

Received: 2012.03.16
Accepted: 2013.01.28
Published: 2013.08.09

Rola mikroflory jelitowej i bakterii probiotycznych w profilaktyce i rozwoju raka jelita grubego*

The role of intestinal microflora and probiotic bacteria in prophylactic and development of colorectal cancer

Ewa Wasilewska¹, Dagmara Złotkowska¹, Mariola E. Pijagin²

¹ Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

² Department of Pathology, Forde Central Hospital, 6807 Forde, Norway

Streszczenie

Mikroflora jelitowa to zespół mikroorganizmów, tworzących złożony ekosystem, którego aktywność wywiera istotny wpływ na zdrowie gospodarza. Oddziałuje ona na organizm na poziomie lokalnym i systemowym. Z punktu widzenia gospodarza może to być oddziaływanie korzystne lub szkodliwe, obejmujące: stan odżywienia organizmu, infekcje, metabolizm ksenobiotyków, toksyczność spożytych chemikaliów czy procesy nowotworowe. W pracy przeanalizowano rolę mikroflory jelitowej i probiotyków w rozwoju raka jelita grubego. Szczegółowo dyskutowane jest ochronne działanie probiotyków w patogenezie raka okrężnicy. Z badań eksperymentalnych wynika, że korzystna mikroflora jelitowa i jej aktywność metaboliczna wywiera istotny redukujący wpływ na zmiany nowotworowe w jelicie. Większość danych pochodzi jednak z badań na zwierzętach. Opublikowano kilkanaście dobrze udokumentowanych prac badawczych, w których wykazano istotny hamujący wpływ szczepów bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii na wczesne zmiany neoplastyczne i dalszy rozwój raka w jelicie grubym małych zwierząt. Badania dotyczące wpływu probiotyków na etiologię i wzrost raka w przewodzie pokarmowym człowieka są nieliczne. Niemniej, niektóre dane epidemiologiczne i kliniczne badania eksperymentalne, głównie z udziałem zdrowych ochotników, wskazują na istotną aktywność przeciwnowotworową probiotyków również w ludzkim przewodzie pokarmowym. Mechanizm przeciwnowotworowej aktywności probiotyków nie został poznany. Zakłada się, że probiotyki zwiększają pulę korzystnej mikroflory jelitowej i hamują rozwój patogenów, przez co zmieniają aktywność metaboliczną, enzymatyczną, warunki fizykochemiczne, redukują stany zapalne i wzmacniają aktywność immunologiczną w jelicie, co ogranicza procesy kancerogenne.

Słowa kluczowe:

probiotyki • bakterie fermentacji mlekowej • mikroflora jelitowa • rak jelita grubego • mechanizm

Summary

The gut microbiota comprises a large and diverse range of microorganisms whose activities have a significant impact on health. It interacts with its host at both the local and systemic level, resulting in a broad range of beneficial or detrimental outcomes for nutrition, infections, xenobiotic metabolism, and cancer. The current paper reviews research on the role of intestinal microflora in colorectal cancer development. Especially a protective effect of beneficial bacteria and probiotics on the risk of cancer development is highly discussed. There is substantial experimental evidence that the beneficial gut bacteria and their metabolism have the potential to inhibit the development and progression of neoplasia in the large intestine. Most of the

*Artykuł finansowany z grantu badawczego nr 2011/01/B/NZ9/07136 Narodowego Centrum Nauki.

data derive, however, from experimental and animal trials. Over a dozen well-documented animal studies have been published, wherein it has been clearly revealed that some lactic acid bacteria, especially lactobacilli and bifidobacteria, inhibit initiation and progression of colorectal cancer. Studies on cancer suppression in humans as a result of the consumption of probiotics are still sparse. Nevertheless, some epidemiological and interventional studies seem to confirm the bacterial anticarcinogenic activity also in human gut. The mechanism by which probiotics may inhibit cancer development is unknown. Probiotics increase the amount of beneficial bacteria and decrease the pathogen level in the gut, consequently altering metabolic, enzymatic and carcinogenic activity in the intestine, decreasing inflammation and enhancing immune function, which may contribute to cancer defense.

Keywords: probiotics • lactic acid bacteria • intestinal microflora • colorectal cancer • mechanism

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1061847>

Word count: 3311
Tables: 1
Figures: –
References: 68

Adres autorki: dr Ewa Wasilewska, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn; e-mail: e.wasilewska@pan.olsztyn.pl

WSTĘP

Rak jelita grubego zajmuje drugie miejsce w statystykach zachorowań na nowotwory złośliwe w krajach wysoko rozwiniętych i w Polsce. W 2007 r. w skali światowej zanotowano ponad 12 mln nowych przypadków zachorowań na raka i prawie 8 mln zgonów. Szacuje się, że w 2030 r. liczba odnotowanych rocznych zachorowań wzrośnie do 26 mln, a przypadków śmiertelnych do 17 mln, co ciekawe najwięcej w krajach średnio i słabo rozwiniętych [65].

Według aktualnej wiedzy rozwój choroby nowotworowej jest uwarunkowany predyspozycjami genetycznymi i warunkami środowiskowymi. Mechanizmy powstawania i zapobiegania nowotworzeniu są właściwie nieznanymi i są przedmiotem ciągłych badań. Wiele z nich może być powiązanych z aktywnością metaboliczną mikroflory przewodu pokarmowego.

Przewód pokarmowy dorosłego człowieka to złożony ekosystem, zawierający ponad 10^{12} mikroorganizmów w 1 g treści, które należą do około 1000 różnych gatunków drobnoustrojów. Kolonizujące jelito, głównie okrężnicę, populacje bakteryjne mają ogromny potencjał metaboliczny i enzymatyczny – współuczestniczą w metabolizmie wielu egzogennej i endogennej związków, tworząc produkty, które mogą wykazywać aktywność farmakologiczną lub toksykologiczną. Mimo że do okrężnicy dociera tylko niewielka grupa niestrawionych wcześniej składników pożywienia, wiele substancji pochodzących z żywności i ich metabolitów dostaje się tu z krwi, przez ścianę jelita lub z wydzielaną do prze-

wodu jelitowego żółcią i może ulegać dalszym przemianom w wyniku aktywności metabolicznej obecnych w okrężnicy bakterii. W konsekwencji powstaje wiele związków, które wpływają na fizjologię gospodarza, oddziałując nań szkodliwie lub korzystnie.

PROKANCEROGENNA AKTYWNOŚĆ MIKROFLORY JELITOWEJ

W wyniku negatywnych przemian metabolicznych indukowanych przez drobnoustroje jelitowe mogą powstawać substancje toksyczne, mutagenne i kancerogenne, które zatruwają organizm bądź przyczyniają się do rozwoju chorób nowotworowych.

