

A bél mikrobiom és gyermekonkológia

Magyar Gyermek-gasztroenterológiai Társaság XIII.
Kongresszusa

Sági Viktória
PhD hallgató

Gyermekgyógyászati Klinika,
Tűzoltó utcai részleg



SEMMELWEIS
EGYETEM 1769

Mikrobiom jelentősége

Mikrobiom és tumorok
kapcsolata

Gyermekekori tumorok és a
bél mikrobiom

Bél mikrobiom szerepe az
onkológiai kezelésekben

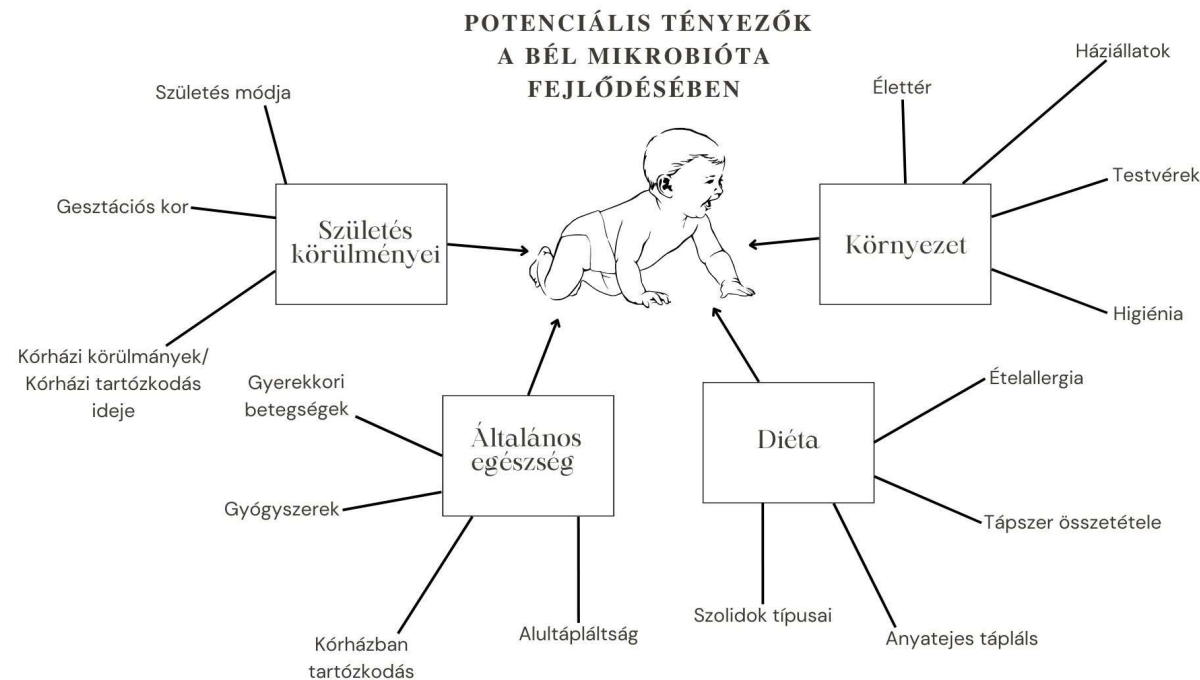
Bél mikrobiom
helyreállítása



Gut Microbiome Gail A.M. Cresci,
Adult Short Bowel Syndrome: Nutritional, Medical, and Surgical Management, 1 2019

A bél mikrobiom

- A GI traktus a legsűrűbben kolonizált rendszer
- Minden egyénben sajátos diverzitású flóra
- Baktériumok, gombák, vírusok, archeák stb.
- 1500 faj, több mint 50 különböző törzs
- ***Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria,***
Fusobacteria, Tenericutes, Actinobacteria és *Verrucomicrobia* a legdominánsabb törzsek



Saját ábra

A mikrobiom jelentősége



Élettani folyamatok

- Homeosztázis fenntartása
- Metabolikus utak
- Immunfolyamatok

Diszbiózis

- Permeabilitás-változás
- Anyagcsere folyamatok
- Megváltoztatja az immunválaszt

Kórállapotok

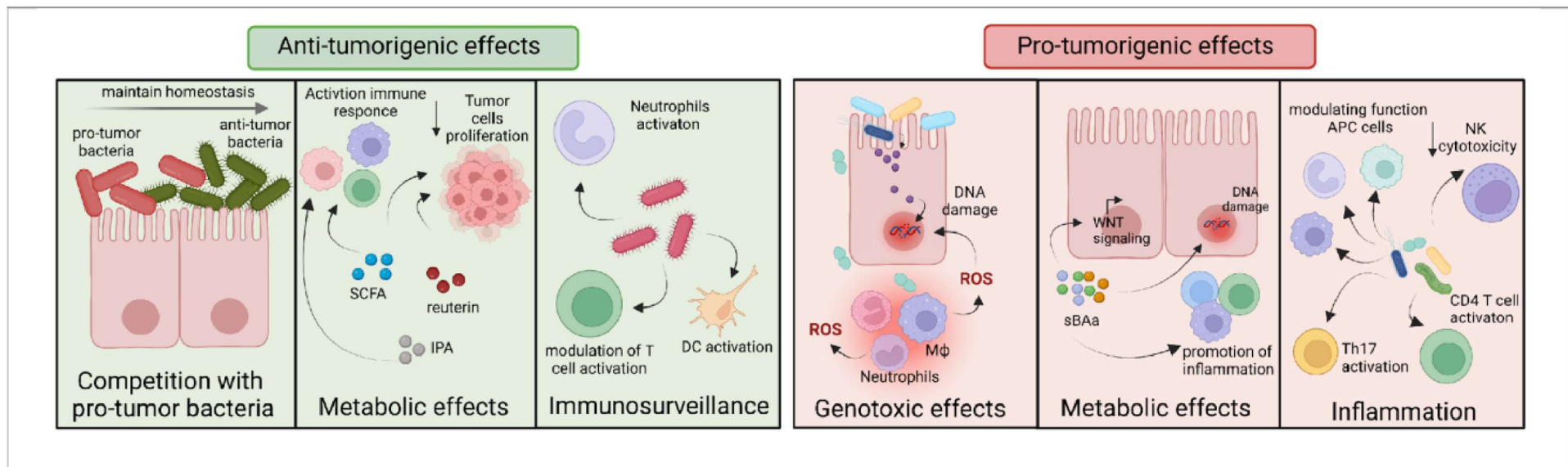
- IBD
- Elhízás
- Diabétesz
- Allergiák

Kép forrása: Nature 577, S5 (2020)
doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-020-00194-2>

Mikrobiom és a daganatok

Közvetett és közvetlen módon:

- **Befolyásolja az immunrendszert**, így a tumorimmunitast, a gyulladást keltő, illetve csökkentő szerepe által
- Ezeken és más hatásokon keresztül tumorszupresszor és onkogén folyamatokban is részt vehetnek pl.: genotoxinok, metabolitok által
- **Sejtnövekedésben**, a sejtprolifерáció és a programozott sejthalál egyensúlyának a fenntartásában is szerepet játszhat

