μοντέλο ορθοκολικής καρκινογένεσης MC38 επίμυων, η συνδυαστική ανοσοθεραπεία με CpG ODN και αντισώματος για τον υποδοχέα της IL-10, επιδρά στην ανάπτυξη του νεοπλάσματος και στο προσδόκιμο επιβίωσης μέσω επαγωγής της TNF εξαρτώμενης κυτταροτοξικής απόκρισης των CD8⁺ T λεμφοκυττάρων [159]. Η συγκεκριμένη επίδραση περιορίστηκε ύστερα από τη χορήγηση ευρέως φάσματος αντιβιοτικών σε επίμυες στείρου εντερικού περιεχομένου. Συγκεκριμένα γένη μικροβιακών στελεχών όπως το Alistipes shahii και το Ruminococcus, σχετίζονται με την έκκριση του παράγοντα νέκρωσης όγκων TNF από τα MDSCs, ενώ άλλα στελέχη γενών όπως το Lactobacillus fermentum αναστέλλουν την συγκεκριμένη απόκριση [159]. Από τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων μελετών προκύπτει πως το EM ρυθμίζει την αντινεοπλασματική δραστηριότητα των θεραπευτικών παραγόντων επιδρώντας σε παράγοντες του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ετερογένεια της θεραπευτικής απόκρισης σχετίζεται με τα χαρακτηριστικά του EM, άρα η τροποποίηση της σύστασης της μικροχλωρίδας του εντέρου μπορεί να συμβάλλει στη βελτίωση της δραστηριότητας του ανοσοθεραπευτικού σχήματος.

2.6.2 Η ρύθμιση του εντερικού μικροβιώματος ως αντινεοπλασματική παρέμβαση

Προβιοτικά

Ως προβιοτικά ορίζονται ζώντες μικροοργανισμοί οι οποίοι επιδρούν ευεργετικά στον ξενιστή όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες [174]. Τα προβιοτικά αποκαθιστούν την μικροβιωτική δυσβίωση διατηρώντας την ισορροπία του ΕΜ αποικίζοντας τους ιστούς του ξενιστή και αποτρέποντας με αυτόν τον τρόπο τον αποικισμό και τις επικείμενες λοιμώξεις από παθογόνα βακτηριακά στελέχη όπως το *Clostridium difficile* και *Staphylococcus aureus* [175,176]. Τα προβιοτικά παράγουν μεταβολίτες όπως το γαλακτικό οξύ, το οξικό οξύ και βακτηριοσίνες, οι οποίοι αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων βακτηριακών στελεχών, μειώνοντας το pH του εντερικού αυλού [177]. Ο αποτρεπτικός χαρακτήρας των προβιοτικών ως προς την εμφάνιση λοιμώξεων από παθογόνα βακτηριακά στελέχη, μειώνει τα επίπεδα της φλεγμονής στο εντερικό μικροπεριβάλλον, προλαμβάνοντας την ανάπτυξη ορθοκολικών νεοπλασμάτων, αλλά και μειώνοντας τις επιπλοκές σε ασθενείς με τέτοιου είδους βλάβες. Ταυτόχρονα τα προβιοτικά έχουν επίδραση στη ανοσολογική ρύθμιση του εντερικού βλεννογόνου. Μέσω της επίδρασης τους με TLR υποδοχείς, επάγοντας το μεταβολισμό του ρετινοϊκού οξέος, συγκεκριμένα προβιοτικά στέχη όπως το *Bifidobacterium infantis* και το *Bifidobacterium breve*, ενεργοποιούν τα δενδριτικά κύτταρα του εντέρου, οδηγώντας σε έκφραση Foxp3⁺ T ρυθμιστικών κυττάρων, τύπου 1 ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων και έκκριση IL-10 [178]. Άλλα προβιοτικά στέχη όπως το *Lactobacillus rhamnosus* GG και το *Lactobacillus acidophilus*, διακόπτουν την έκφραση των βοηθητικών T λεμφοκυττάρων (Th17) και την έκφραση της ιντερλευκίνης-23 (IL23) και της ιντερλευκίνης-17 (IL17), αναστέλλοντας τις σηματοδοτικές οδούς STAT3 και NF-κB ή μετατρέποντας τα μακροφάγα από τον προ-φλεγμονώδη φαινότυπο M1 στον ανοσοκατασταλτικό M2 [178]. Η ενεργοποίηση των ανοσοαποκρίσεων μέσω της δράσης των προβιοτικών σχετίζεται με αυξημένη δραστηριότητα των μακροφάγων και των κυττάρων φυσικών φονέων NK. Το προβιοτικό στέλεχος με προ-φλεγμονώδη χαρακτηριστικά *Lactobacillus casei* BL23, εμφανίζει αντινεοπλασματικούς χαρακτήρες σε πειραματικά μοντέλα ορθοκολικής καρκινογένεσης επαγόμενης από διμεθυλϋδραζίνη σε επίμυες. Σε επίπεδο εντερικού μικροπεριβάλλοντος το συγκεκριμένο στέλεχος αναστέλλει τη δράση της χυμοκίνης MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) και του παράγοντα TNF-α, ενώ ενεργοποιεί την ιντερλευκίνη IL-10, ενώ σε συστηματικό επίπεδο επάγει μια μεικτού τύπου Th17/Treg ανοσιακή απόκριση [179]. Παράλληλα το στέλεχος *Lactobacillus casei* BL23 αναστέλλει τη δράση της ιντερλευκίνης-22 (IL-22), ενώ ενισχύει την έκφραση των κασπασών 7 και 9 και

της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bik. Επίσης το προβιοτικό στέλεχος *Lactobacillus acidophilus* NCFM, καταστέλλει την ανάπτυξη των νεοπλασμάτων σε μοντέλο CT-26 ορθοκολικής καρκινογένεσης σε επίμυες λόγω μειωμένης έκφρασης του υποδοχέα χημειοκινών CXCR4, ο οποίος εμπλέκεται στην ανάπτυξη μικρομεταστάσεων, αλλά και αναστολή του μορίου MHC τάξης I [180]. Παράλληλα η διαγραφή του λιποτειχοϊκού οξέος μεσολαβεί στην έκφραση προ-φλεγμονωδών μεσολαβητών, επάγοντας τη φλεγμονή στο εντερικό μικροπεριβάλλον και κατ'επέκταση την εκκίνηση την ορθοκολικής νεοπλασίας [181]. Προβιοτικά στελέχη όπως το *Lactobacillus rhamnosus*, το *Lactobacillus plantarum* και ο υπότυπος *Escherichia coli* Nissle 1917 φαίνεται πως βελτιώνουν τη λειτουργία του εντεροεπιθηλιακού φραγμού, αυξάνοντας την έκφραση πρωτεϊνών στενών συνάψεων μεταξύ των εντεροεπιθηλιακών κυττάρων όπως οι πρωτεΐνες claudin-1, occludin, ZO-1 και ZO-2, διεγείροντας την παραγωγή βλεννίνης, καταστέλλοντας τη φλεγμονή και αποκαθιστώντας τις επιθηλιακές βλάβες, αποτρέποντας έτσι την επιθήλιο-μεσεγγυματική μετατροπή και τη δημιουργία μεταστάσεων [178]. Το στέλεχος *Lactobacillus rhamnosus* μειώνει τη σοβαρότητα των επεισοδίων διάρροιας και της γαστρεντερικής βλεννογονίτιδας που οφείλονται σε επικουρική χημειοθεραπεία με 5-FU, αυξάνει τη δράση του αποπτωτικού ρυθμιστή BAX, του παράγοντα TNF- α , της IL-6 και τον αριθμό των NF- κ B-ενεργοποιημένων κυττάρων. Ωστόσο από τη χορήγηση προβιοτικών σε ασθενείς με ΟΚΚ προκύπτουν ζητήματα ασφαλείας όπως η πιθανότητα βακτηριακής αλλόθεσης και οριζόντιας μεταφοράς ανθεκτικών γονιδίων μεταξύ στελεχών του βακτηριακού μικροβιώματος και της επαγόμενης από το γεγονός αυτό αντιμικροβιακής ανοχής [178].



Εικόνα 16. Μηχανισμοί δράσης και σχετιζόμενοι κίνδυνοι προβιοτικών

(Ανατύπωση από: Fong W, Li Q, Yu J. Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. *Oncogene*. 2020;39(26):4925-4943.)