Reddy i wsp. jako jedni z pierwszych wykazali, że u szczurów gnotobiotycznych bez drobnoustrojów (germ-free rats), liczba guzów w okrężnicy, po indukcji 1,2-dimetylohydrazyną, była znacznie mniejsza niż w grupie kontrolnej z naturalną mikroflorą jelitową [57]. Późniejsze badania potwierdziły, że kał ludzki wykazuje aktywność mutagenną, między innymi w związku z obecnością substancji genotoksycznych pochodzenia bakteryjnego. Bakterie mogą wytwarzać ze składników pokarmowych substancje genotoksyczne, kancerogenne, promujące rozwój nowotworów bądź mogą aktywować prokancerogeny do czynników reagujących z DNA. Stwierdzono znacznie niższy poziom adduktów DNA w tkankach szczurów „germ-free” żywionych dietą ludzką w porównaniu do tak samo żywionych szczurów konwencjonalnych hodowanych w warunkach otwartych. W badaniach Kado i wsp. na myszach TCR $b^{-/-}$ p53 $^{-/-}$ – z dużą skłonnością do spontanicznego rozwoju raka okrężnicy (myszy z podwójnym nokautem – łań-

cucha b receptora TCR limfocytów T oraz genu p53) aż 70% myszy zasiedlanych naturalną mikroflorą jelitową wykazywało obecność gruczolakoraków w okrężnicy, przy ich całkowitym braku w przypadku myszy jałowych bez mikroflory [28].

Dotychczasowe próby porównania mikroflory kałowej osób zdrowych i pacjentów z rakiem okrężnicy nie wykazały istotnych różnic w składzie mikroflory jelitowej. U osób z podwyższonym ryzykiem zachorowania stwierdzano jedynie podwyższoną liczbę komórek *Bacteroides*, lecytynazujemnych szczepów *Clostridium* oraz *Lactobacillus* [31,44]. W innych badaniach stwierdzono pozytywną korelację między obecnością niektórych szczepów *Lactobacillus* i *Eubacterium aerofaciens* a zmniejszonym ryzykiem wystąpienia nowotworu [44]. Do inicjacji procesu nowotworowego dochodzi na wiele lat przed jego zdiagnozowaniem, natomiast przewód pokarmowy i kolonizująca go mikroflora jelitowa to bardzo dynamiczny ekosystem, którego skład i aktywność metaboliczna zmienia się pod wpływem zmian środowiskowych, tj. pH czy różnice w zawartości tlenu i składników pokarmowych. Dlatego trudno znaleźć korelację między chorobą a inicjującą ją mikroflorą.

Stosunkowo dobrze udokumentowano związek powstania raka okrężnicy z obecnością szczepów *Streptococcus bovis*, gatunku często kojarzonego z bakterią i zapaleniem wsierdza. Już w latach 80 i 90 ub.w. badania wykazały, że 25-80% pacjentów z bakterią *S. bovis* miała nowotwory okrężnicy [63]. Klein i wsp. jako jedni z pierwszych stwierdzili podwyższoną liczbę komórek *S. bovis* w kale pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem okrężnicy [32]. Późniejsze badania *in vitro* i *in vivo* na szczurach traktowanych azoksymetanem (AOM) wykazały związek między prozapalną aktywnością białek ściany komórkowej *S. bovis*, a aktywnością nowotworową bakterii [5].

KORZYSTNA ROLA MIKROFLORY JELITOWEJ

Niekorzystnym zmianom w jelicie wytwarzanym przez mikroflorę oportunistyczną i patogeny przewodu pokarmowego, przeciwdziała tzw. korzystna mikroflora jelitowa. Wiedza na temat jej składu i funkcji jest wciąż ograniczona. Kolonizacja jelita rozpoczyna się bezpośrednio po urodzeniu i trwa przez wiele lat, a jej ostateczny, charakterystyczny dla osobnika skład różnych pozostających we wzajemnej równowadze populacji bakterii, w których na ogół przeważają gatunki z rodzaju *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* oraz pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, zależy od wielu egzo- i endogennych czynników.

Ustabilizowana mikroflora jelitowa często określana jest mianem fizjologicznej mikroflory jelitowej, ponieważ zapewnia prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Jej cechy charakterystyczne to zdolność zasiedlania błon śluzowych, adaptacja do zasiedlanych krypt bez zagro-

żenia zakażeniem w miejscu bytowania oraz zdolność odtwarzania się po zaburzeniu składu, np. w wyniku terapii antybiotykowej. Stabilność mikroflory jelitowej jest prawdopodobnie wynikiem rozpoznania bakterii nabytych we wczesnym dzieciństwie i wytworzenia na nie tolerancji przez układ odpornościowy jelit, który po fragmentacji i ekspozycji antygenów bakteryjnych identyfikuje je jako własne. Fizjologiczna flora jelitowa jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania układu pokarmowego, układu odpornościowego oraz prawidłowego trawienia pożywienia. Jej podstawowym zadaniem jest zapobieganie infekcjom i nadmiernemu namnażaniu mikroflory oportunistycznej. Bakterie jelitowe wpływają na wzrost, różnicowanie i wymianę enterocytów w jelicie, mają właściwości immunomodulacyjne, wpływają na czynności motoryczne przewodu pokarmowego, rozkładają obecne w pożywieniu toksyny i kancerogeny, syntetyzują substancje śladowe, fermentują nietrawione przez organizm składniki pożywienia oraz współuczestniczą w procesie wchłaniania elektrolitów i soli mineralnych [51].

Istnieje ścisły związek między mikroflorą jelitową, jej aktywnością metaboliczną a sposobem żywienia i zdrowiem gospodarza. Nasilające się złe nawyki żywieniowe, stres, antybiotykoterapia, niekorzystne czynniki środowiskowe i predyspozycje genetyczne przyczyniają się do zaburzeń składu i funkcji mikroflory przewodu pokarmowego i inicjacji procesów chorobowych. Dlatego, dużym zainteresowaniem dietetyków i lekarzy cieszą się probiotyki, zgodnie z definicją FAO/WHO żywe mikroorganizmy, które podawane we właściwej ilości korzystnie wpływają na organizm gospodarza. Od lat są z powodzeniem stosowane w profilaktyce i terapii niektórych chorób zakaźnych [21]. Podawanie probiotyków zwiększa pulę korzystnej mikroflory jelitowej, przez to wydaje się stwarzać również warunki do ograniczania zmian nowotworowych w jelicie.