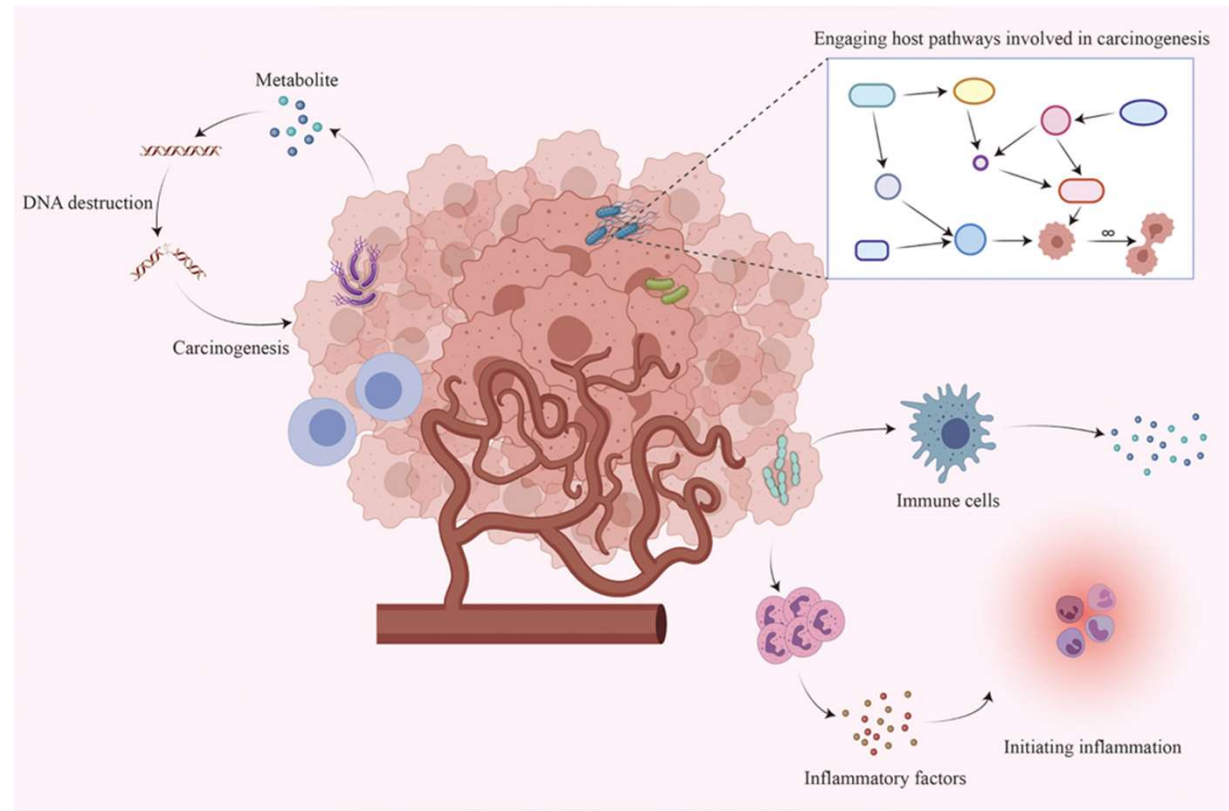


Kép forrása: Elena A. Ivleva, Sergei I. Grivennikov, *Microbiota-driven mechanisms at different stages of cancer development, Neoplasia, 2022*

Intratumorális mikrobiom

A daganatok nem sterilek, előfordulnak bennük baktériumok

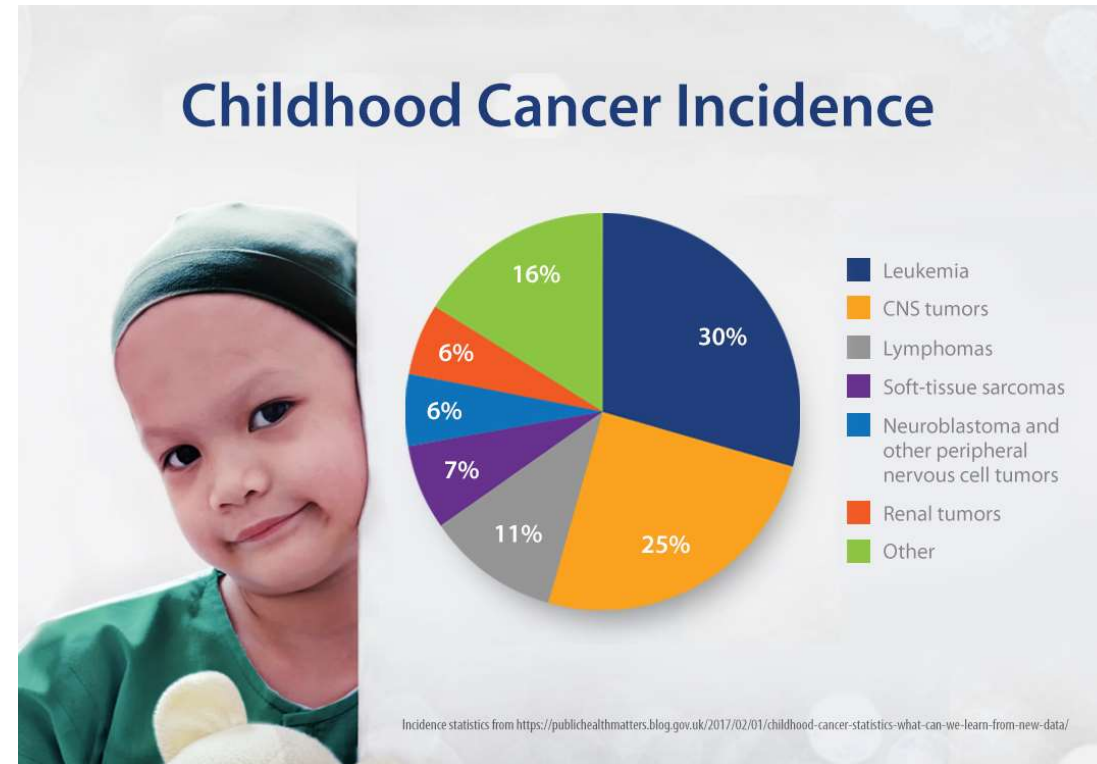
- Eddig emlő, csont, hasnyálmirigy, ovárium, tüdőtumzorokban, melanoma, glioblastoma, CRC
- Szerepe lehet az **onkogenezisben**, tumor-progresszióban, terápiás válaszban
 - **Immunválaszt** módosítják, pl. *Fusobacterium nucleatum* gátolja az NK-sejt aktivitását
- Elősegíthetik a **metasztázis** képződést
- A baktériumok genotoxinokat termelve elősegíthetik a **mutációk** képződését



Tumor microbiome metabolism: A game changer in cancer development and therapy, Frontiers in Oncology

Gyerekkori tumorok

- **Újonnan diagnosztizált daganatok**
kb 1 %-át 20 év alattiakban diagnosztizálják
- **Epidemiológiája eltér a felnőttkori tumoroktól:**
 - 41 % nyirok- és vérképző szervi daganat
 - 25 % KIR tumor
 - 7% szarkóma
 - 6% neuroblastoma
 - 6% vese tumorok
 - 16% egyéb
- Leggyakoribb gyermekkori tu.: ALL