Πρεβιοτικά

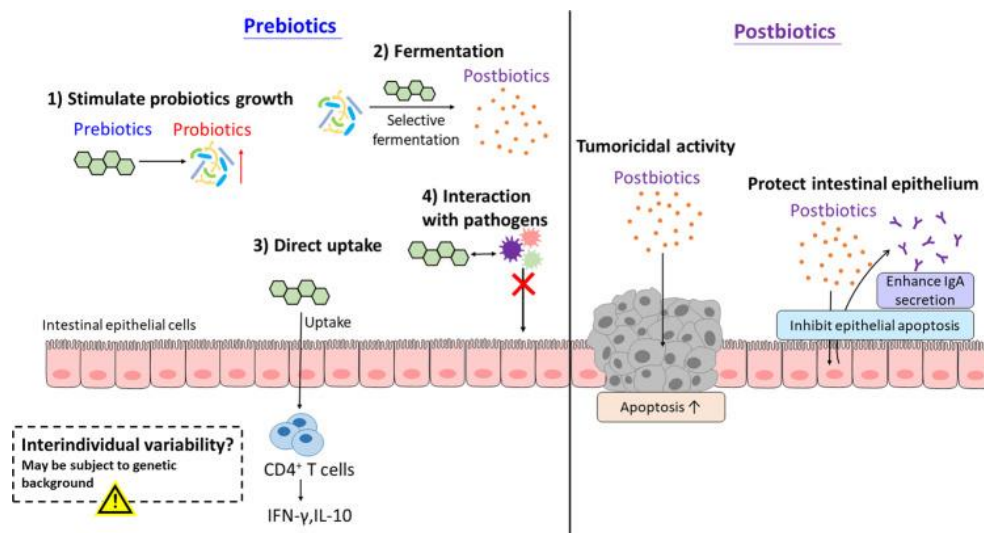
Ο όρος πρεβιοτικό, χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά το 1995 από τους Gibson και Roberfroid, περιγράφοντας διατροφικά συστατικά που δεν συμμετέχουν στη διαδικασία της πέψης και επιλεκτικά επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα συγκεκριμένων βακτηριακών στελεχών που αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα, βελτιώνοντας έτσι την υγεία του ξενιστή [182]. Σύμφωνα με τον τελευταίο ορισμό, ως πρεβιοτικό ορίζεται κάθε υπόστρωμα που εμπεριέχει φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες, γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες και λιγότερο ξυλο-ολιγοσακχαρίτες το οποίο επιλεκτικά χρησιμοποιείται από τους συμβιωτικούς με τον ξενιστή μικροοργανισμούς προς όφελος της υγείας του ξενιστή. Ο όρος “μη απορροφήσιμα διατροφικά συστατικά” περιλαμβάνει εκτός από τα πρεβιοτικά που βασίζονται στους υδατάνθρακες και τις φυτικές ίνες και άλλες ουσίες όπως τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) και τις πολυφαινόλες [183]. Η χορήγηση πρεβιοτικών ρυθμίζει τη σύσταση του EM και συγκεκριμένα αυξάνει τους προβιοτικούς πληθυσμούς των *Faecalibacterium Akkermansia*, *Ruminococcus* και *Roseburia*, οδηγώντας σε μείωση του αποικισμού από παθογόνα βακτήρια άρα και τη

δημιουργία φλεγμονώδους εντερικού μικροπεριβάλλοντος [178]. Επιπρόσθετα τα προβιοτικά στελέχη του κόλου αλληλεπιδρούν με πρεβιοτικά, παράγοντας SCFAs όπως το οξικό οξύ, το προπιονικό οξύ και το βουτυρικό οξύ. Συγκεκριμένα το βουτυρικό οξύ χρησιμοποιείται από τα κολοκύτταρα ως η κύρια ενεργειακή πηγή, ενώ η δράση του ως αναστολέας της ιστονικής αποακετυλάσης δεικνύει θετικά αποτελέσματα σε ασθενείς με ΟΚΚ, επάγοντας την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων, μειώνοντας τη φλεγμονή, ρυθμίζοντας το οξειδωτικό στρες και ενισχύοντας τη δομική και λειτουργική ακεραιότητα του εντεροεπιθηλιακού φραγμού [184]. Αντιστοιχα δεδομένα από πρόσφατες μελέτες συσχετίζουν το ρόλο του οξικού και προπιονικού οξέος με την καταστολή της φλεγμονής και την προστατευτική δράση τους έναντι σε εντερικές λοιμώξεις. Παράλληλα οι γλυκοσίδες ginsenoside-Rb3 και ginsenoside-Rd μειώνουν το μέγεθος και τον αριθμό των πολυπόδων και αποκαθιστούν την μικροβιακή ισορροπία στο δυσβιωτικό εντερικό μικροπεριβάλλον, σε πειραματικό μοντέλο ορθοκολικής καρκινογένεσης σε $Apc^{Min/+}$ επίμυες, επάγοντας την ανάπτυξη των βακτηρίων που παράγουν SCFAs. Επίσης τα πρεβιοτικά λόγω της δομικής συσχέτισης των ολιγοσακχαριτών τους με τις γλυκάνες των μικρολαχνών μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τους βακτηριακούς υποδοχείς και να αποτρέψουν τα παθογόνα στελέχη να προσκολληθούν στα εντεροεπιθηλιακά κύτταρα επομένως και να αποικίσουν τον εντερικό βλεννογόνο [185]. Πρεβιοτικά με μικρό βαθμό πολυμερισμού επάγουν την έκκριση $IFN-\gamma$ και $IL-10$ από τα $CD4^+$ T λεμφοκύτταρα, ρυθμίζοντας την ανοσιακή απόκριση του ξενιστή [186]. Σε συγχορήγηση με ένα πρεβιοτικό όπως η ινουλίνη, οι προβιοτικοί υπότυποι *Lactobacillus rhamnosus* GG και *Bifidobacterium lactis* Bb12 τροποποιούν την μικροχλωρίδα των κοπράνων αυξάνοντας τους ωφέλιμους πληθυσμούς των *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* και μειώνοντας τον πληθυσμό του παθογόνου στελέχους *Clostridium*.

Μεταβιοτικά

Ο όρος μεταβιοτικά αναφέρεται σε υδατοδιαλυτά παραπροϊόντα και μεταβολίτες, όπως ένζυμα, πεπτίδια, τειχοϊκά οξέα, πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες κυτταρικής επιφανείας, βιταμίνες, οργανικά οξέα και πλασμαλογόνα, που εκκρίνονται από βακτηριακά στελέχη της εντερικής μικροχλωρίδας επιδρώντας σε διάφορες λειτουργίες του ξενιστή. Τα SCFAs που παράγονται από τη διαδικασία της προβιοτικής ζύμωσης είναι το γνωστότερο παράδειγμα μεταβιοτικών και δρουν καταστέλλοντας την έκφραση προφλεγμονωδών μεσολαβητών όπως η $IL-6$, ο παράγοντας $TNF-\alpha$, η $IL-17$, η $COX-2$ και το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα $NF-\kappa B$. Αρκετά μεταβιοτικά θεωρείται πως καταστέλλουν την εντερική φλεγμονή και αποκαθιστούν την δομική ακεραιότητα του εντεροεπιθηλιακού φραγμού σε ασθενείς με ΟΚΚ. Η πρωτεΐνη p40 του στελέχους *Lactobacillus rhamnosus* GG αναστέλλει την επαγόμενη από κυτοκίνες απόπτωση των εντεροεπιθηλιακών κυττάρων και τη διατάραξη του εντεροεπιθηλιακού φραγμού, ενώ