ANTYKANCEROGENNA AKTYWNOŚĆ PROBIOTYKÓW

Z końcem lat siedemdziesiątych ub.w. Goldin i wsp. wykazali, że spożywanie mleka fermentowanego zawierającego pałeczki *Lactobacillus acidophilus* zwiększa ich liczbę w jelicie szczurów, a przez to redukuje poziom wytwarzanej przez bakterie jelitowe b-glukuronidazy, azoreduktazy i nitroreduktazy oraz liczbę bakterii gnilnych, takich jak pałeczki z grupy coli, przypuszczalnie biorące udział w wytwarzaniu promotorów raka i prokancerogenów [20]. Zapoczątkowało to okres intensywnych badań nad antykancerogenną aktywnością bakterii fermentacji mlekowej i probiotyków w jelicie. Najlepiej udokumentowana wiedza na ten temat pochodzi z badań na zwierzętach.

Badania na zwierzętach. Opracowano kilka modeli zwierzęcych, które okazały się użyteczne do identyfikacji czynników żywieniowych chroniących przed rozwojem raka jelita grubego [33]. W badaniach probiotyków powszechne uznanie znalazły modele chemicz-

nej indukcji nowotworu u małych gryzoni, w których zależnie od czasu trwania doświadczenia, monitorowane są ogniska ACF (aberrant crypt foci), czyli zmienne patologicznie krypty jelitowe, uważane za zmiany, które mogą być prekursorami zmian prowadzących do rozwoju gruczolaków i/lub raka jelita grubego oraz guzy rakowe CRC (colorectal cancer) [21]. Capurso i wsp. zanalizowali wyniki prac badawczych dotyczących wpływu probiotyków (w tym preparatów probiotycznych, bakterii fermentacji mlekowej lub mlecznych napojów fermentowanych) na zmiany neoplastyczne i rozwój raka jelita grubego opublikowane w bazie Medline w latach 1980-2006 [10]. Analizą objęto prace, w których monitorowano ogniska ACF lub guzy CRC. Zaktualizowane wyniki analizy poszerzone o prace opublikowane do lutego 2012 r. przedstawiono w tabeli 1. We wszystkich doświadczeniach, z wyjątkiem badań przeprowadzonych na myszach z nokautem genu IL-10 lub genu APC, zmiany przedrakowe i rakowe były indukowane kancerogenami. Badania wykazały istotny hamujący wpływ probiotyków na oba analizowane parametry. Łącznie przebadano 54 warianty preparatów probiotycznych, w tym w kierunku zmian ACF 33, a w kierunku zmian CRC 26 preparatów (tabela 1). Dwadzieścia dwa preparaty (z 33 badanych) redukowały zmiany ACF w jelicie, a 16 (z 26 badanych) zmiany CRC. Jedynie Caderni i wsp. wykazali wzrost ilości ACF po 16 tygodniach podawania szczurom synbiotyku ze szczepami *Lactobacillus* GG, *L. delbrueckii* subsp. *rhamnosus* i *B. lactis* Bb12, chociaż w tym samym doświadczeniu po 32 tygodniach autorzy stwierdzili spadek przypadków CRC [9]. W kilku innych doświadczeniach, w których wykorzystano kultury jogurtowe (szczep *S. thermophilus* i *L. bulgaricus*), *B. adolescentis*, *L. casei*, *B. longum*, *L. lactis* lub *E. faecium* w połączeniu z *L. helveticus* spp. *jugurti* nie stwierdzono wpływu badanych preparatów na występowanie ACF lub CRC [3,7,38,39,60,61]. Niektóre szczepy były skuteczne tylko w preparatach probiotycznych o zdefiniowanym składzie w połączeniu z prebiotykiem – w postaci synbiotyku [15,16,37]. Również inne badania, przeprowadzone w mniej popularnych układach modelowych, wykazały ochronne działanie probiotyków w rozwoju raka jelita grubego. Appleyard i wsp. stwierdzili ochronny wpływ probiotyku VSL#3 na rozwój CRC w układzie modelowym chronicznego zapalenia okrężnicy [2]. Z kolei Chen i wsp. wykazali redukcję wzrostu komórek rakowych po implantacji raka do myszy preinkubowanych *Lactobacillus acidophilus* NCFM [12]. Cytowane wyniki badań wskazują na zróżnicowaną, ale istotną aktywność probiotyków w ograniczaniu zmian nowotworowych w jelicie.

Badania z udziałem ludzi. Mimo obiecujących wyników na zwierzętach, brakuje badań skierowanych na ocenę skuteczności probiotyków w hamowaniu kancerogenezy w jelicie grubym człowieka. Dotychczasowe badania epidemiologiczne dotyczące roli diety w kancerogenezie jelitowej są bardzo niejednorodne, jeżeli chodzi o sposób ich przeprowadzenia, badane populacje, terminologię, definiowanie analizowanych czynników

czy ocenę stanu chorobowego. Nie były ukierunkowane bezpośrednio na analizę wpływu probiotyków na rozwój choroby, stąd opublikowane dane są niespójne i trudne do porównania. Niektóre wskazują jednak na antykanцерogenną aktywność w jelicie mlecznych napojów fermentowanych – produktów zawierających w swym składzie bakterie fermentacji mlekowej.

Stosunkowo dobrze udokumentowane przeprowadzone w latach 1985-1990 w USA (1482 przypadki) i we Francji (1268 przypadków) badania porównawcze pacjentów z rakiem okrężnicy i odpowiadających im pod względem wieku, płci i środowiska bytowania osób zdrowych wykazały odwrotną korelację między częstością występowania raka okrężnicy a spożywaniem jogurtu, przy braku wpływu innych produktów mlecznych [8,63]. Spożywanie jogurtu obniżało statystycznie śmiertelność z powodu raka jelita grubego w badaniach kohortowych przeprowadzonych w latach 1988-1990 w Japonii (ok. 108000 osób) [34]. Niestety inne, również dobrze udokumentowane badania, przeprowadzone w latach 1980-1988, 1986-1990 i 1967-1991, odpowiednio w USA (ponad 18000 osób), w Holandii (~121000 osób) i w Szwecji (~10000 osób) wskazują na brak zależności między procesem nowotworzenia a spożywaniem produktów mlecznych, w tym produktów fermentowanych [29,31,32]. Mimo to, ostatnie zakrojone na równie szeroką skalę prospektywne badania kohortowe w Szwecji (7 lat, około 46000 osób) i we Włoszech (12 lat, ok. 46000 osób), wyraźnie wskazują na odwrotną zależność między zachorowalnością na raka jelita grubego a spożywaniem wapnia i produktów mlecznych, w tym fermentowanych [36,52].