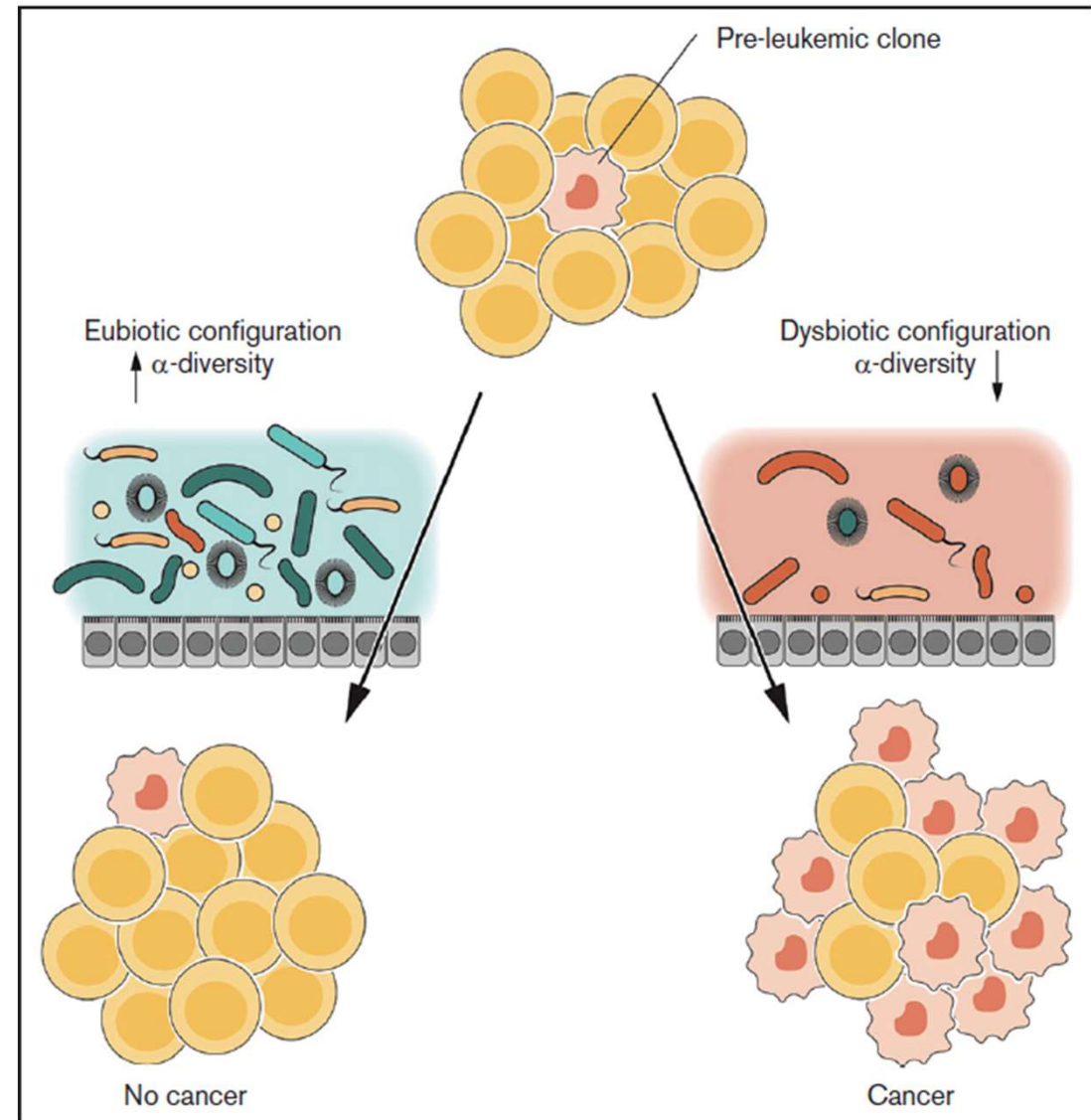


Bossù G, Di Sario R, Argentiero A, Esposito S. Antimicrobial Prophylaxis and Modifications of the Gut Microbiota in Children with Cancer. *Antibiotics*. 2021; 10(2):152.

A bél mikrobiom szerepe a leukémia többlépéses kialakulásának modelljében

- Preleukémiás klónok kialakulása:** Intrinsic genetikai fogékonyság.
- Környezeti hatások szerepe:** további kromoszómális eltérések, szekunder mutációs események.
- Mikrobiom szerepe:** A bél mikrobiom egy újabb „triggert” képviselhet a leukémia többlépcsős folyamatában
- Védelem szerepe:** Ezzel szemben az „intakt” mikrobiom vagy a kórokozókkal való interakció hiánya megvédheti a genetikailag hajlamos egyéneket

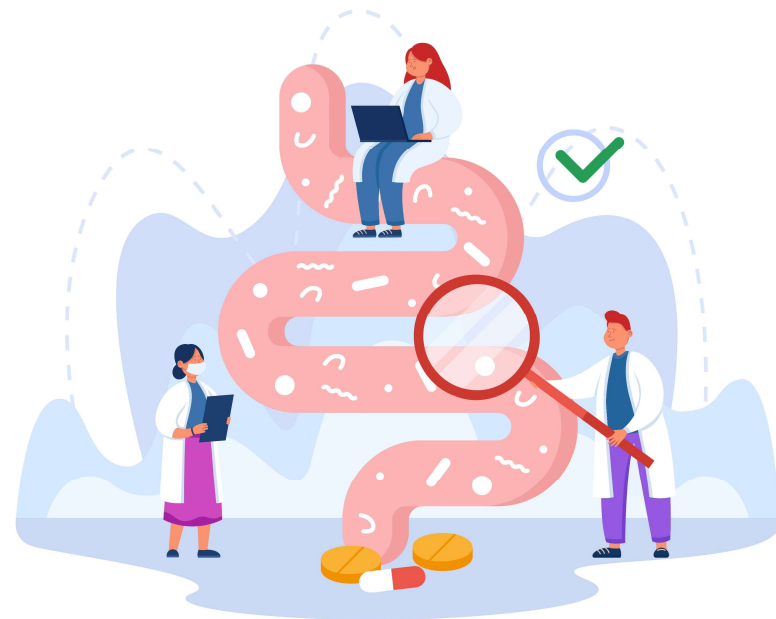
Forrás: Vicente-Dueñas C, Janssen S, Oldenburg M, et al. An intact gut microbiome protects genetically predisposed mice against leukemia. Blood. 2020; 136(18):2003-2017.



ALL vs kontroll csoport

Diagnózis időpontjában

- **Alacsonyabb diverzitás:** A tumoros gyermekek bél mikrobiomja alacsonyabb **diverzitást** mutat, mint az egészséges kontrollcsoport, mind a kezelés előtt, mind után
- Magasabb relatív abundancia:
 - ***Bacteroides clarus***
 - ***Bacteroides fragilis***
- Alacsonyabb rel.abund.:
 - ***Firmicutes***
 - ***Actinobacteria***
 - ***Blautia***
 - ***Faecalibacterium***
 - ***Parabacteroides***



Alfa diverzitás: Egy mintán belüli diverzitásra vonatkozik

Gyermekonkológia

- **Gyermekekori rizikóadaptált kezelések**

kemoterápia (+/- HSCT), műtét, radioterápia

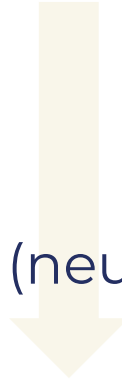
- **Kemoterápia mellékhatása**

citotoxikus hatás

immunszuppresszió

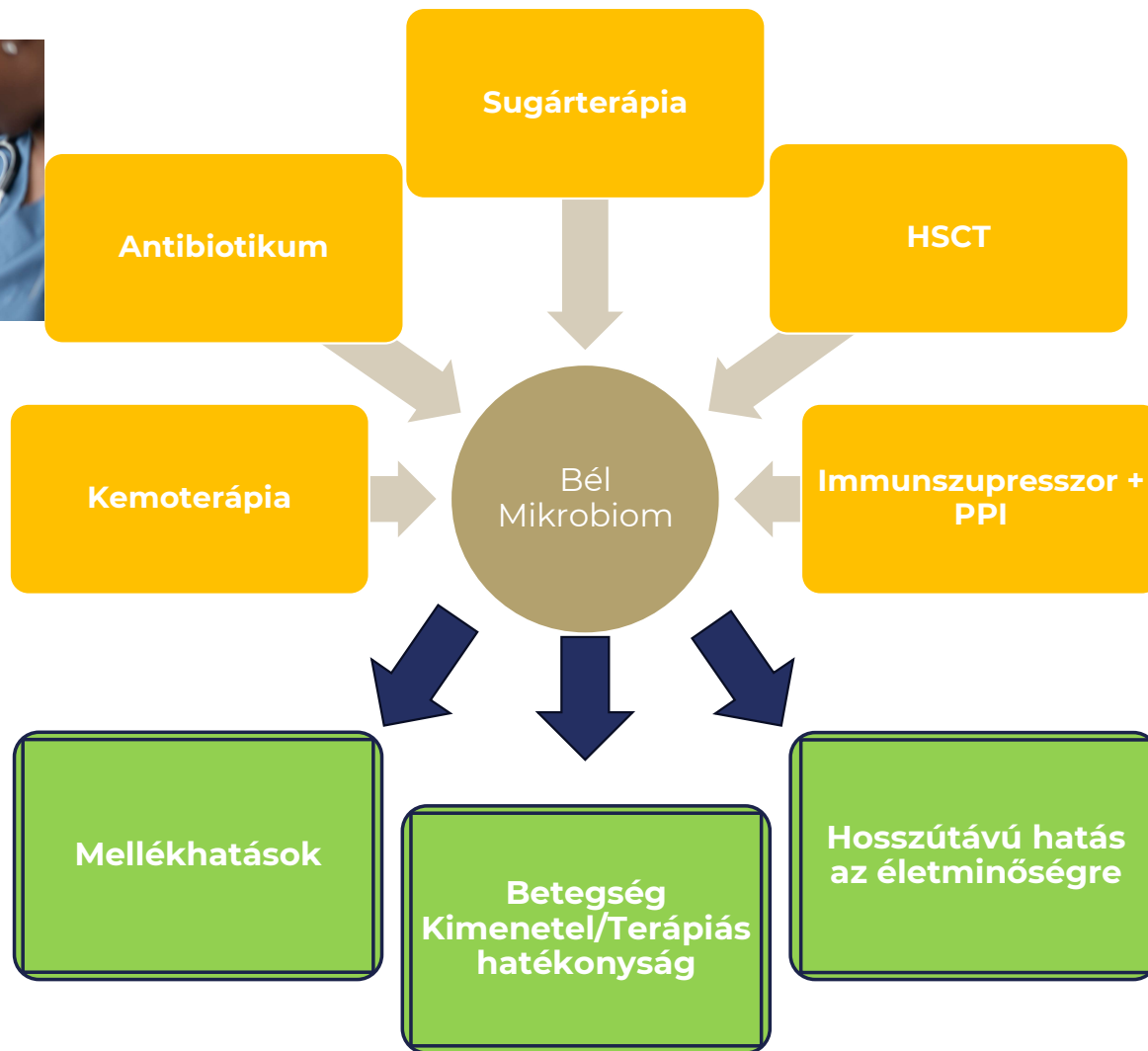
fertőzések

neutropéniás láz (neutrophils $\leq 500/\text{mm}^3$)



Széleskörűen elterjedt **antibiotikum** használat, amely az intenzív kemoterápiás kezeléssel hosszútávon **károsítja a bél mikrobiomot**

Bossù G, Di Sario R, Argentiero A, Esposito S. Antimicrobial Prophylaxis and Modifications of the Gut Microbiota in Children with Cancer. *Antibiotics*. 2021; 10(2):152.