ενισχύει την έκφραση της ανοσοσφαιρίνης A μέσω trans-ενεργοποίησης του υποδοχέα EGFR. Σε αντίθεση με τη μονοθεραπεία με αντίσωμα για τον υποδοχέα CTLA-4, η συγχρόνηση προϊόντων λύσης του βακτηριακού κυττάρου *Lactobacillus acidophilus*, ανέστειλε την εξέλιξη της ορθοκολικής νεοπλασίας σε επίμυες, δεικνύοντας έτσι μια ενισχυτική αλληλεπίδραση μεταξύ των μεταβιοτικών ουσιών και του αναστολέα του υποδοχέα CTLA-4, η οποία οδήγησε σε αύξηση του πληθυσμού των CD8+T λεμφοκυττάρων, μείωση των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων και ενεργοποίηση του φαινοτύπου M2 των μακροφάγων, στο νεοπλασματικό εντερικό μικροπεριβάλλον [187]. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με δεδομένα πειραματικών μελετών, ορισμένα μεταβιοτικά όπως η γαλακτική αφυδρογονάση που παράγεται από στελέχη του είδους *Lactobacillus*, ενισχύουν αποπτωτικά φαινόμενα και αποτρέπουν τη νεοπλασματική διήθηση παρακείμενων του όγκου υγιών ιστών. Πρόσφατη μελέτη ανέδειξε την δυνητικά αντινεοπλασματική δράση του υπερδιηθήματος του βακτηριακού στελέχους *Lactobacillus casei* ATCC334 και συγκεκριμένα την πρόκληση αποπτωτικών μηχανισμών μέσω της ενεργοποίησης του σηματοδοτικού άξονα JNK-DDIT3 από το πολυπεπτίδιο ferrichrome [188]. Το απομονωθέν μεταβιοτικό είχε ελάχιστη επίδραση στο φυσιολογικό εντερικό επιθήλιο και ισχυρότερη αντινεοπλασματική δράση από πολλούς συμβατικούς θεραπευτικούς παράγοντες.



Εικόνα 17. Μηχανισμοί δράσης πρεβιοτικών και μεταβιοτικών μορίων.

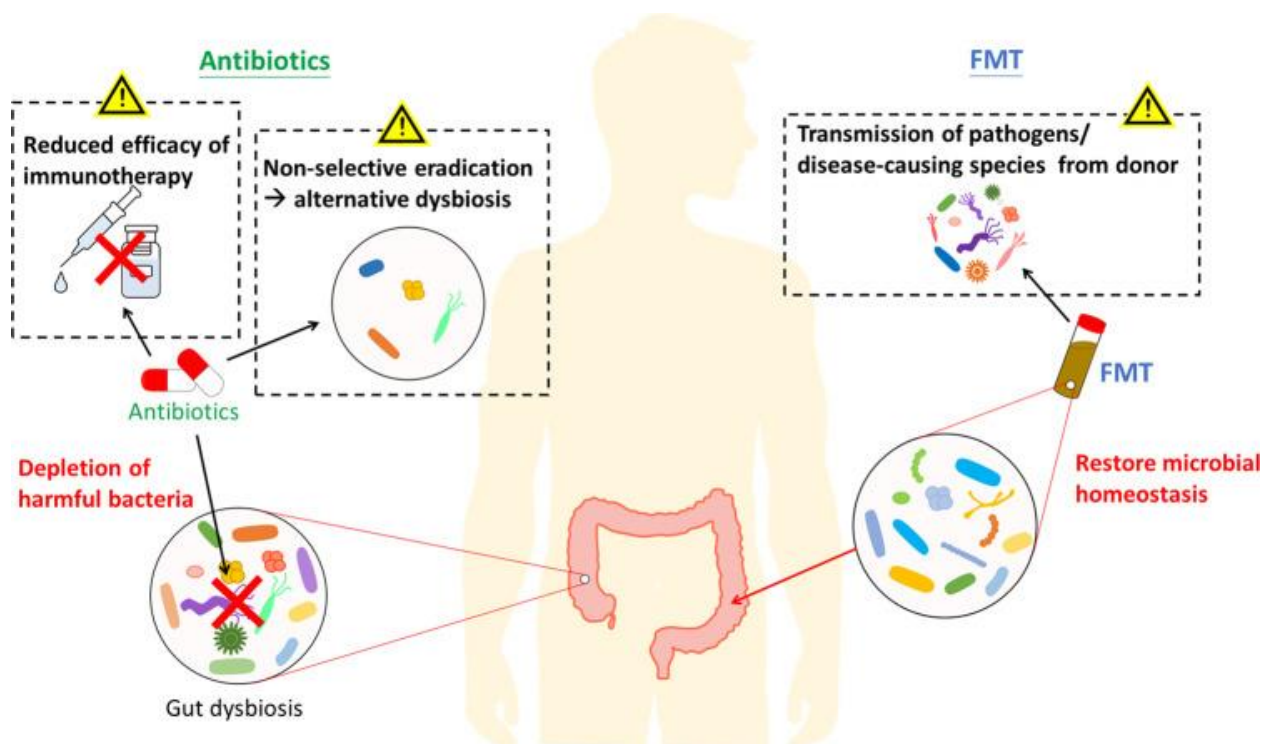
(Ανατύπωση από: Fong W, Li Q, Yu J. Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. *Oncogene*. 2020;39(26):4925-4943.)

Αντιβιοτικά

Η χορήγηση αντιβιοτικών με σκοπό την αντιρρόπηση της μικροβιακής δυσβίωσης αποτελεί μια σύγχρονη θεραπευτική προσέγγιση στην αντιμετώπιση του ΟΚΚ. Η μείωση των μικροβιακών πληθυσμών λόγω χορήγησης αντιβιοτικών φαίνεται πως σχετίζεται με αναστολή της εξέλιξης της ορθοκολικής νεοπλασίας κυρίως λόγω της εξάλειψης βακτηρίων με δυνητική καρκινογενή δράση όπως το στέλεχος *B. fragilis*, αλλά και στελεχών που σχετίζονται με αποδόμηση της βλεννίνης, φλεγμονή και μεθυλίωση του DNA [178]. Η χορήγηση αντιβιοτικών σχετίζεται με αναστολή του πολλαπλασιασμού, της διήθησης και της ανάπτυξης των νεοπλασματικών εντεροκυττάρων. Η κεφοξιτίνη, μια ημι-συνθετική ευρέως φάσματος κεφαλοσπορίνη μειώνει τον αριθμό των αποκίων του βακτηριακού στελέχους *B.fragilis* και τα επίπεδα της IL-17A και ταυτόχρονα αναστέλλει την εξέλιξη του σχηματισμού αδενωμάτων σε πειραματικό μοντέλο εντερικής νεοπλασίας [187]. Ταυτόχρονα σε πειραματικό μοντέλο ορθοκολικής καρκινογένεσης σε επίμυες, η χορήγηση μετρονιδαζόλης εκριζώνει τις αποικίες του βακτηριακού στελέχους *Fusobacterium* αναστέλλοντας έτσι την εξέλιξη της νεοπλασματικής εξεργασίας [189]. Η ερυθρομυκίνη καταστέλλει την μεταγραφική δραστηριότητα των πρωτεϊνών NF-κB και AP-1 (activator protein-1), της IL-6 και της COX-2 τόσο σε ανθρώπινα καρκινικά εντεροκύτταρα όσο και σε *Apc^{Min/+}* επίμυες [190]. Η βερβερίνη, ένα μέλος της ομάδας των ισοκινολινών με βακτηριοστατική δράση, σχετίζεται με αναστροφή της επαγόμενης από το στέλεχος *Fusobacterium nucleatum* μικροβιακής δυσβίωσης λόγω αύξησης του πληθυσμού των γενών *Tenericutes* και *Verrucomicrobia* σε *Apc^{Min/+}* επίμυες, αναστέλλει την έκκριση της ιντερλευκίνης-21 (IL-21), της IL-22, της ιντερλευκίνης-31 (IL-31), της πρωτεΐνης CD40L, και τις σηματοδοτικές οδούς JAK/STAT και MAPK/ERK [187]. Ωστόσο ο τροποποιητικός ρόλος των αντιβιοτικών στη σύνθεση του ΕΜ για την θεραπευτική διαχείριση των ορθοκολικών νεοπλασμάτων έχει αμφιλεγόμενο χαρακτήρα. Η μη εκλεκτική απαλοιφή βακτηριακών πληθυσμών από τη χορήγηση αντιβιοτικών έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση νέων δυσβιωτικών φαινοτύπων στο εντερικό μικροπεριβάλλον, με χαρακτηριστικές μειωμένης μικροβιακής ποικιλότητας, πληθυσμιακών αλλαγών βακτηριακών στελεχών και αυξημένης ευαισθησίας σε παθογόνους μικροοργανισμούς [191]. Επιπρόσθετα η χορήγηση αντιβιοτικών μειώνει την αποτελεσματικότητα ανοσοθεραπευτικών μορίων αναστέλλοντας τις ανοσιακές αντινεοπλασματικές αποκρίσεις του ξενιστή. Παράλληλα η ποσοτική εξάντληση του ΕΜ φαίνεται πως επιδεινώνει τις τοξικές παρενέργειες της αντινεοπλασματικής θεραπείας, γεγονός που στην κλινική πράξη οδηγεί σε διακοπή ή μείωση της δόσης.

Μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων

Η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων FMT (Faecal microbiota transplantation) περιλαμβάνει τη θεραπευτική χορήγηση μικροβιώματος από υγιείς δότες σε ασθενείς. Η FMT αποτελεί μια άμεση τροποποίηση των χαρακτήρων του EM. Χορηγώντας κοπρανώδες υλικό από υγιείς δότες στη γαστρεντερική οδό ασθενών, εισάγεται μικροβίωμα στείρο παθογόνων μικροοργανισμών σε δυσβιωτικούς μικροβιακούς πληθυσμούς, για την αποκατάσταση της μικροβιακής ομοιότητας. Έχει χρησιμοποιηθεί στη θεραπευτική γαστρεντερικών διαταραχών όπως το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου και η λοίμωξη από *Clostridium difficile* [192]. Παρ' όλο που η κλινική χρήση της FMT στην θεραπεία του OKK αποτελεί αντικείμενο εντατικών ερευνών, δεδομένα πρόσφατης πειραματικής μελέτης σε επίμυες έδειξαν πως η FMT βελτίωσε την αντίσταση στην εξέλιξη του επαγόμενου από κολίτιδα, AOM-DSS, OKK [193]. Σε διαφορετική πειραματική μελέτη ορθοκολικής καρκινογένεσης σε επίμυες, η FMT φαίνεται πως μειώνει το επίπεδο της φλεγμονής, αναστέλλοντας τη δράση των κυτοκινών IL-1β, IL-6, and TNF-α και αυξάνοντας τα επίπεδα των ανοσοκατασταλτικών κυτοκινών IL-10 και TGF-β λόγω της αναστολής λειτουργίας της πρωτεΐνης NF-κΒ. Επιπρόσθετα η τροποποίηση του εντερικού μικροβιώματος με την FMT, καταστέλλει τα επίπεδα της IL-6, της πρωτεΐνης MyD88 και του αριθμού των TLR υποδοχέων, αποκαθιστά τον αριθμό των βλεννοπαραγωγών εντεροκυττάρων, μειώνει τον αριθμό των αποπτωτικών και NF-κΒ- θετικών κυττάρων και αναστέλλει την αντιδραστική κολίτιδα που προκύπτει ως παρενέργεια της χορήγησης του χημειοθεραπευτικού σχήματος FOLFOX για την αντιμετώπιση του OKK [187]. Ο Wang και οι συνεργάτες σε σχετική δημοσίευση κατέγραψαν τις πρώτες περιπτώσεις θεραπείας κολίτιδας εξαρτώμενης από χορήγηση αναστολέων ανοσολογικών σημείων ελέγχου, με διενέργεια FMT και ανασύνθεση του EM [194]. Ωστόσο η χρήση της FMT λόγω έλλειψης μεγάλης κλίμακας προοπτικών μελετών, σχετίζεται με δυνητικούς κινδύνους όπως η μεταφορά παθογόνων πολυανθεκτικών μικροοργανισμών στο λήπτη που σχετίζεται με απειλητικές για τη ζωή λοιμώξεις αλλά και η μεταφορά γονιδίων που σχετίζονται με διάφορους παθογενετικούς μηχανισμούς. Συμπερασματικά η ρύθμιση του EM φαίνεται πως επιδρά καθοριστικά στην πρόληψη αλλά και θεραπεία του OKK.



Εικόνα 18. Μηχανισμοί δράσης και σχετιζόμενοι κίνδυνοι αντιβιοτικών και μεταμόσχευσης εντερικού μικροβιώματος

(Ανατύπωση από: Fong W, Li Q, Yu J. Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. *Oncogene*. 2020;39(26):4925-4943.)

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εξέλιξη της ορθοκολικής καρκινογένεσης αποτελεί μια πολυπαραγοντική διαδικασία στην οποία εμπλέκονται αιτιολογικά πολυάριθμοι διακριτοί μηχανισμοί. Η μετάβαση από το δυσπλαστικό αδένωμα στο ορθοκολικό καρκίνωμα είναι πολυσταδιακή και σχετίζεται με πληθώρα αιτιολογικών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, μη τροποποιήσιμων και τροποποιήσιμων. Το εντερικό μικροβίωμα υιοθετώντας μια δυναμικά συμβιωτική αλληλεπίδραση με τον εντερικό βλεννογόνο αποτελεί ένα όργανο με εκτεταμένη μεταβολική ικανότητα, λειτουργική πλαστικότητα και ανοσοπροστατευτικούς μηχανισμούς. Επιπρόσθετα, λειτουργώντας ως ένας ρυθμιστικός διάυλος μεταξύ εξωτερικών αλλά και εσωτερικών για τον ξενιστή τροποποιήσεων, φαίνεται πως διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στην παθογένεια όσο και στην θεραπεία της νόσου. Οι διαφοροποιήσεις του εντερικού μικροβιώματος λόγω ποσοτικών και ποιοτικών διαταραχών της σύστασης της εντερικής μικροχλωρίδας εξαιτίας δυσβιωτικών φαινομένων, ή φλεγμονής και λόγω διαταραχής στους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης του ξενιστή με τους διάφορους μικροοργανισμούς, διαταράσσουν τη συμβιωτική αυτή σχέση προάγοντας την παθογένεση του ορθοκολικού καρκίνου. Λόγω της αλληλένδετης σχέσης του με την εντερική νεοπλασία, η συνεργατική συσχέτιση μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και διάφορων θεραπευτικών παραγόντων όπως οι αναστολείς ανοσολογικών σημείων ελέγχου αλλά και οι διάφορες τροποποιητικές παρεμβάσεις στο εντερικό μικροπεριβάλλον σχετίζονται με την αναστροφή του δυσβιωτικού εντερικού φαινοτύπου, αποτελώντας έτσι μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική στρατηγική ως προς την αντιμετώπιση του ορθοκολικού καρκίνου.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. WHO Cancer. [(accessed on 14 July 2021)]. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
2. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* 2017; 66(4):683–91.
3. Colorectal Cancer in Europe: A Framework for Improving Outcomes for Patients. (https://webgate.ec.europa.eu/chafea_pdb/assets/files/pdb/20124301/20124301_d04-00_en_ps_ecwhitepaper.pdf) Accessed on March 8 2021.
4. Bray Freddie, Ferlay Jacques, Soerjomataram Isabelle, Siegel Rebecca L., Torre Lindsey A., Jemal Ahmedin. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 68 (6 (November 2018)):394–424.
5. Rafael Cardoso, Feng Guo, Thomas Heisser, Monika Hackl, Petra Ihle, Harlinde De Schutter et al. Colorectal cancer incidence, mortality and stage distribution in European countries in the colorectal cancer screening era: an international population-based study. *Lancet Oncol* 2021 Jul; 22(7):1002-1013.
6. Rebecca L Siegel, Kimberly D Miller, Hannah E Fuchs, Ahmedin Jemal. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*. 2022;72(1):7.
7. Tzala E. Multivariate analysis of spatial and temporal variation in cancer mortality in Greece. PhD thesis. Department of Epidemiology and Public Health, Imperial College, London. 2004.
8. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*. 2020;70(1):7-34.
9. Flood DM , Weiss NS , Cook LS . et al. Colorectal cancer incidence in Asian migrants to the United States and their descendants. *Cancer Causes Control*. 2000; 11:403-1
10. Georgiades IB, Curtis LJ, Morris RM, Bird CC, Wyllie AH. Heterogeneity studies identify a subset of sporadic colorectal cancers without evidence for chromosomal or microsatellite instability. *Oncogene* 1999; 18(56):7933-7940.
11. Cancer Genome Atlas Network Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487:330.
12. Frattini M, Balestra D, Suardi S et al: Different genetic features associated with colon and rectal carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4015-21.
13. Pretlow TP, Brasitus TA, Fulton NC et al: K-ras mutations in putative preneoplastic lesions in