Brakuje klinicznych badań eksperymentalnych z udziałem probiotyków. Ishikawa i wsp. badali wpływ probiotyków (szczep *L. casei* o udokumentowanej aktywności antymutagennej) i błonnika (otręby pszenne) na rozwój raka jelita grubego u pacjentów po usunięciu co najmniej 2 gruczolaków lub wczesnego raka jelita grubego. Badaniem objęto 398 pacjentów [26]. Po czterech latach trwania doświadczenia częstość występowania gruczolaków o umiarkowanej lub dużej atypii była istotnie niższa w grupie żywionej szczepem *L. casei*. Jednak nie stwierdzono wpływu szczepu na rozwój zmian neoplastycznych u pacjentów otrzymujących jednocześnie błonnik pokarmowy. Dwa lata później Rafter i wsp. opublikowali wyniki badań randomizowanych, z podwójną próbą ślepa i kontrolą placebo, przeprowadzonych w ramach programu SYNCAN (finansowanego przez Unię Europejską) [55]. Autorzy przez 12 tygodni podawali pacjentom po wycięciu gruczolaka lub raka okrężnicy synbiotyki zawierający prebiotyk BeneoSynergy 1 (ORAFITL, Belgia) oraz probiotyczne szczepy *Bifidobacterium lactis* Bb12 i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *rhamnosus* GG. Komórki nabłonka pacjentów żywionych synbiotykiem były mniej podatne na działanie czynników cytotoksycznych i genotoksycznych w jelicie. Żywnienie interwencyjne synbiotykiem zwiększało pulę korzystnej mikroflory jelitowej, tj. *Bifidobac-*

Tabela 1. Zestawienie najważniejszych wyników badań przeprowadzonych na zwierzętach w latach 1977–2011

Czynnik probiotyczny		Kancerogen ^a	Model zwierzęcy ^a	Badane parametry ^a	Wpływ na analizowany parametr	Literatura
Sposób podawania	W ^b					
<i>L. acidophilus</i>	1	DMH	samce szczurów F344	CRC	- CRC po 20 tyg., brak różnic po 36 tyg.	18
Mleko fermentowane przez <i>S. thermophilus</i> lub <i>L. bulgaricus</i>	2	DMH	szczury F344	CRC	CRC - brak wpływu	59
<i>B. longum</i> BB-536	1	IQ	samce i samice szczurów F344	CRC	- CRC	56
<i>B. longum</i>	1	AOM	samce szczurów F344	ACF	- ACF	33
<i>Bifidobacterium</i> sp Bio lub mleko fermentowane przez <i>Bifidobacterium</i> sp Bio	2	DMH	samce szczurów F344	ACF	- ACF	1
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> GG	1	DMH	samce szczurów F344	CRC	- CRC	19
Bifidobakterie, <i>L. acidophilus</i> i FOS w mleku oddzielnie lub w połączeniu każdy z każdym	6	DMH	samce szczurów SprD	ACF	- ACF (tylko bifidobakterie w połączeniu FOS)	16
<i>B. breve</i>	1	DMH	szczury gnotobiotyczne F344 zasiedlane mikroflorą jelitową	ACF	- ACF	47
<i>B. longum</i> oddzielnie lub w połączeniu z laktulozą	2	AOM	samce szczurów F344	ACF	- ACF (wyższy w połączeniu)	11
<i>B. longum</i>	1	AOM	samce szczurów F344	CRC	- CRC	61
<i>L. acidophilus</i> ATCC 4356, <i>B. adolescentis</i> ATCC 17703, <i>C. perfringens</i> GAI0668 – podawane oddzielnie	3	AOM	samce szczurów SprD	ACF	- ACF tylko <i>L. acidophilus</i> i <i>C. perfringens</i>	3
<i>B. longum</i> podawany osobno lub w połączeniu z inuliną	2	AOM	samce szczurów SprD	ACF	- ACF (wyższy w połączeniu)	58
<i>L. acidophilus</i> NCFMTM	1	AOM	samce szczurów F344	ACF	- AFC	55
Bifidobakterie podawane osobno lub w połączeniu z oligofruktozą	2	DMH	samce szczurów SprD	ACF	- ACF (tylko w połączeniu)	15
<i>L. acidophilus</i> Delvo Pro LA1 podawany osobno (A), <i>L. acidophilus</i> Delvo Pro LA1 podawany w połączeniu z <i>B. animalis</i> CSCC1941 (AB), <i>L. rhamnosus</i> GG osobno (R), oraz <i>S. thermophilus</i> DD145 osobno (S)	5	DMH	samce szczurów SprD	CRC	- CRC (tylko w grupie A)	42
<i>L. casei</i> Shirota	1	AOM	samce szczurów SprD	ACF, CRC	- ACF, - CRC	68
<i>L. salivarius</i>	1	nie dotyczy	mysz z nokautem genu IL-10	CRC	- CRC	46
<i>L. casei</i> Shirota	1	3-MC	mysz CH3/Hen	CRC	- CRC	63

cd. Tabela 1. Zestawienie najważniejszych wyników badań przeprowadzonych na zwierzętach w latach 1977-2011

Czynnik probiotyczny	W ^b	Kancerogen ^a	Model zwierzęcy ^a	Badane parametry ^a	Wpływ na analizowany parametr	Literatura
Sposób podawania						
<i>L. acidophilus</i> lub <i>L. casei</i> lub <i>B. longum</i> w diecie standardowej (S) lub o zwiększonej zawartości tłuszczu (W)	3	MNU/DMH/AOM	samce szczurów SprD	ACF	- ACF (tylko <i>L. acidophilus</i> w diecie W)	7
Mieszanina bakterii fermentacji mlekowej	1	DMH	samce myszy ICR	CRC	- CRC	14
Mieszanina <i>L. rhamnosus</i> GG i <i>B. lactis</i> Bb12 osobno lub w połączeniu z prebiotykiem Raftilose-Synergy 1	2	AOM	samce szczurów F344	CRC	- CRC	13
Mleko fermentowane przez <i>B. animalis</i> DN-173010 lub przez <i>S. thermophilus</i> DN-001158	2	HAA	samce szczurów F344	ACF	- ACF	64
<i>C. butyricum</i> MIYAIR1588 w połączeniu ze skrobią kukurydzianą o wysokiej zawartości amylozy	1	AOM	samce szczurów F344	ACF	- ACF	44
Mieszanina szczepów <i>Lactobacillus</i> GG, <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>rhamnosus</i> oraz <i>B. lactis</i> Bb12 w połączeniu z prebiotykiem Raftilose Synergy 1	1	AOM	samce szczurów F344	ACF, CRC	ACF po 16 tyg., - CRC po 32 tyg.	9
Mieszanina szczepów probiotycznych	1	AOM	szczury SprD	ACF, CRC	- ACF, - CRC	40
<i>L. lactis</i> NZ9000	1	DMH	samce szczurów Wistar	CRC	CRC - brak wpływu	37
<i>L. lactis</i> zdolny do wydzielania endostatyny	1	DMH	samce szczurów Wistar	CRC	CRC - brak wpływu	36
<i>B. polyfermenticus</i>	1	DMH	samce szczurów F344	ACF	- ACF	52
<i>E. faecium</i> CRL 183	1	DMH	samce szczurów Wistar	ACF, CRC	- ACF, - CRC	62
<i>B. lactis</i> osobno lub w połączeniu ze skrobią oporną	2	AOM	samce szczurów SprD	CRC	- CRC (tylko w połączeniu)	35
Jogurt fermentowany przez <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 2038 i <i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> 1131	1	PhIP DMH	myszy transgeniczne z ludzkim genem c-Ha-ras Szczury F344	ACF, CRC	- ACF, - CRC	45
Soja fermentowana przez <i>E. faecium</i> CRL 183 i <i>L. helveticus</i> ssp. <i>jugurti</i> 416	1	DMH	samce szczurów Wistar SPF	ACF	Brak wpływu	60
Mleko fermentowane z dodatkiem <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> i <i>L. lactis</i> biovar <i>diacetilactis</i> DRC-1	1	DMH	szczury	CRC	- CRC	34