Infekció és Neutropéniás láz: magasabb Enterococcaceae (Proteobacteria phylum) prediktív marker?

Felnőtt túlélőkben csökkent: Faecalibacterium abundanciája és az Alpha diverzitás, amit korábban összefüggésbe hoztak az elhízással

I. Kemoterápia

- Epithel barrier sérülést, immunszuppressziót és baktréiumok transzlokációját okozza (BSI)

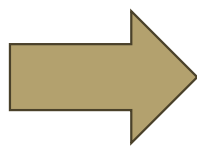
- Alfa diverzitás csökkenés

- Növekedett:

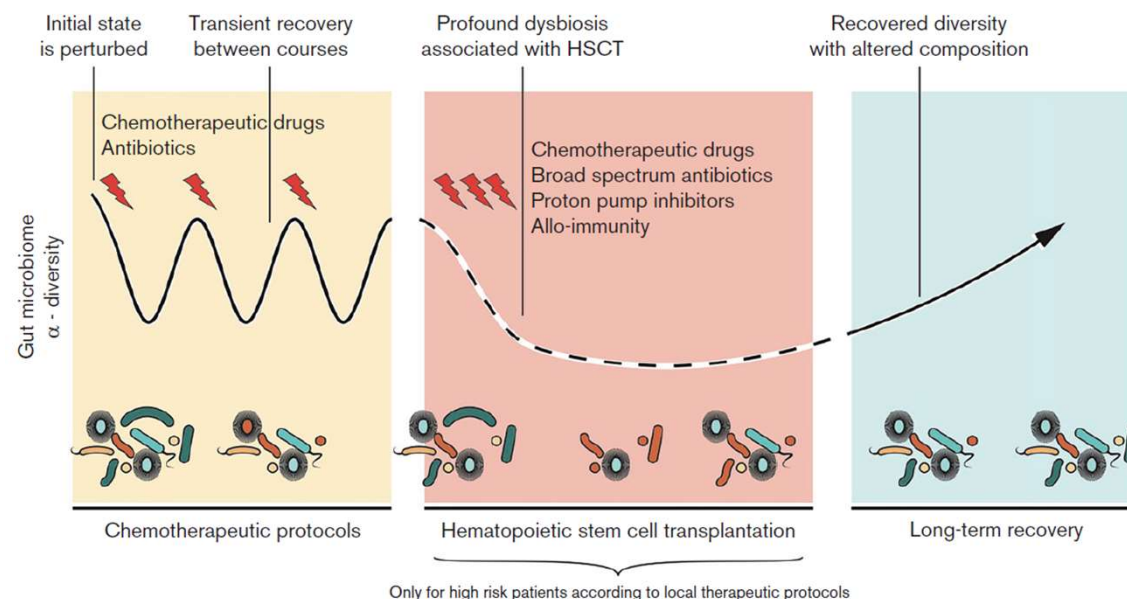
Streptococcaceae

Clostridiaceae

Enterococcus



Tovább fokozzák a bél barrier sérülését és az infekció lehetőségét



Masetti R, Muratore E, Leardini D, Zama D, Turrone S, Brigidi P, Esposito S, Pession A. Gut microbiome in pediatric acute leukemia: from predisposition to cure. *Blood Adv.* 2021 Nov 23;5(22):4619-4629. doi: 10.1182/bloodadvances.2021005129. PMID: 34610115; PMCID: PMC8759140.

II. Profilaktus AB használat



- Antibiotikum használat **csökkenti a morbiditást és mortalitást (mh-k megelőzésén keresztül)**

- **Sumetrolim** (szulfametoxazol és trimetoprim)

gram-pozitív baktériumok, gram-negatív baktériumok, Nocardia, Pneumocystis jirovecii

Mellékhatások:

- Rezisztencia, gombás fertőzések, C. difficile fertőzés
- Jelenleg nincs elegendő kutatás, de profilaktikus dózis kevésbé okoz a bél mikrobiomban változást

Bossù G, Di Sario R, Argentiero A, Esposito S. Antimicrobial Prophylaxis and Modifications of the Gut Microbiota in Children with Cancer. Antibiotics. 2021; 10(2):152.

II. AB a kezelés alatt

Piperacillin-tazobactam: széles spektrumú, Gram-pozitív, mind a Gram-negatív baktériumokat érinti.

Vancomycin: Gram-pozitív baktériumok ellen hat, így Firmicutes és Actinobacteria taxonok relatív abundanciáját csökkenti



A **Firmicutes** csoport számos tagja, fontos szerepet játszik a rövid láncú zsírsavak (**SCFA**) termelésében

- *Anaerostipes*
- *Blautia*
- *Dorea*
- *Roseburia*
- *Coprococcus*
- *Subdoligranulum*

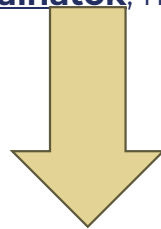


SCFA szükséges:

- GIT epiteliális sejtek energiametabolizmusához
- a **bél barrier** funkciójának fenntartásához
- **gátolja a gyulladást**, erősíti a vastagbél védelmét és a nyálkahártya immunitását,
- csökkenti az oxidatív stresszt

II. AB a kezelés alatt

- **Opportunista kórokozók növekedése:** A gombaellenes szerek jelentős mértékben növelik az oportunist kórokozók jelenlétét pl. *C. difficile*
- AB ambivalens szerepe
- **Hosszú távú hatással** lehetnek a jövőbeli egészségi állapotra, különösen fontos figyelembe venni az életkor hatását
- **3 év alatti** gyermekek esetében külön dilemma áll fenn, mivel életkoruk miatt fogékonyabbak a súlyos fertőzésekre, de mikrobiomjuk diverzitása csökken, így az antibiotikumok/gombaellenes szerek használatával fokozottan ki vannak téve a diverzitás csökkenésének kockázatának
- Az antibiotikumok és gombaellenes szerek használatával együtt jelentős növekedést tapasztaltak olyan baktériumok rel. Abundanciájában amelyek általában a **szájüregben találhatók**, mint például az ***Actinomyces*, *Rothia*, *Abiotrophia*** és ***Streptococcus***.