- human colon. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 2004-7.
14. Vogelstein B: Allelotype of colorectal carcinomas. *Science* 1989; 244: 207-11.
 15. Sieber OM, Heinimann K, Gorman P, et al. Analysis of chromosomal instability in human colorectal adenomas with two mutational hits at APC. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(26):16910-16915.
 16. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell*. 2007;128(4):683-692.
 17. Hawkins N, Norrie M, Cheong K, Mokany E, Ku SL, Meagher A, et al. CpG island methylation in sporadic colorectal cancers and its relationship to microsatellite instability. *Gastroenterology*. 2002;122:1376–87.
 18. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet*. 2006;38:787–93.
 19. Shen L, Toyota M, Kondo Y, Lin E, Zhang L, Guo Y, et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:18654–59.
 20. Sinicrope F, Rego R, Halling K, et al. Prognostic impact of microsatellite instability and DNA ploidy in human colon carcinoma patients. *Gastroenterology*. 2006;131:729–737.
 21. Walther A, Johnstone E, Swanton C, Midgley R, Tomlinson I, Kerr D. Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer [published correction appears in *Nat Rev Cancer*. 2011 Apr;11(4):309]. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(7):489-499.
 22. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487(7407):330-337. Published 2012 Jul 18.
 23. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015;21(11):1350-1356.
 24. Heinen CD, Shivapurkar N, Tang Z, Groden J, Alabaster O. Microsatellite instability in aberrant crypt foci from human colons. *Cancer Res*. 1996 Dec 1;56(23):5339-41.
 25. Yamashita N, Minamoto T, Ochiai A, Onda M, Esumi H. Frequent and characteristic K-ras activation in aberrant crypt foci of colon. Is there preference among K-ras mutants for malignant progression? *Cancer*. 1995 Mar 15;75(6 Suppl):1527-33.
 26. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al., eds. *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016*. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2019.
 27. Siegel RL, Fedewa SA, Anderson WF, Miller KD, Ma J, Rosenberg PS, et al. Colorectal Cancer Incidence Patterns in the United States, 1974-2013. *JNCI J Natl Cancer Inst* (2017) 109(8):djw322.

28. Schoenfeld P et al. Colonoscopic screening of average-risk women for colorectal neoplasia. *N Engl J Med* 2005; 352:2061-2068
29. Murphy G, Devesa SS, Cross AJ, Inskip PD, McGlynn KA, Cook MB. Sex disparities in colorectal cancer incidence by anatomic subsite, race and age. *Int J Cancer*. 2011;128(7):1668-1675
30. Yuan ZQ, Womg N, Foulkes WD, et al. A missense mutation in both *hMSH2* and *APC* in an Ashkenazi Jewish HNPCC kindred: implications for clinical screening. *Journal of Medical Genetics* 1999;36:792-793.
31. Heald RJ. Synchronous and metachronous carcinoma of the colon and rectum. *Ann R Coll Surg Engl*. 1990;72(3):172-174.
32. Johnson C.M., Wei C., Ensor J.E., Smolenski D.J., Amos C.I., Levin B., Berry D.A. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control*. 2013;24:1207–1222.
33. Gausman V., Dornblaser D., Anand S., Hayes R.B., O’Connell K., Du M., Liang P.S. Risk Factors Associated With Early-Onset Colorectal Cancer. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2020;18:2752–2759.e2.
34. Shin A., Joo J., Bak J., Yang H.R., Kim J., Park S., Nam B.H. Site-specific risk factors for colorectal cancer in a Korean population. *PLoS ONE*. 2011;6:e23196.
35. Ekblom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med*. 1990 Nov 1;323(18):1228-33.
36. Πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου. Χριστοδούλου ΔΚ, Τσιάνος ΕΒ. *Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής* 2000, 17(6):566-575
37. Järvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, et al. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2000;118(5):829-834.
38. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(10):919-932.
39. Peltomäki P, Vasen H. Mutations associated with HNPCC predisposition -- Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. *Dis Markers*. 2004;20(4-5):269-276.
40. Plaschke J, Engel C, Krüger S, et al. Lower incidence of colorectal cancer and later age of disease onset in 27 families with pathogenic MSH6 germline mutations compared with families with MLH1 or MSH2 mutations: the German Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Consortium. *J Clin Oncol*. 2004;22(22):4486-4494.
41. Desautels D, Czaykowski P, Nugent Z, Demers AA, Mahmud SM, Singh H. Risk of colorectal cancer after the diagnosis of prostate cancer: A population-based study. *Cancer*. 2016;122(8):1254-1260.

42. Scott P, Anderson K, Singhania M, Cormier R. Cystic Fibrosis, CFTR, and Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8):2891. Published 2020 Apr 21.
43. Vinikoor LC, Galanko JA, Sandler RS. Cholecystectomy and the risk of colorectal adenomas. *Dig Dis Sci*. 2008;53(3):730-735.
44. Mullan FJ, Wilson HK, Majury CW, et al. Bile acids and the increased risk of colorectal tumours after truncal vagotomy. *Br J Surg*. 1990;77(10):1085-1090.
45. Leadbetter GW Jr, Zickerman P, Pierce E. Ureterosigmoidostomy and carcinoma of the colon. *J Urol*. 1979;121(6):732-735.
46. Khan MN, Naqvi AH, Lee RE. Carcinoma of sigmoid colon following urinary diversion: a case report and review of literature. *World J Surg Oncol*. 2004;2:20. Published 2004 Jun 8.
47. Le Cosquer G, Buscail E, Gilletta C, et al. Incidence and Risk Factors of Cancer in the Anal Transitional Zone and Ileal Pouch following Surgery for Ulcerative Colitis and Familial Adenomatous Polyposis. *Cancers (Basel)*. 2022;14(3):530. Published 2022 Jan 21.
48. Park JM, Choi MG, Kim SW, et al. Increased incidence of colorectal malignancies in renal transplant recipients: a case control study. *Am J Transplant*. 2010;10(9):2043-2050.
49. Webster AC, Craig JC, Simpson JM, Jones MP, Chapman JR. Identifying high risk groups and quantifying absolute risk of cancer after kidney transplantation: a cohort study of 15,183 recipients. *Am J Transplant*. 2007;7(9):2140-2151.
50. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, Raimondi S, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA*. 2008;300(23):2765-2778.
51. Wallace K, Grau MV, Ahnen D, et al. The association of lifestyle and dietary factors with the risk for serrated polyps of the colorectum. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(8):2310-2317.
52. Pande M, Lynch PM, Hopper JL, et al. Smoking and colorectal cancer in Lynch syndrome: results from the Colon Cancer Family Registry and the University of Texas M.D. Anderson Cancer Center. *Clin Cancer Res*. 2010;16(4):1331-1339.
53. Harnack L, Jacobs DR Jr, Nicodemus K, Lazovich D, Anderson K, Folsom AR. Relationship of folate, vitamin B-6, vitamin B-12, and methionine intake to incidence of colorectal cancers. *Nutr Cancer*. 2002;43(2):152-158.
54. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol*. 2011;22(9):1958-1972.
55. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen SE, Corley DA, Tei Y, Buffler PA. Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer?. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(11):1911-1922.

56. Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(7):620-625.
57. Karahalios A, English DR, Simpson JA. Weight change and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2015;181(11):832-845.
58. Goldin BR, Gorbach SL. Effect of antibiotics on incidence of rat intestinal tumors induced by 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride. *J Natl Cancer Inst.* 1981;67(4):877-880.
59. Johnson C.M., Wei C., Ensor J.E., Smolenski D.J., Amos C.I., Levin B., Berry D.A. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control.* 2013;24:1207–1222.
60. Bradbury K.E., Murphy N., Key T.J. Diet and colorectal cancer in UK Biobank: A prospective study. *Int. J. Epidemiol.* 2020;49:246–258.
61. Cranston D, McWhinnie D, Collin J. Dietary fibre and gastrointestinal disease. *Br J Surg.* 1988;75(6):508-512.
62. Quigley EM. Basic Definitions and Concepts: Organization of the Gut Microbiome. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017;46(1):1-8.
63. Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology.* 2009;136:65–80.
64. Vaughan EE, Schut F, Heilig HG, Zoetendal EG, de Vos WM, Akkermans AD. A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr Issues Intest Microbiol.* 2000;1(1):1-12.
65. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature.* 2012;488(7410):178-184.
66. Hakansson A, Molin G. Gut microbiota and inflammation. *Nutrients.* 2011;3:637–682.
67. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90:859–904.
68. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J Gastroenterol.* 2005;11:1131–1140.
69. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486:207–214.
70. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology.* 2014;146:1449–1458.
71. Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc.* 2003;62:67–72.