^a Skróty: DMH – 1,2-dimetylohydrazyna, AOM – azoksymetanu, IQ – 2-amino-3-metylimidazo(4,5-f)chinolina, MNU – N-metylo-N-nitrozomocznik, 3-MC – 3-metylocholantren, HAA – heterocykliczne aminy aromatyczne, F344 – Fischer 344, SprD – Sprague-Dawley, ACF – ogniska zmienionych patologicznie krypt jelitowych, CRC – rak jelita grubego;

^b ilość badanych różniących się składem preparatów zawierających analizowany czynnik probiotyczny

terium i *Lactobacillus* a zmniejszało populację *Clostridium perfringens*. U pacjentów po polipektomii obserwowano zmniejszenie proliferacji komórek, redukcję genotoksyczności wody fekalnej i jej zdolności do indukcji nekrozy w komórkach oraz poprawę bariery jelitowej i zmniejszone wydzielanie IL-2 przez jednojądrza-

ste komórki krwi obwodowej (PBMC). U pacjentów z rakiem okrężnicy stwierdzono zwiększone wytwarzanie IFN-g. Antykancerogenną aktywność probiotyków wykazano w klinicznych badaniach eksperymentalnych na zdrowych ochotnikach. Hatakka i wsp. przeprowadzili badania randomizowane z podwójną próbą

ślepą i kontrolą placebo z udziałem zdrowych ochotników, którym podawano kapsułki zawierające żywe komórki *L. rhamnosus* LC705 i *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS lub kapsułki zawierające placebo [22]. Żywnienie probiotykiem zwiększało pulę korzystnej mikroflory jelitowej i istotnie obniżało aktywność fekalnej b-glukozydazy, b-glukuronidazy i ureazy. W randomizowanych badaniach klinicznych Liu i wsp. z podwójną próbą ślepą, przeprowadzonych na pacjentach poddanych kolektomii jelita grubego (120 pacjentów), probiotyki (mieszanka komórek *Lactobacillus plantarum* OCGMCC 1258, *Lactobacillus acidophilus* LA-11 oraz *Bifidobacterium longum* BL-88 w dawce około 10^{11} jtk/g) poprawiały integralność bariery jelitowej, zwiększały pulę korzystnych bakterii jelitowych i zmniejszały ryzyko komplikacji w wyniku zakażeń okołoperacyjnych [41]. Podobnie Wada i wsp. testując szczep *Bifidobacterium breve* BBG-01 (Yakult, Japonia) stwierdzili korzystny, ograniczający wpływ probiotyku na występowanie biegunek i powikłań u dzieci z osłabionym układem immunologicznym – po chemioterapii nowotworów [66]. W innych badaniach wykazano, że suplementacja szczepem *Lactobacillus GG* jest dobrze tolerowana i może redukować częstość biegunek i dyskomfort brzuszny u pacjentów poddanych chemioterapii 5-fluorouracilem (5-FU) [50].

Niedawne wyniki Gianottia i wsp. wskazują na zróżnicowaną, zależną od szczepu aktywność antykancerogenną probiotyków [17]. Autorzy w randomizowanych badaniach klinicznych z kontrolą placebo porównali dwa znane z aktywności prozdrowotnej szczepy bakterii – *Bifidobacterium longum* BB536 i *Lactobacillus johnsonii* La1. Tylko *L. johnsonii* La1 powodował korzystne zmiany w składzie mikroflory jelitowej i pobudzał układ immunologiczny pacjentów z rakiem okrężnicy. U pacjentów, u których na śluzówce okrężnicy stwierdzano obecność szczepu *L. johnsonii* La1, w izolowanych z błony śluzowej i warstwy podśluzowej limfocytach stwierdzano zwiększoną ekspresję subpopulacji limfocytów T oraz markerów powierzchniowych CD3, CD4 i CD8.

POTENCJALNY MECHANIZM AKTYWNOŚCI ANTYKANCEROGENNEJ PROBIOTYKÓW

Mechanizm, dzięki któremu korzystna mikroflora jelitowa i probiotyki mogą hamować rozwój raka w jelicie grubym nie został poznany. Zakłada się, że proces ten jest wynikiem korzystnych ilościowych i jakościowych zmian mikroflory jelitowej oraz zmian aktywności metabolicznej i warunków fizykochemicznych w jelicie.

Do jelita grubego dociera duża grupa składników pożywienia nietrawionych w jelicie cienkim (tzw. błonnik pokarmowy) obejmująca polisacharydy nieskrobiowe (np. celuloza, hemiceluloza, gumy, pektyny), nietrawione oligosacharydy (nondigestible oligosaccharides, NDOs, np. inulina), ligniny i pochodne substancje roślinne oraz skrobię oporną. Większość z nich, zwłaszcza NDOs, takie jak inulina czy frukto-oligosacharydy

(dobrze poznane, jako prebiotyki preferencyjnie stymulujące wzrost korzystnej mikroflory jelitowej, głównie bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii), w jelicie grubym ulega całkowitej fermentacji pod wpływem rezydującej tam mikroflory jelitowej. W wyniku fermentacji wytwarzane są krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (głównie octowy, propionowy i masłowy) i obniża się pH w jelicie. Ma to podstawowe znaczenie w utrzymaniu homeostazy jelitowej i prawidłowych procesów fizjologicznych. Niższe pH działa limitująco na namnażanie mikroflory oportunistycznej i moduluje aktywność enzymatyczną w jelicie, a wytwarzane kwasy tłuszczowe są absorbowane przez różne komórki i tkanki organizmu oddziaływując na ich wzrost, proliferację i apoptozę [24].