Az orális baktériumok számának növekedését a GIT mikrobiomjában **vastagbélrákos** betegeknél mutatták ki

Katherine A. Dunn^{1,2,3†}, Tamara MacDonald^{4,5†} Antibiotic and antifungal use in pediatric leukemia and lymphoma patients are associated with increasing opportunistic pathogens and decreasing bacteria responsible for activities that enhance colonic defense

III. Sugárkezelések

- ***Lachnospiraceae*, *Enterococcaceae*** család tagjait figyeltek meg, olyan leukémiás betegek **kezelés előtti** székletmintáiban, akiknél **kevésbé súlyos béltoxicitás alakult ki**, amikor allo-HSCT során **TBI**-t kaptak
- SCFA-t termelő probiotikumok, pl. a *Lactobacillus*ok és a *Bifidobaktérium*ok, nyújthatnak védelmet a TBI toxicitása ellen



SCFA-k szerepet játszhatnak a komplex terápiás hatékonyságban, főleg a mucosa protektív védelmén keresztül

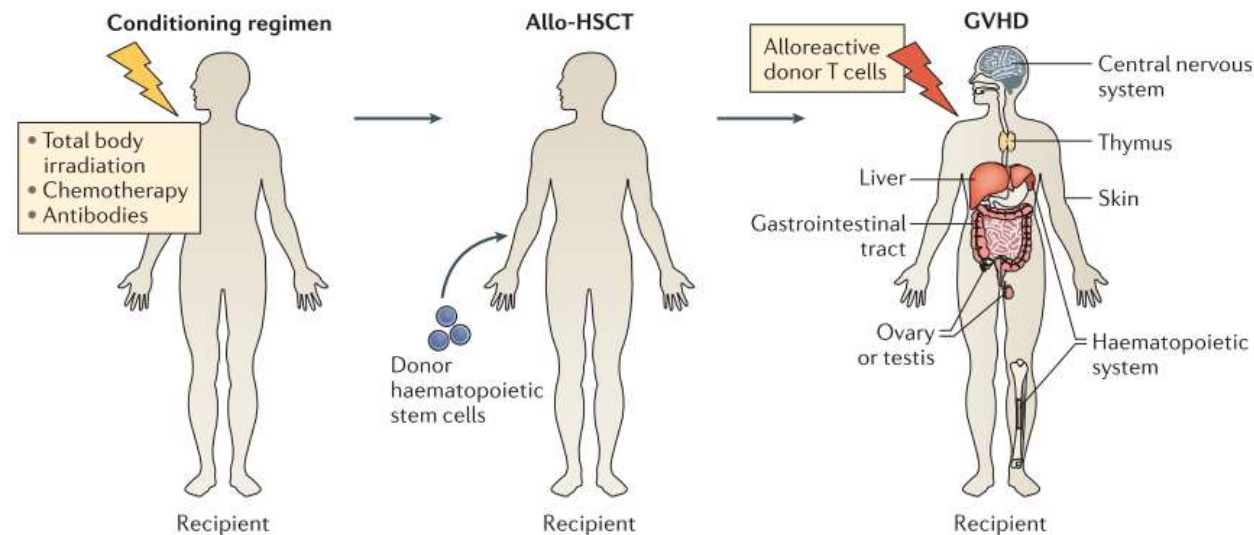
*Targeting the gut microbiota for cancer therapy
Miriam R. Fernandes, Poonam Aggarwal, Raquel G. F. Costa, Alicia M. Cole and Giorgio Trinchier*

IV. Össejt transzplantáció (HSCT)

- **Allogén:** ALL, AML
- **Autológ:** egyes szolid tumoroknál
 - Ewing-sarcoma
 - Neuroblastoma
 - Medulloblastoma

Szövődmény:

- GVHD
- Infekciók
- Sugárterápia mh.
- Kemoterápia mh.

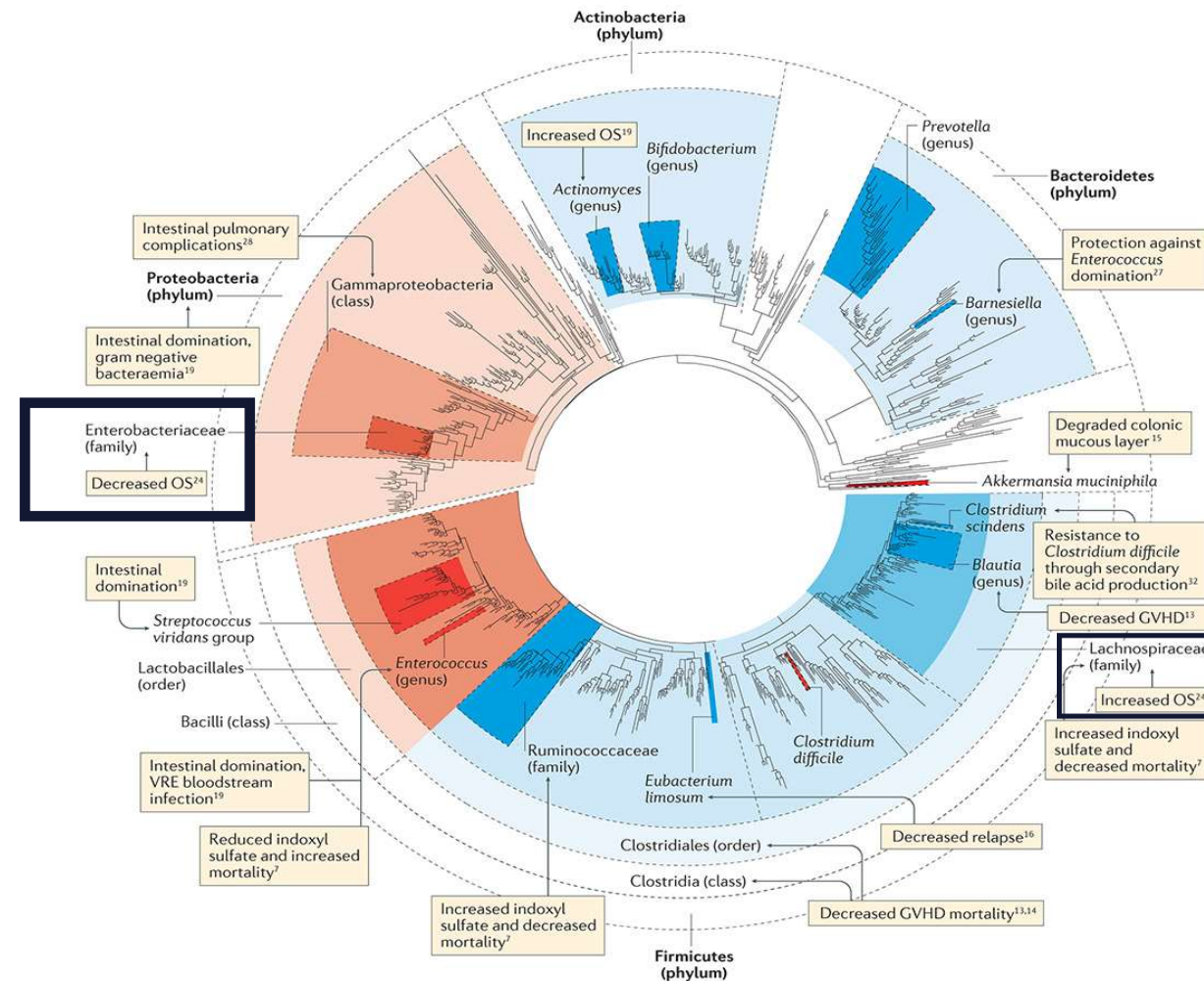


Targeting the gut microbiota for cancer therapy

Miriam R. Fernandes, Poonam Aggarwal, Raquel G. F. Costa, Alicia M. Cole and Giorgio Trinchier

IV. Allo-HSCT

- **Alacsony diverzitású** bélflóra **szignifikánsan növelte a mortalitást**
- *Gammaproteobacteria* (pl. *Enterobacteriaceae* család) összefüggésben hozható a **magasabb mortalitással**
- Magasabb relatív abundanciájú *Lachnospiraceae* és *Actinomycetaceae* család **kedvezőbb kimenetelet** jeleznek
- Széklet mikrobiom vizsgálat, mint prediktív marker?



Kék szín: előnyös hatás
Piros szín: negatív hatás

Shono Y, van den Brink MRM. Gut microbiota injury in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. Nat Rev Cancer. 2018



Kb. egy évvel terápia
után



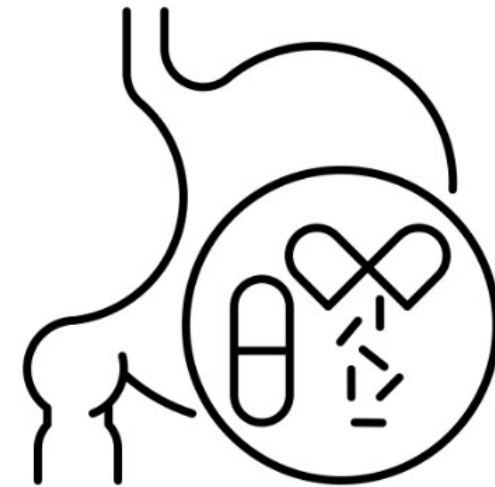
DE!