72. Bourriaud C, Akoka S, Goupry S, Robins R, Cherbut C, Michel C. Butyrate production from lactate by human colonic microflora. *Reprod Nutr Dev*. 2002;42:S55.
73. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*. 2001;291:881–884.
74. Fukiya S, Arata M, Kawashima H, Yoshida D, Kaneko M, Minamida K, Watanabe J, Ogura Y, Uchida K, Itoh K, et al. Conversion of cholic acid and chenodeoxycholic acid into their 7-oxo derivatives by *Bacteroides intestinalis* AM-1 isolated from human feces. *FEMS Microbiol Lett*. 2009;293:263–270.
75. Velagapudi VR, Hezaveh R, Reigstad CS, Gopalacharyulu P, Yetukuri L, Islam S, Felin J, Perkins R, Borén J, Oresic M, et al. The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice. *J Lipid Res*. 2010;51:1101–1112.
76. Wallace BD, Wang H, Lane KT, Scott JE, Orans J, Koo JS, Venkatesh M, Jobin C, Yeh LA, Mani S, et al. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science*. 2010;330:831–835.
77. Hooper LV. Do symbiotic bacteria subvert host immunity? *Nat Rev Microbiol*. 2009;7:367–374.
78. Α-Φ.Α. Μεντής, Φ. Γύπας, Α.Φ. Μεντής. Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου: Ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο. *ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ* 2013, 30(3):272- 288
79. Lutgendorff F, Akkermans LM, Söderholm JD. The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastro-intestinal damage. *Curr Mol Med*. 2008;8:282–298.
80. Yan F, Cao H, Cover TL, Washington MK, Shi Y, Liu L, Chaturvedi R, Peek RM, Wilson KT, Polk DB. Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFR-dependent mechanism. *J Clin Invest*. 2011;121:2242–2253.
81. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, Geurts L, Naslain D, Neyrinck A, Lambert DM, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*. 2009;58:1091–1103.
82. Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:15451–15455.
83. Reddy BS, Weisburger JH, Wynder EL. Effects of high risk and low risk diets for colon carcinogenesis on fecal microflora and steroids in man. *J Nutr*. 1975;105(7):878-884.
84. Moore WE, Moore LH. Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol*. 1995;61(9):3202-3207

85. Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *PLoS One*. 2012;7(6):e39743.
86. Gao Z, Guo B, Gao R, Zhu Q, Qin H. Microbiota dysbiosis is associated with colorectal cancer. *Front Microbiol*. 2015;6:20. Published 2015 Feb 2.
87. Sobhani I, Tap J, Roudot-Thoraval F, et al. Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients. *PLoS One*. 2011;6(1):e16393. Published 2011 Jan 27.
88. Shen, X.J.; Rawls, J.F.; Randall, T.; Burcal, L.; Mpande, C.N.; Jenkins, N.; Jovov, B.; Abdo, Z.; Sandler, R.S.; Keku, T.O. Molecular characterization of mucosal adherent bacteria and associations with colorectal adenomas. *Gut Microbes* 2010, 1, 138–147
89. Wu N, Yang X, Zhang R, et al. Dysbiosis signature of fecal microbiota in colorectal cancer patients. *Microb Ecol*. 2013;66(2):462-470.
90. Viljoen KS, Dakshinamurthy A, Goldberg P, Blackburn JM. Quantitative profiling of colorectal cancer-associated bacteria reveals associations between fusobacterium spp., enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) and clinicopathological features of colorectal cancer. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119462. Published 2015 Mar 9.
91. Zackular JP, Baxter NT, Iverson KD, et al. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *mBio*. 2013;4(6):e00692-13. Published 2013 Nov 5.
92. Zhu Q, Jin Z, Wu W, et al. Analysis of the intestinal lumen microbiota in an animal model of colorectal cancer. *PLoS One*. 2014;9(6):e90849. Published 2014 Mar 6.
93. Tomkovich S, Yang Y, Winglee K, et al. Locoregional Effects of Microbiota in a Preclinical Model of Colon Carcinogenesis. *Cancer Res*. 2017;77(10):2620-2632.
94. Sears CL, Pardoll DM. Perspective: alpha-bugs, their microbial partners, and the link to colon cancer. *J Infect Dis* (2011) 203(3):306–11.
95. Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev*. 2009; 22:349–369.
96. Wu S, Morin PJ, Maouyo D, Sears CL. *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces c-Myc expression and cellular proliferation. *Gastroenterology*. 2003;124(2):392-400.
97. Cougnoux A, Dalmasso G, Martinez R, Buc E, Delmas J, Gibold L, Sauvanet P, Darcha C, Déchelotte P, Bonnet M, et al. Bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumour growth by inducing a senescence-associated secretory phenotype. *Gut*. 2014;63(12):1932–1942.
98. Tjalsma, H., Boleij, A., Marchesi, J. *et al*. A bacterial driver–passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol* 10, 575–582 (2012).

99. Grivennikov, S., Wang, K., Mucida, D. *et al.* Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature* 491, 254–258 (2012).
100. Geng J, Song Q, Tang X, Liang X, Fan H, Peng H, Guo Q, Zhang Z. Co-occurrence of driver and passenger bacteria in human colorectal cancer. *Gut Pathog.* 2014;6(1):26.
101. Dejea CM, Fathi P, Craig JM, et al. Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria. *Science.* 2018;359(6375):592-597.
102. Seely KD, Morgan AD, Hagenstein LD, Florey GM, Small JM. Bacterial Involvement in Progression and Metastasis of Colorectal Neoplasia. *Cancers (Basel).* 2022;14(4):1019. Published 2022 Feb 17.
103. Ito M., Kanno S., Nosho K., Sukawa Y., Mitsushashi K., Kurihara H., Igarashi H., Takahashi T., Tachibana M., Takahashi H., et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with Clinical and Molecular Features in Colorectal Serrated Pathway. *Int. J. Cancer.* 2015;137:1258–1268.
104. Wu J., Li Q., Fu X. *Fusobacterium nucleatum* Contributes to the Carcinogenesis of Colorectal Cancer by Inducing Inflammation and Suppressing Host Immunity. *Transl. Oncol.* 2019;12:846–851.
105. Kostic AD, Chun E, Robertson L *et al.* *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe* 2013; 14: 207–215.
106. Rubinstein M.R., Wang X., Liu W., Hao Y., Cai G., Han Y.W. *Fusobacterium nucleatum* Promotes Colorectal Carcinogenesis by Modulating E-Cadherin/ β -Catenin Signaling via Its FadA Adhesin. *Cell Host Microbe.* 2013;14:195–206.
107. Chen Y., Peng Y., Yu J., Chen T., Wu Y., Shi L., Li Q., Wu J., Fu X. Invasive *Fusobacterium nucleatum* Activates Beta-Catenin Signaling in Colorectal Cancer via a TLR4/P-PAK1 Cascade. *Oncotarget.* 2017;8:31802–31814.
108. Chen T., Li Q., Zhang X., Long R., Wu Y., Wu J., Fu X. TOX Expression Decreases with Progression of Colorectal Cancers and Is Associated with CD4 T-Cell Density and *Fusobacterium nucleatum* Infection. *Hum. Pathol.* 2018;79:93–101.
109. Proença M.A., Biselli J.M., Succi M., Severino F.E., Berardinelli G.N., Caetano A., Reis R.M., Hughes D.J., Silva A.E. Relationship between *Fusobacterium nucleatum*, Inflammatory Mediators and MicroRNAs in Colorectal Carcinogenesis. *World J. Gastroenterol.* 2018;24:5351–5365.
110. Abed J., Emgård J.E.M., Zamir G., Faroja M., Almogy G., Grenov A., Sol A., Naor R., Pikarsky E., Atlan K.A., et al. Fap2 Mediates *Fusobacterium nucleatum* Colorectal Adenocarcinoma Enrichment by Binding to Tumor-Expressed Gal-GalNAc. *Cell Host Microbe.* 2016;20:215–225.