Spożywanie probiotyków i mleka fermentowanego zwiększa pulę korzystnej mikroflory jelitowej i ogranicza wzrost i aktywność mikroflory chorobotwórczej i oportunistycznej biorącej udział w wytwarzaniu promotorów raka i prekancerogenów. Prawidłowo wyselekcjonowane mikroorganizmy probiotyczne konkurują o substancje odżywcze, wytwarzają substancje antagonistyczne wobec bakterii patogennych (np. bakteriocyny i kwas mlekowy), stymulują wytwarzanie przeciwciał reagujących z antygenami mikroorganizmów chorobotwórczych i blokują receptory jelitowe, przez co znacznie ograniczają obecność patogenów w jelicie. W konsekwencji obniża się aktywność enzymów fekalnych – b-glukuronidazy, b-glukozydazy, reduktazy azotanowej i nitroreduktazy. Człowiek jest nieustannie narażony na działanie związków obcych (ksenobiotyków), takich jak leki, środki konserwujące lub zanieczyszczenia środowiska zewnętrznego. Tylko niektóre z nich są wydalane z ustroju człowieka w postaci niezmienionej. Większość podlega przemianom, głównie w wątrobie w reakcji hydroksylacji i sprzęgania w wyniku, których zmienia się ich aktywność biologiczna i rozpuszczalność w wodzie (polarność), co ułatwia wydalanie z ustroju. Enzymy fekalne wpływając na te przemiany biorą udział w syntezie i aktywacji kancerogenów, genotoksyn i promotorów raka. Przeważająca większość ksenobiotyków ulega sprzężeniu i detoksykacji w wątrobie w reakcji glukuronidacji, a powstałe glukuronidy są wydzielane z żółcią do jelita. W jelicie, ze względu na małą swoistość substratową, bakteryjna b-glukuronidaza może je hydrolizować i ponownie uwalniać kancerogenne aglikony. W licznych badaniach *in vitro* i *in vivo* wykazano redukujący wpływ probiotyków na aktywność enzymów fekalnych w jelicie, głównie b-glukuronidazy, nitroreduktazy i azoreduktazy [43].

Bakterie jelitowe biorą udział w metabolizmie kwasów żółciowych i mogą się przyczyniać do wzrostu stężenia wtórnych kwasów żółciowych w jelicie. Z udziałem bakteryjnej 7 α -dehydroksylazy może dojść do odszczepienia glicyny i tauryny oraz grupy 7 α -OH z wytworzonych w wątrobie pierwotnych kwasów żółciowych, w jelicie powstają wtórne kwasy żółciowe, kwas deok-

sycholowy z kwasu cholowego i lithocholowy z chenodeoksycholowego [67]. Badania obserwacyjne na pacjentach z gruczolakami lub rakiem jelita grubego potwierdziły związek między stężeniem kwasów żółciowych w kale, zwłaszcza kwasu dezoksycholowego oraz stosunkiem kwasu dezoksycholowego do lithocholowego, a zachorowalnością na raka jelita grubego [25]. Wtórne kwasy żółciowe wpływają na nekrozę komórek, hiperplazję i aktywność prokancerogenną w jelicie, indukcję uszkodzeń DNA i apoptozę [18]. Zakłada się, że mogą one selekcjonować komórki odporne na apoptozę lub oddziaływać z wtórnymi przekaźnikami szlaków sygnałowych. Postuluje się też cytotoksyczne oddziaływanie kwasów żółciowych fazy wodnej kału (tzw. rozpuszczalnych kwasów żółciowych) na komórki nabłonka jelitowego, po którym następuje nadmierna proliferacja komórek. Żywnienie pacjentów chorych na raka okrężnicy mlekiem fermentowanym zawierającym szczep *L. acidophilus*, powodowało obniżenie stężenia rozpuszczalnych soli żółciowych w kale [40]. Biasco i wsp. wykazali, że 3-miesięczne podawanie szczepów *L. acidophilus* i *Bifidobacterium bifidum* pacjentom z gruczolakami okrężnicy obniżało pH w jelicie grubym i zmniejszało proliferację komórek rakowych [6]. Autorzy spekulują, że mogło to być spowodowane spadkiem stężenia kwasów żółciowych w fazie wodnej kału i obniżeniem cytotoxyczności.

Drobnoustroje jelitowe i probiotyki wykazują różną zdolność wiązania i/lub rozkładu związków potencjalnie kancerogennych oraz wytwarzania substancji antykancerogennych, przez co bezpośrednio modulują aktywność mutagenną, kancerogenną i genotoksyczną w jelicie. W badaniach *in vitro* wykazano, że bakterie fermentacji mlekowej wiążą heterocykliczne aminy i inne pochodzące z żywności substancje mutagenne, przez co obniża się ich aktywność [48]. Orrhange i wsp. stwierdzili redukcję asymilacji 3-amino-1,4-dimetylo-5H-pirydo (4,3-b)indolu (Trp-P-2, silnie mutagennego związku powszechnie występującego w smażonym mięsie i rybach) w różnych tkankach myszy żywionych dietą z dodatkiem bakterii fermentacji mlekowej [49]. Spożywanie pałeczek *Lactobacillus casei* przez ludzi spożywających duże ilości smażonego mięsa (ochotnicy) powodowało redukcję mutagenności moczu i kału [24]. Prawdopodobnie w wyniku wiązania i wydalania mutagenów z przewodu pokarmowego przez bakterie probiotyczne. Oprócz wiązania, korzystna mikroflora jelitowa może rozkładać substancje mutagenne. Jeszcze w latach osiemdziesiątych ub.w. Rowland i wsp. wykazali, że szczepy *Lactobacillus* rozkładają nitrozoaminy – związki o właściwościach mutagennych powszechnie występujące w peklowanym mięsie i suszonych rybach [58]. Także późniejsze badania potwierdziły udział bakterii jelitowych, w tym probiotyków, w degradacji substancji kancerogennych.

Inna teoria wyjaśniająca antykancerogenną aktywność bakterii, oparta głównie na badaniach *in vitro* na liniach komórkowych zakłada, że bakterie fermentacji mleko-

wej bądź produkty ich metabolizmu mogą oddziaływać bezpośrednio na komórki rakowe hamując ich proliferację. Nie zidentyfikowano jednak ani mechanizmu ani substancji odpowiedzialnych za ten proces.