Ruminococcaceae
Lachnospiraceae
Faecalibacterium

Bél mikrobiom „helyreállítás”- Probiotikum

- Egyes **probiotikumok** segíthetnek (?) helyreállítani a mikrobiom megbomlott egyensúlyát
- Gyulladáscsökkentő és nyálkahártyavédő képességű taxonokat tartalmazó probiotikus készítmények, mint például a ***Lactobacillus spp.*** és ***Bifidobacterium spp.***, alkalmasak lehetnek a kemoterápia és a sugárterápia által kiváltott **toxicitás megelőzésére**
- ***Lactobacillus rhamnosus*** a kezelés alatt csökkentette a hospitalizációt és a GI mellékhatásokat
- Daganatos gyermekeknél, a probiotikumokat ma már különböző tanulmányok figyelembe veszik, mint a kemoterápiával és sugárterápiával összefüggő **mucositis** megelőzésének lehetséges eszközét



Prebiotikum, diéta

- Prebiotikum: olyan élelmiszer összetevők, amelyek serkentik a jótékony hatású baktériumok szaporodását
- Fermentált ételek fogyasztása (kimchi)
- Magas rosttartalmú ételek
- Oligoszacharidok fogyasztása

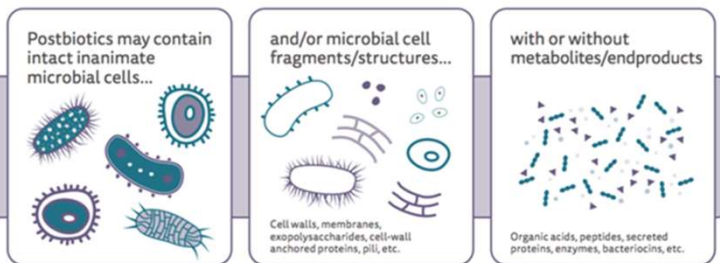


FTM és posztbiotikumok

Postbiotics

A postbiotic is a preparation of inanimate microorganisms and/or their components that confers a health benefit on the host.

COMPONENTS OF A POSTBIOTIC:



FTM (fecal microbiota transplantation) : Próbálkozások a mikrobiom helyreállítására faeces transzplantációval immunterápiával kapcsolatban pl. melanomában

➔ terápiás hatékonyságot fokozta

Posztbiotikumok: nem életkepes bakteriális termékek, metabolitok amelyek biológiai aktivitással bírnak a gazdaszervezetben (SCFA, poliszacharidok, vitaminok stb..)

Összefoglaló:

- A bél mikrobiom a **tumorgenezisben, kezelés hatékonyságában és a kimenetelre** is hatással lehet
- Gyerekkori tumorok és bél mikrobiom vizsgálata egyenlőre limitált az **alacsony esetszám** és **komplex kezelések** miatt
- Főleg **leukémiás** populációban történtek vizsgálatok:
 - *Egyes baktériumok* szignifikánsan emelkedettek voltak az **ALL-es betegekben (kezelés előtt)** **egészséges gyermekekhez képest**
 - **Bél mikrobiom, mint prediktív marker szerepe felmerül**
- A bél mikrobiom befolyásolhatja mind a rövid, mind a hosszú távú klinikai kimeneteket, ezért rendszeres vizsgálata szükséges lehet a kezelések során és után



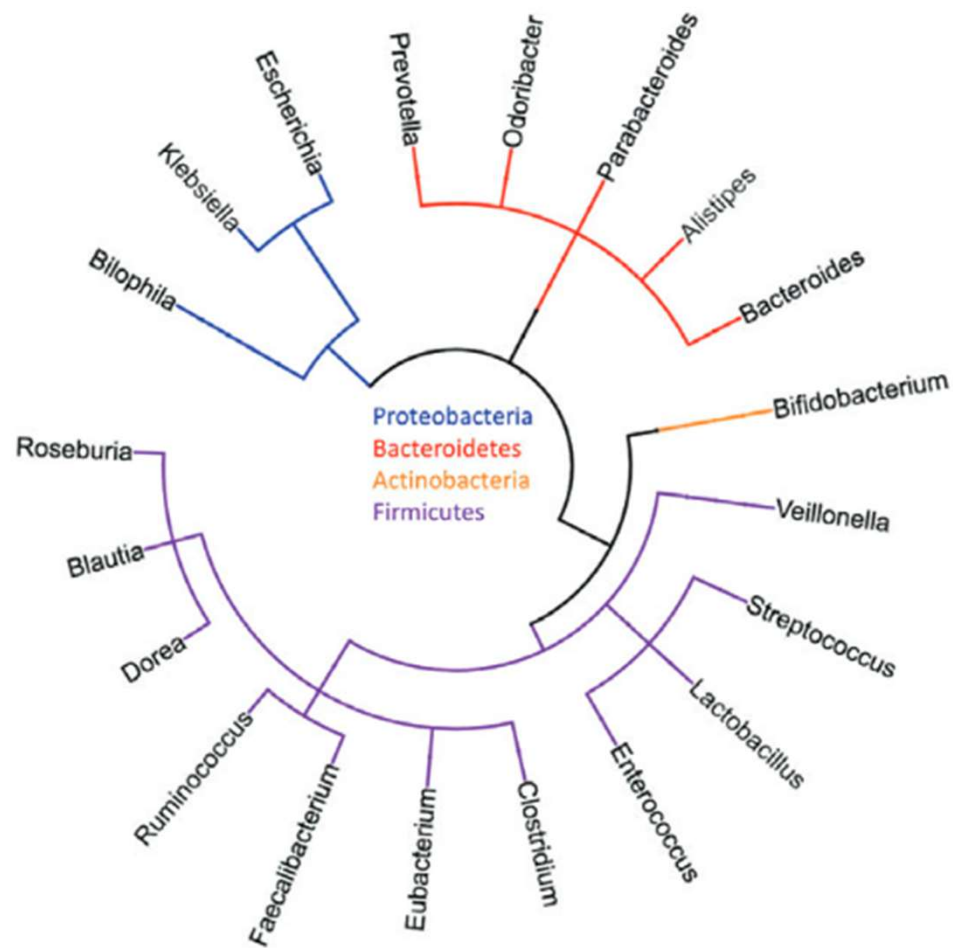


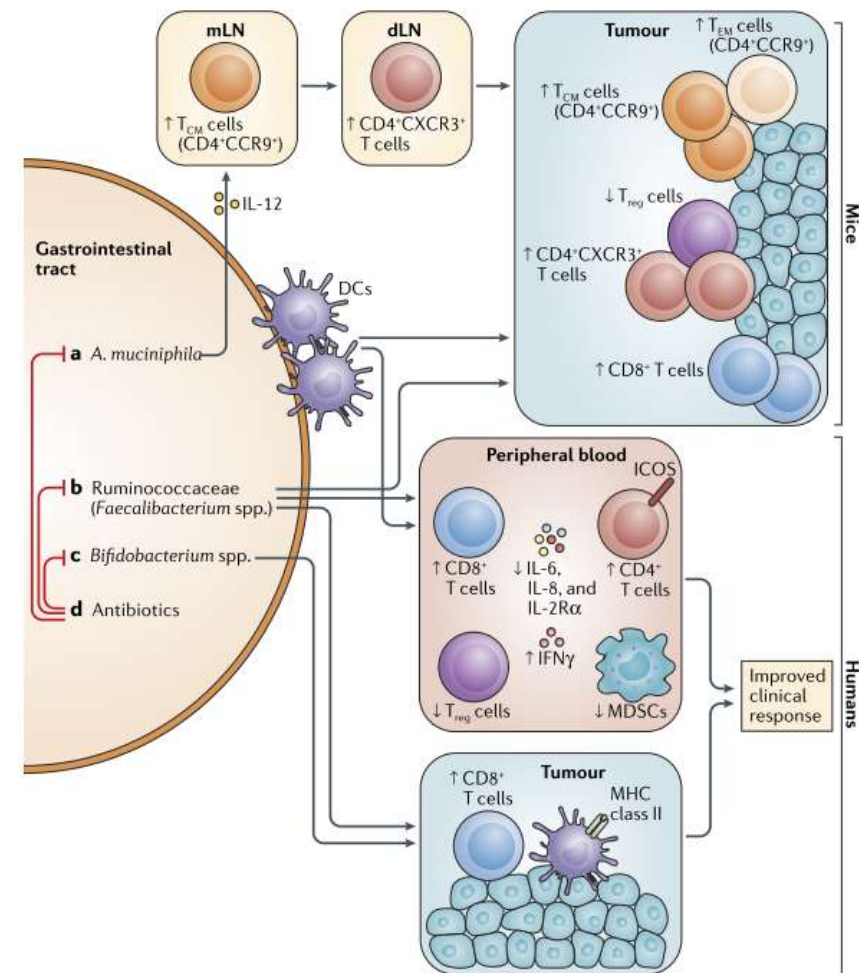
Table 1 | Clinical evidence that the gut microbiota composition is associated with the efficacy of anticancer therapies