111. Viljoen KS, Dakshinamurthy A, Goldberg P, Blackburn JM. Quantitative profiling of colorectal cancer-associated bacteria reveals associations between fusobacterium spp., enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) and clinicopathological features of colorectal cancer. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119462. Published 2015 Mar 9.
112. Yang Z, Ji G. *Fusobacterium nucleatum*-positive colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2019;18(2):975-982.
113. Zhou Y, He H, Xu H, et al. Association of oncogenic bacteria with colorectal cancer in South China. *Oncotarget*. 2016;7(49):80794-80802.
114. Balish E, Warner T. Enterococcus faecalis induces inflammatory bowel disease in interleukin-10 knockout mice. *Am J Pathol*. 2002;160(6):2253-2257.
115. Ruiz PA, Shkoda A, Kim SC, Sartor RB, Haller D. IL-10 gene-deficient mice lack TGF-beta/Smad signaling and fail to inhibit proinflammatory gene expression in intestinal epithelial cells after the colonization with colitogenic Enterococcus faecalis. *J Immunol*. 2005;174(5):2990-2999.
116. Huycke, M.M.; Joyce, W.; Wack, M.F. Augmented production of extracellular superoxide by blood isolates of Enterococcus faecalis. *J. Infect. Dis*. 1996, 173, 743–746.
117. Wang X., Allen T.D., May R.J., Lightfoot S., Houchen C.W., Huycke M.M. *Enterococcus faecalis* Induces Aneuploidy and Tetraploidy in Colonic Epithelial Cells through a Bystander Effect. *Cancer Res*. 2008;68:9909–9917.
118. Wang S., Hibberd M.L., Pettersson S., Lee Y.K. *Enterococcus faecalis* from Healthy Infants Modulates Inflammation through MAPK Signaling Pathways. *PLoS ONE*. 2014;9:e97523.
119. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, et al. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2004;127(2):412-421.
120. Bonnet, M.; Buc, E.; Sauvanet, P.; Darcha, C.; Dubois, D.; Pereira, B.; Déchelotte, P.; Bonnet, R.; Pezet, D.; Darfeuille-Michaud, A. Colonization of the human gut by *E. coli* and colorectal cancer risk. *Clin. Cancer Res*. 2014, 20, 859–867
121. Nougayrède JP, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, Buchrieser C, Hacker J, Dobrindt U, Oswald E. *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science* 2006; 313: 848-851
122. Marchès O, Ledger TN, Boury M, et al. Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* deliver a novel effector called Cif, which blocks cell cycle G2/M transition. *Mol Microbiol*. 2003;50(5):1553-1567.

123. Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède JP. *Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(25):11537-11542.
124. Maddocks O.D.K., Scanlon K.M., Donnenberg M.S. An *Escherichia coli* Effector Protein Promotes Host Mutation via Depletion of DNA Mismatch Repair Proteins. *mBio*. 2013;4:e00152-13.
125. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science*. 2012;338(6103):120-123.
126. Leung A, Tsoi H, Yu J. Fusobacterium and Escherichia: models of colorectal cancer driven by microbiota and the utility of microbiota in colorectal cancer screening. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;9(5):651-657.
127. Sears, C.L. The toxins of *Bacteroides fragilis*. *Toxicon* 2001, 39, 1737–1746.
128. Housseau F, Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF)-mediated colitis in Min (Apc^{+/-}) mice: a human commensal-based murine model of colon carcinogenesis. *Cell Cycle*. 2010;9(1):3-5. doi:10.4161/cc.9.1.10352
129. Sears CL, Geis AL, Housseau F. *Bacteroides fragilis* subverts mucosal biology: from symbiont to colon carcinogenesis. *J Clin Invest*. 2014;124(10):4166-4172.
130. Riegler M, Lotz M, Sears C, et al. *Bacteroides fragilis* toxin 2 damages human colonic mucosa in vitro. *Gut*. 1999;44(4):504-510.
131. Hata K, Andoh A, Shimada M, et al. IL-17 stimulates inflammatory responses via NF-kappaB and MAP kinase pathways in human colonic myofibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;282(6):G1035-G1044.
132. Dejea C, Wick E, Sears CL. Bacterial oncogenesis in the colon. *Future Microbiol*. 2013;8(4):445-460.
133. Snezhkina AV, Krasnov GS, Lipatova AV, et al. The Dysregulation of Polyamine Metabolism in Colorectal Cancer Is Associated with Overexpression of c-Myc and C/EBPβ rather than Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* Infection. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:2353560.
134. Pappas-Gogos G, Tepelenis K, Fousekis F, Katsanos K, Pitiakoudis M, Vlachos K. The Implication of Gastric Microbiome in the Treatment of Gastric Cancer. *Cancers (Basel)*. 2022;14(8):2039. Published 2022 Apr 18.
135. Koh TJ, Dockray GJ, Varro A, et al. Overexpression of glycine-extended gastrin in transgenic mice results in increased colonic proliferation. *J Clin Invest*.

136. Handa O, Naito Y, Yoshikawa T. Helicobacter pylori: a ROS-inducing bacterial species in the stomach. *Inflamm Res*. 2010;59(12):997-1003.
137. Evans DJ Jr, Evans DG, Takemura T, et al. Characterization of a Helicobacter pylori neutrophil-activating protein. *Infect Immun*. 1995;63(6):2213-2220.
138. Shmueli H, Passaro D, Figer A, et al. Relationship between Helicobacter pylori CagA status and colorectal cancer. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(12):3406-3410.
139. Wessler S, Krisch LM, Elmer DP, Aberger F. From inflammation to gastric cancer - the importance of Hedgehog/GLI signaling in Helicobacter pylori-induced chronic inflammatory and neoplastic diseases. *Cell Commun Signal*. 2017;15(1):15. Published 2017 Apr 20.
140. McCOY WC, MASON JM 3rd. Enterococcal endocarditis associated with carcinoma of the sigmoid; report of a case. *J Med Assoc State Ala*. 1951;21(6):162-166.
141. Hoppes WL, Lerner PI. Nonenterococcal group-D streptococcal endocarditis caused by Streptococcus bovis. *Ann Intern Med*. 1974;81(5):588-593.
142. Klein RS, Catalano MT, Edberg SC, Casey JI, Steigbigel NH. Streptococcus bovis septicemia and carcinoma of the colon. *Ann Intern Med*. 1979;91(4):560-562.
143. Biarc J, Nguyen IS, Pini A, et al. Carcinogenic properties of proteins with pro-inflammatory activity from Streptococcus infantarius (formerly S.bovis). *Carcinogenesis*. 2004;25(8):1477-1484.
144. Boleij A, Schaeps RM, de Kleijn S *et al*. Surface-exposed histone-like protein a modulates adherence of Streptococcus gallolyticus to colon adenocarcinoma cells. *Infect Immun* 2009; 77: 5519–5527.
145. Abu-Ghazaleh N, Chua WJ, Gopalan V. Intestinal microbiota and its association with colon cancer and red/processed meat consumption. *J Gastroenterol Hepatol*. 2021;36(1):75-88.
146. Tian X, Liu Z, Niu B, et al. E-cadherin/β-catenin complex and the epithelial barrier. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:567305.
147. Zhang Y., Weng Y., Gan H., Zhao X., Zhi F. *Streptococcus Gallolyticus* Conspires Myeloid Cells to Promote Tumorigenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2018;506:907–911.
148. Deng Q., Wang C., Yu K., Wang Y., Yang Q., Zhang J., Xu X. *Streptococcus bovis* Contributes to the Development of Colorectal Cancer via Recruiting CD11b⁺TLR-4⁺ Cells. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res*. 2020;26:e921886.
149. Liu X., Lu R., Xia Y., Wu S., Sun J. Eukaryotic signaling pathways targeted by *Salmonella* effector protein AvrA in intestinal infection in vivo. *BMC Microbiology*. 2010;10(1):p. 326.