Postuluje się, że bakterie fermentacji mlekowej mogą stymulować swoiste i nieswoiste mechanizmy odpowiedzi immunologicznej przyczyniające się do tłumienia i regresji zmian nowotworowych w jelicie. Odpowiedź immunologiczna na stan zapalny skutkuje wytwarzaniem cytokin aktywujących monocyty i makrofagi, które z kolei uwalniają cytotoksyczne cząsteczki, tj. IL-1, TNF- α czy INF-g, zdolne do lizy komórek rakowych [54]. Naturalną cytotoxycznością wobec komórek nowotworowych charakteryzują się komórki NK (natural killers). Badania modelowe na zwierzętach wykazały, że podawanie szczurom z indukowanym rakiem okrężnicy probiotyku *L. casei* Shiota powodowało spowolnienie rozwoju raka przy jednoczesnym wzroście aktywności komórek NK [64]. Także u ludzi obserwowano wzrost aktywności komórek NK po podawaniu szczepu *L. casei* Sirota [45]. W badaniach interwencyjnych na ludziach, z podwójną próbą ślepą, Aso i wsp. wykazali hamujące działanie podawanych doustnie preparatów *L. casei* (Yakult Honsha Co Ltd, Japan) na progresję zmian u pacjentów po resekcji przezcewkowej powierzchniowego raka pęcherza moczowego [4]. Autorzy sugerują, że mogło to być spowodowane antykancerogenną aktywnością szczepu poza lokalnym środowiskiem okrężnicy, w wyniku kontrolowanej aktywności immunologicznej. Nie wykluczają jednak, że efekt mógł być spowodowany redukcją substancji toksycznych w moczu [23].

PODSUMOWANIE

Oddziaływania mikroflory przewodu pokarmowego z organizmem gospodarza zachodzą na poziomie lokalnym i ogólnoustrojowym i obejmują wiele oddziaływań metabolicznych, fizjologicznych i immunologicznych. Z punktu widzenia gospodarza może to być oddziaływanie korzystne lub szkodliwe, obejmujące: stan odżywienia, możliwe infekcje, metabolizm ksenobiotyków, toksyczność spożytych chemikaliów czy procesy nowotworowe. Mechanizmy tych interakcji nie zostały jeszcze w pełni rozpoznane. Dotychczasowe badania dotyczące roli bakterii jelitowych w kancerogenezie raka jelita grubego wskazują na pro- bądź antykancerogenną aktywność różnych szczepów i gatunków bakterii jelitowych. Jak wynika z badań, przeprowadzonych głównie na zwierzętach, antykancerogenną aktywność wykazują obecne w jelicie bakterie fermentacji mlekowej i probiotyki. Niestety brakuje jednoznacznych danych potwierdzających antykancerogenną aktywność probiotyków w jelicie grubym człowieka. Istnieje potrzeba dalszych badań nad realną możliwością wykorzystania probiotyków w profilaktyce i leczeniu zmian neoplastycznych w jelicie, podobnie jak charakterystyki i selekcji szczepów wykazujących aktywność antykancerogenną w przewodzie pokarmowym człowieka.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abdelali H., Cassand P., Soussotte V., Daubeze M., Bouley C., Narbonne J.F.: Effect of dairy products on initiation of precursor lesions of colon cancer in rats. *Nutr. Cancer*, 1995; 24: 121-132
- [2] Appleyard C.B., Cruz M.L., Isidro A.A., Arthur J.C., Jobin C., De Simone C.: Pretreatment with the probiotic VSL#3 delays transition from inflammation to dysplasia in a rat model of colitis-associated cancer. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2011; 301: G1004-G1013
- [3] Arimochi H., Kinouchi T., Kataoka K., Kuwahara T., Ohnishi Y.: Effect of intestinal bacteria on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in the rat colon. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997; 238: 753-757
- [4] Aso Y., Akaza H., Kotake T., Tsukamoto T., Imai K., Naito S.: Preventive effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial. The BLP study group. *Eur. Urol.*, 1995; 27: 104-109
- [5] Biarc J., Nguyen I.S., Pini A., Gossé F., Richert S., Thiersé D., Van Dorsselaer A., Leize-Wagner E., Raul F., Klein J.P., Schöller-Guinard M.: Carcinogenic properties of proteins with pro-inflammatory activity from *Streptococcus infantarius* (formerly *S. bovis*). *Carcinogenesis*, 2004; 25: 1477-1484
- [6] Biasco G., Paganelli G.M., Brandi G., Brillanti S., Lami F., Callegari C., Gizzi G.: Effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on rectal cell kinetics and fecal pH. *Ital. J. Gastroenterol.*, 1991; 23: 142
- [7] Bolognani F., Rumney C.J., Pool-Zobel B.L., Rowland I.R.: Effect of *lactobacilli*, *bifidobacteria* and inulin on the formation of aberrant crypt foci in rats. *Eur. J. Nutr.*, 2001; 40: 293-300
- [8] Boutron M.C., Faivre J., Marteau P., Couillaud C., Senesse P., Quipourt V.: Calcium, phosphorus, vitamin D, dairy products and colorectal carcinogenesis: a French case - control study. *Br. J. Cancer*, 1996; 74: 145-151
- [9] Caderni G., Femia A.P., Giannini A., Favuzza A., Luceri C., Salvadori M., Dolara P.: Identification of mucin-depleted foci in the unsectioned colon of azoxymethane-treated rats: correlation with carcinogenesis. *Cancer Res.*, 2003; 63: 2388-2392
- [10] Capurso G., Marignani M., Delle Fave G.: Probiotics and the incidence of colorectal cancer: when evidence is not evident. *Dig. Liver Dis.*, 2006; 38 (Suppl. 2): S277-S282
- [11] Challa A., Rao D.R., Chawan C.B., Shackelford L.: *Bifidobacterium longum* and lactulose suppress azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*, 1997; 18: 517-521
- [12] Chen C.C., Lin W.C., Kong M.S., Shi H.N., Walker W.A., Lin C.Y., Huang C.T., Lin Y.C., Jung S.M., Lin T.Y.: 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: 1623-1634
- [13] Femia A.P., Luceri C., Dolara P., Giannini A., Biggeri A., Salvadori M., Clune Y., Collins K.J., Paglierani M., Caderni G.: Antitumorogenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*, 2002; 23: 1953-1960
- [14] Fukui M., Fujino T., Tsutsui K., Maruyama T., Yoshimura H., Shinohara T., Fukui M., Nada O.: The tumor-preventing effect of a mixture of several lactic acid bacteria on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in mice. *Oncol. Rep.*, 2001; 8: 1073-1078
- [15] Gallaher D.D., Khil J.: The effect of synbiotics on colon carcinogenesis in rats. *J. Nutr.*, 1999; 129 (Suppl. 1): 1483S-1487S
- [16] Gallaher D.D., Stallings W.H., Blessing L.L., Busta F.F., Brady L.J.: Probiotics, cecal microflora, and aberrant crypts in the rat colon. *J. Nutr.*, 1996; 126: 1362-1371
- [17] Gianotti L., Morelli L., Galbiati F., Rocchetti S., Coppola S., Beneduce A., Gilardini C., Zonenschain D., Nespoli A., Braga M.: A randomized double-blind trial on perioperative administration of probiotics in colorectal cancer patients. *World J. Gastroenterol.*, 2010; 16: 167-175
- [18] Gill C.I., Rowland I.R.: Diet and cancer: assessing the risk. *Br. J. Nutr.*, 2002; 88 (Suppl. 1): S73-S87
- [19] Goldin B.R., Gorbach S.L.: Clinical indications for probiotics: an overview. *Clin. Infect. Dis.*, 2008; 46 (Suppl. 2): S96-S100
- [20] Goldin B.R., Swenson L., Dwyer J., Sexton M., Gorbach S.L.: Effect of diet and *Lactobacillus acidophilus* supplements on human fecal bacterial enzymes. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1980; 64: 255-261
- [21] Hamilton S.R., Aaltonen L.A.: IARC WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive Tract. IARC Press, Lyon 2000
- [22] Hatakka K., Holma R., El-Nezami H., Suomalainen T., Kuisma M., Saxelin M., Poussa T., Mykkänen H., Korpela R.: The influence of *Lactobacillus rhamnosus* LC705 together with *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS on potentially carcinogenic bacterial activity in human colon. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008; 128: 406-410
- [23] Hayatsu H., Hayatsu T.: Suppressing effect of *Lactobacillus casei* administration on the urinary mutagenicity arising from ingestion of fried ground beef in the human. *Cancer Lett.*, 1993; 73: 173-179
- [24] Hinnebusch B.F., Meng S., Wu J.T., Archer S.Y., Hodin R.A.: The effects of short-chain fatty acids on human colon cancer cell phenotype are associated with histone hyperacetylation. *J. Nutr.*, 2002; 132: 1012-1017
- [25] Imray C.H., Radley S., Davis A., Barker G., Hendrickse C.W., Donovan I.A., Lawson A.M., Baker P.R., Neoptolemos J.P.: Faecal unconjugated bile acids in patients with colorectal cancer or polyps. *Gut*, 1992; 33: 1239-1245
- [26] Ishikawa H., Akedo I., Otani T., Suzuki T., Nakamura T., Takeyama I., Ishiguro S., Miyaoka E., Sobue T., Kakizoe T.: Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors. *Int. J. Cancer*, 2005; 116: 762-767
- [27] Järvinen R., Knekt P., Hakulinen T., Aromaa A.: Prospective study on milk products, calcium and cancers of the colon and rectum. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2001; 55: 1000-1007
- [28] Kado S., Uchida K., Funabashi H., Iwata S., Nagata Y., Ando M., Onoue M., Matsuoka Y., Ohwaki M., Morotomi M.: Intestinal microflora are necessary for development of spontaneous adenocarcinoma of the large intestine in T-cell receptor b chain and p53 double-knockout mice. *Cancer Res.*, 2001; 61: 2395-2398
- [29] Kampman E., Giovannucci E., van't Veer P., Rimm E., Stampfer M.J., Colditz G.A., Kok F.J., Willett W.C.: Calcium, vitamin D, dairy foods, and the occurrence of colorectal adenomas among men and women in two prospective studies. *Am. J. Epidemiol.*, 1994; 139: 16-29
- [30] Kampman E., Goldbohm R.A., van der Brandt P.A., van't Veer P.: Fermented dairy products, calcium, and colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Cancer Res.*, 1994; 54: 3186-3190
- [31] Kanazawa K., Konishi F., Mitsuoka T., Terada A., Itoh K., Narushima S., Kumemura M., Kimura H.: Factors influencing the development of sigmoid colon cancer. Bacteriologic and biochemical studies. *Cancer*, 1996; 77 (Suppl. 8): 1701-1706
- [32] Klein R.S., Recco R.A., Catalano M.T., Edberg S.C., Casey J.I., Steigbigel N.H.: Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon. *N. Engl. J. Med.*, 1977; 297: 800-802
- [33] Kobaek-Larsen M., Thorup I., Diederichsen A., Fenger C., Hoitinga M.R.: Review of colorectal cancer and its metastases in rodent models: comparative aspects with those in humans. *Comp. Med.*, 2000; 50: 16-26