Patient population	Antineoplastic treatment	Observations	Conclusions	Refs
Immunotherapy				
249 patients with advanced-stage cancers (140 with NSCLC, 67 with RCC, and 42 with urothelial carcinoma)	Immunotherapy with anti-PD-1 or anti-PD-L1 mAbs	- Patients prescribed antibiotics within 2 months before or 1 month after the first injection of anti-PD-1 or anti-PD-L1 mAbs had shorter PFS (3.5 months versus 4.1 months; $P=0.017$) and OS (11.5 months versus 20.6 months; $P<0.001$) durations - Metagenomic analyses revealed that <i>Akkermansia muciniphila</i> was enriched in responders	- Antibiotic prescription is associated with decreased response to ICB (association remained significant after multivariate analyses adjusted for known prognostic risk factors) <i>A. muciniphila</i> is associated with response to PD-1 blockade	22
43 patients with metastatic melanoma	Immunotherapy with anti-PD-1 mAb	16S rRNA analysis revealed that enrichment of <i>Faecalibacterium</i> spp. in baseline faecal samples was correlated with a better clinical outcome at 6 months ($P<0.01$) and increased densities of CD8 ⁺ T cells in the tumour microenvironment	Proof of concept demonstrated in mice: the higher abundance of <i>Faecalibacterium</i> spp. in germ-free mice transplanted with faecal samples from responders versus nonresponders confirmed that the gut microbiota dictates the outcome of therapy	82
42 patients with metastatic melanoma	Immunotherapy with either anti-PD-1 or anti-CTLA-4 mAbs	Therapeutic benefit was correlated with a high abundance of <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Collinsella aerofaciens</i> , and <i>Enterococcus faecium</i> ; <i>A. muciniphila</i> was present exclusively in responders	In germ-free mice, FMT of samples from patients with a response to ICB improved responsiveness to anti-PD-L1 antibodies in a T cell-dependent manner, suggesting that the bacteria have a direct role in dictating therapeutic outcomes	42
74 patients with advanced-stage NSCLC	Immunotherapy with anti-PD-1 mAb (nivolumab)	Prescription of antibiotics within 3 months before or during nivolumab treatment did not affect PFS; OS was not evaluated	In NSCLC, PFS after ICB was not influenced by antibiotics treatment	23
Two cohorts of patients with metastatic melanoma ($n=26$ and 39)	Immunotherapy with anti-CTLA-4 (ipilimumab) and/or anti-PD-1 (nivolumab) mAbs	16S rRNA cluster analysis revealed that patients with faeces enriched for <i>Faecalibacterium</i> spp. and Firmicutes had longer PFS durations - Responders to ipilimumab plus nivolumab or nivolumab alone had faeces that was enriched for <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> and <i>Dorea formicigenerans</i>, respectively	- Gut microbiota composition correlated with clinical outcome - Only 4 and 3 patients in these cohorts had recently received antibiotics; therefore, studies on the influence of antibiotic-related dysbiosis were inconclusive	84

Patient population	Antineoplastic treatment	Observations	Conclusions	Refs
Chemotherapy (cont.)				
- Discovery cohort: 16 patients with recurrent CRC and 15 patients without CRC recurrence - Validation cohort: 44 patients with recurrent CRC and 48 patients without CRC recurrence	Chemotherapy	16S rRNA analysis revealed that tumour enrichment for <i>F. nucleatum</i> was associated with recurrence after chemotherapy and was more predictive than standard AJCC clinical staging	<i>F. nucleatum</i> was a risk factor for CRC recurrence - In vitro, <i>F. nucleatum</i> bound to TLR4 on CRC cells and upregulated ULK1 and ATG7 activity via the MYD88 pathway, thereby promoting autophagy and chemoresistance	162
500 patients with haematological malignancies undergoing allo-HSCT	Different myeloablative and nonmyeloablative chemotherapy regimens	Gut decontamination with antibiotics correlated with an increased incidence of acute GVHD and, more importantly, gastrointestinal GVHD, translating to worse OS than that observed in patients who did not receive antibiotics	Antibiotic prophylaxis altered microbiota diversity and could potentially be included in the haematopoietic stem cell transplantation comorbidity index	163
Two cohorts of patients with haematological malignancies undergoing allo-HSCT ($n=541$ and 113)	Different myeloablative, reduced intensity, and nonmyeloablative chemotherapy regimens	16S rRNA analyses demonstrated that <i>Eubacterium limosum</i> was associated with a decreased risk of disease relapse and/or progression after allo-HSCT - High bacterial diversity in the gut and enrichment for <i>Blautia</i> spp. were associated with a decreased risk of GVHD-related death	- Gut microbiota composition predicted clinical outcomes of allo-HSCT - Antibiotic treatment was associated with under-representation of <i>Blautia</i> spp.	28,164
Chemotherapy				
800 patients with CLL and 122 patients with lymphoma	Cyclophosphamide-based chemotherapy	Patients treated with antibiotics targeting Gram-positive bacteria during anticancer therapy were less likely to achieve an objective response and had shorter PFS (14.1 months versus 44.1 months; $P<0.001$) and OS (56.1 months versus 91.7 months; $P<0.001$) durations than those who did not receive such antibiotics	- Gram-positive antibiotic use was an independent risk factor for disease progression - Eradication of Gram-positive bacteria and, thus, alteration of the gut microbiota are associated with impaired chemotherapy efficacy	159
64 adults with AML	Various induction chemotherapy regimens	- Low baseline microbiota diversity was correlated with an increased risk of infection; use of carbapenem antibiotics was associated with decreased diversity - Reductions in oral and faecal diversity occurred after induction chemotherapy, with enrichment for <i>Lactobacillus</i> spp. and loss of <i>Blautia</i> spp. and <i>Prevotella</i> spp.	- Chemotherapy and antibiotic use are correlated with decreased microbiota diversity - Low baseline microbiota diversity was a risk factor for infection	160
1,069 CRC specimens	Standard CRC therapy (surgery ± adjuvant chemotherapy)	Higher abundances of <i>Fusobacterium nucleatum</i> in tumour specimens, as measured by quantitative PCR, correlated with a higher pathological T stage and shorter OS durations	Microbiota composition correlated with clinical outcome, independent of standard cancer staging	161

~1012 distinct microbial species on Earth, 11 are labeled human carcinogens, or “oncomicrobes,” by the International Association for Cancer Registries (IACR)