150. Lu R., Wu S., Liu X., Xia Y., Zhang Y. G., Sun J. Chronic effects of a *Salmonella* type III secretion effector protein AvrA in vivo. *PLoS One*. 2010;5(5)
151. Lu R., Liu X., Wu S., et al. Consistent activation of the β -catenin pathway by *Salmonella* type-three secretion effector protein AvrA in chronically infected intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2012;303(10):G1113–G1125.
152. Liu X., Lu R., Wu S., Sun J. *Salmonella* regulation of intestinal stem cells through the Wnt/ β -catenin pathway. *FEBS Letters*. 2010;584(5):911–916.
153. Lu R., Wu S., Zhang Y.-g., et al. Enteric bacterial protein AvrA promotes colonic tumorigenesis and activates colonic beta-catenin signaling pathway. *Oncogenesis*. 2014;3(6):p. e105.
154. Wu S, Ye Z, Liu X, et al. *Salmonella typhimurium* infection increases p53 acetylation in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010;298(5):G784–G794.
155. Hernández-Luna M.A., López-Briones S., Luria-Pérez R. The Four Horsemen in Colon Cancer. *J. Oncol*. 2019;2019:1–12. doi: 10.1155/2019/5636272.
156. Roy S, Trinchieri G. Microbiota: A Key Orchestrator of Cancer Therapy. *Nat Rev Cancer* (2017) 17(5):271–85.
157. Woynarowski JM, Chapman WG, Napier C, Herzig MC, Juniewicz P. Sequence- and region-specificity of oxaliplatin adducts in naked and cellular DNA. *Mol Pharmacol*. 1998;54(5):770-777.
158. Fidelle M, Yonekura S, Picard M, et al. Resolving the Paradox of Colon Cancer Through the Integration of Genetics, Immunology, and the Microbiota. *Front Immunol*. 2020;11:600886. Published 2020 Dec 14. doi:10.3389/fimmu.2020.600886
159. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science*. 2013;342(6161):967-970.
160. Roberti MP, Yonekura S, Duong CPM, et al. Chemotherapy-induced ileal crypt apoptosis and the ileal microbiome shape immunosurveillance and prognosis of proximal colon cancer. *Nat Med*. 2020;26(6):919-931.
161. Geller LT, Barzily-Rokni M, Danino T, et al. Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine. *Science*. 2017;357(6356):1156-1160.
162. Yu T, Guo F, Yu Y, et al. *Fusobacterium nucleatum* Promotes Chemoresistance to Colorectal Cancer by Modulating Autophagy. *Cell*. 2017;170(3):548-563.e16.
163. Stringer AM, Gibson RJ, Logan RM, Bowen JM, Yeoh AS, Keefe DM. Faecal microflora and beta-glucuronidase expression are altered in an irinotecan-induced diarrhea model in rats. *Cancer Biol Ther*. 2008;7(12):1919-1925.

164. Viaud S, Flament C, Zoubir M, Pautier P, LeCesne A, Ribrag V, et al: Cyclophosphamide induces differentiation of Th17 cells in cancer patients. *Cancer Res* 2011; 71: 661–665.
165. Zhang S, Wang Q, Zhou C, et al. Colorectal cancer, radiotherapy and gut microbiota. *Chin J Cancer Res.* 2019;31(1):212-222.
166. Touchefeu Y, Montassier E, Nieman K, et al. Systematic review: the role of the gut microbiota in chemotherapy- or radiation-induced gastrointestinal mucositis - current evidence and potential clinical applications. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40(5):409-421.
167. Nam YD, Kim HJ, Seo JG, Kang SW, Bae JW. Impact of pelvic radiotherapy on gut microbiota of gynecological cancer patients revealed by massive pyrosequencing. *PLoS One.* 2013;8(12):e82659. Published 2013 Dec 18.
168. Kim YS, Kim J and Park SJ High-throughput 16S rRNA gene sequencing reveals alterations of mouse intestinal microbiota after radiotherapy. *Anaerobe.* 2015;33:1–7.
169. Koliarakis I, Psaroulaki A, Nikolouzakis TK, et al. Intestinal microbiota and colorectal cancer: a new aspect of research. *J BUON.* 2018;23(5):1216-1234.
170. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* (2015) 372:2509–20.
171. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et al Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science.* 2015;350:1079–84.
172. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillere R, et al.. Gut Microbiome Influences Efficacy of PD-1-Based Immunotherapy Against Epithelial Tumors. *Science* (2018) 359(6371):91–7.
173. Fares CM, Van Allen EM, Drake CG, Allison JP, Hu-Lieskovan S. Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Blockade: Why Does Checkpoint Inhibitor Immunotherapy Not Work for All Patients?. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2019;39:147-164.
174. Geier MS, Butler RN, Howarth GS. Probiotics, prebiotics and synbiotics: a role in chemoprevention for colorectal cancer?. *Cancer Biol Ther.* 2006;5(10):1265-1269.
175. Mills JP, Rao K, Young VB. Probiotics for prevention of *Clostridium difficile* infection. *Curr Opin Gastroenterol.* 2018;34:3–10.
176. Piewngam P, Zheng Y, Nguyen TH, Dickey SW, Joo HS, Villaruz AE, et al. Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signalling interference. *Nature.* 2018;562:532–7.
177. Fayol-Messaoudi D, Berger CN, Coconnier-Polter MH, Lievin-Le Moal V, Servin AL. pH-, Lactic acid-, and non-lactic acid-dependent activities of probiotic *Lactobacilli* against *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71:6008–13.

178. Fong W, Li Q, Yu J. Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. *Oncogene*. 2020;39(26):4925-4943. doi:10.1038/s41388-020-1341-1
179. Lenoir M, Del Carmen S, Cortes-Perez NG, Lozano-Ojalvo D, Munoz-Provencio D, Chain F, et al. Lactobacillus casei BL23 regulates Treg and Th17 T-cell populations and reduces DMH-associated colorectal cancer. *J Gastroenterol*. 2016;51:862–73.
180. Chen CC, Lin WC, Kong MS, Shi HN, Walker WA, Lin CY, et al. Oral inoculation of probiotics Lactobacillus acidophilus NCFM suppresses tumour growth both in segmental orthotopic colon cancer and extra-intestinal tissue. *Br J Nutr*. 2012;107:1623–34.
181. Mohamadzadeh M, Pfeiler EA, Brown JB, Zadeh M, Gramarossa M, Managlia E, et al. Regulation of induced colonic inflammation by Lactobacillus acidophilus deficient in lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(Suppl 1):4623–30.
182. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995;125:1401–12.
183. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14:491–502.
184. Canani RB, Di Costanzo M, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol*. 2011;17:1519.
185. Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019;103:6463–72.
186. Ito H, Takemura N, Sonoyama K, Kawagishi H, Topping DL, Conlon MA, et al. Degree of polymerization of inulin-type fructans differentially affects number of lactic acid bacteria, intestinal immune functions, and immunoglobulin A secretion in the rat cecum. *J Agric Food Chem*. 2011;59:5771–8.
187. Perillo F, Amoroso C, Strati F, et al. Gut Microbiota Manipulation as a Tool for Colorectal Cancer Management: Recent Advances in Its Use for Therapeutic Purposes. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):5389. Published 2020 Jul 29.
188. Konishi H, Fujiya M, Tanaka H, Ueno N, Moriichi K, Sasajima J, et al. Probiotic-derived ferrichrome inhibits colon cancer progression via JNK-mediated apoptosis. *Nat Commun*. 2016;7:12365.

189. Bullman S, Pedomallu CS, Sicinska E, Clancy TE, Zhang X, Cai D, et al. Analysis of Fusobacterium persistence and antibiotic response in colorectal cancer. *Science*. 2017;358:1443–8.
190. Hamoya T, Miyamoto S, Tomono S, et al. Chemopreventive effects of a low-side-effect antibiotic drug, erythromycin, on mouse intestinal tumors. *J Clin Biochem Nutr*. 2017;60(3):199-207.
191. Willing BP, Russell SL, Finlay BB. Shifting the balance: antibiotic effects on host–microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9:233.
192. Smits LP, Bouter KE, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology*. 2013;145:946–53.
193. Rosshart SP, Vassallo BG, Angeletti D, Hutchinson DS, Morgan AP, Takeda K, et al. Wild mouse gut microbiota promotes host fitness and improves disease resistance. *Cell*. 2017;171:1015–28. e1013.
194. Wang Y, Wiesnoski DH, Helmink BA, Gopalakrishnan V, Choi K, DuPont HL, et al. Fecal microbiota transplantation for refractory immune checkpoint inhibitor-associated colitis. *Nat Med* (2018) 24(12):1804–8.