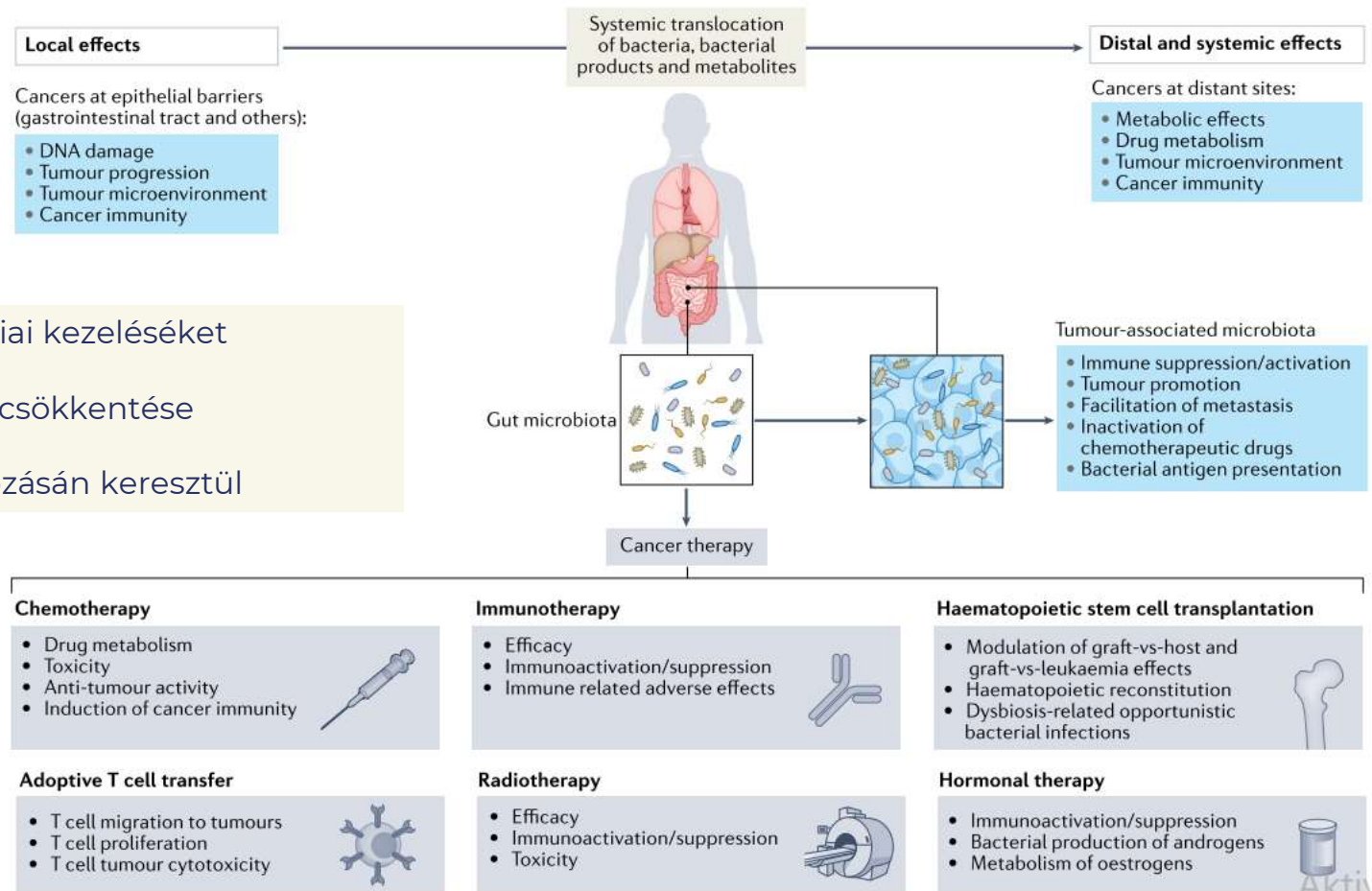
- Microbes initiate cancer through genotoxin-mediated mutagenesis; in particular, colibactin (a DNA alkylator), cytolethal distending toxin [CDT; direct deoxyribonuclease (DNase) activity], and *Bacteroides fragilis* toxin (Bft; reactive oxygen species (ROS) producer) cause mutational signatures found in colorectal, head and neck, and urinary tract cancers



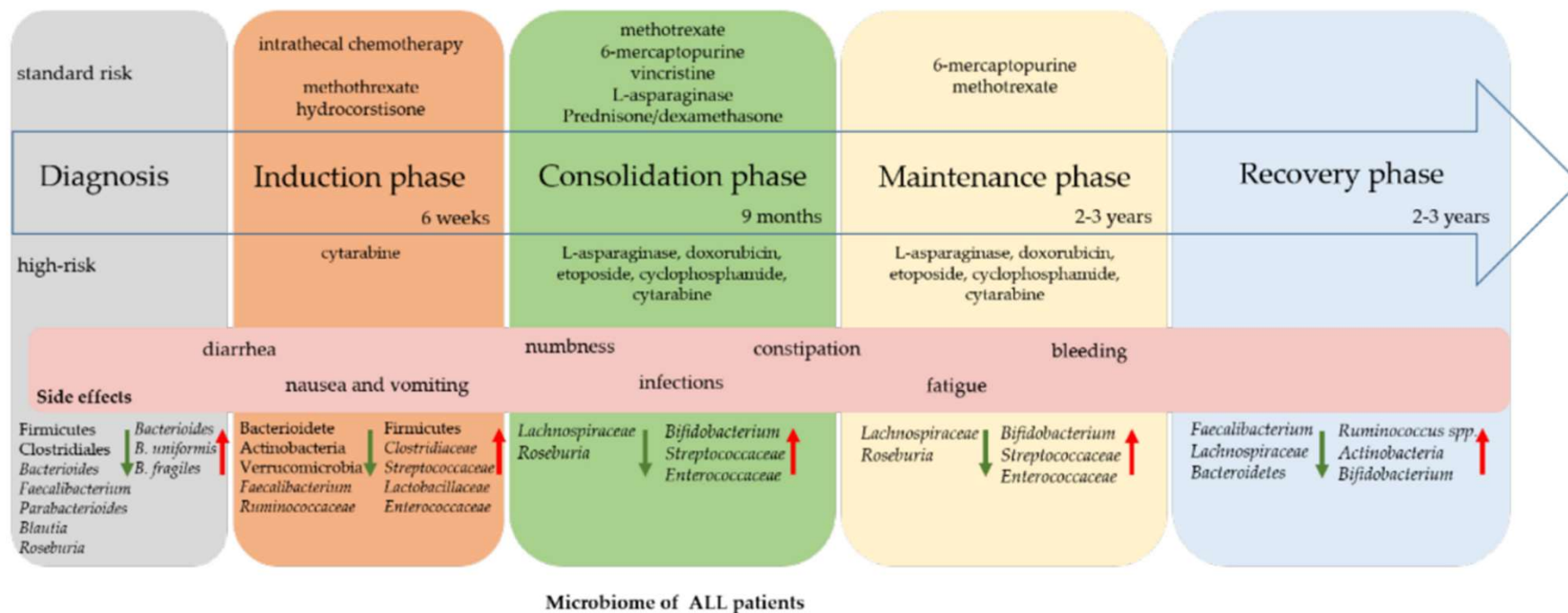
Mikrobiom és az onkológia

A bél mikrobióta befolyásolja az onkológiai kezelések

- a terápia hatékonyságának fokozása/csökkentése
- és a káros hatások megelőzésén/fokozásán keresztül

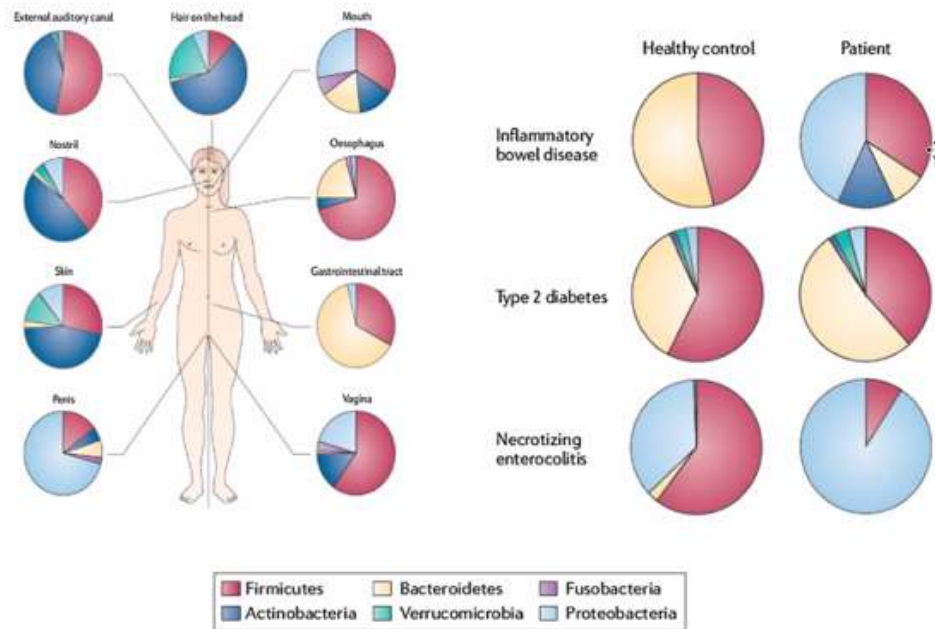


Fernandes et al., Nature Review Cancer, 2022



Colorectalis carcinoma

IBD



- Dysbiosis
- Bacterial diversity decrease
- Firmicutes phylum decreased
 - Faecalibacterium,
 - Blautia,
 - Roseburia
- Proteobacterium phylum increased
 - Enterobacteriaceae
 - E.coli

IBD

- Mikrobiális útvonal szabályozza a bélhámsejtek barrier funkcióját és meghatározzák az anti_TNF terápiára adott válaszkészséget
- Szaliciáltok szerepe: megnézték a mikrobiomra való hatását. Csökkent a mikrobiológiai diszbiózis, javult az