- [34] Kojima M., Wakai K., Tamakoshi K., Tokudome S., Toyoshima H., Watanabe Y., Hayakawa N., Suzuki K., Hashimoto S., Ito Y., Tamakoshi A.; Japan Collaborative Cohort Study Group: Diet and colorectal cancer mortality: results from the Japan Collaborative Cohort Study. *Nutr. Cancer*, 2004; 50: 23-32
- [35] Kumar A., Singh N.K., Sinha P.R.: Inhibition of 1,2-dimethylhydrazine induced colon genotoxicity in rats by the administration of probiotic curd. *Mol. Biol. Rep.*, 2010; 37: 1373-1376
- [36] Larsson S.C., Bergkvist L., Rutegard J., Giovannucci E., Wolk A.: Calcium and dairy food intakes are inversely associated with colorectal cancer risk in the Cohort of Swedish Men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006; 83: 667-673
- [37] Le Leu R.K., Hu Y., Brown I.L., Woodman R.J., Young G.P.: Synbiotic intervention of *Bifidobacterium lactis* and resistant starch protects against colorectal cancer development in rats. *Carcinogenesis*, 2010; 31: 246-251
- [38] Li W., Li C.B.: Effect of oral *Lactococcus lactis* containing endostatin on 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon tumor in rats. *World J. Gastroenterol.*, 2005; 11: 7242-7247
- [39] Li W., Li C.B.: Lack of inhibitory effects of lactic acid bacteria on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumors in rats. *World J. Gastroenterol.*, 2003; 9: 2469-2473
- [40] Lidbeck A., Geltner-Allinger U., Orrhage K.M., Ottova L., Brismar B., Gustafsson J.A., Rafter J.J., Nord C.E.: Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplements on the fecal microflora and soluble fecal bile acids in colon cancer patients. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 1991; 4: 81-88
- [41] Liu Z., Qin H., Yang Z., Xia Y., Liu W., Yang J., Jiang Y., Zhang H., Yang Z., Wang Y., Zheng Q.: Randomized clinical trial: the effects of perioperative probiotic treatment on barrier function and post-operative infectious complications in colorectal cancer surgery - a double-blind study. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2011; 33: 50-63
- [42] Marotta F., Naito Y., Minelli E., Tajiri H., Bertuccelli J., Wu C.C., Min C.H., Hotten P., Fesce E.: Chemopreventive effect of a probiotic preparation on the development of preneoplastic and neoplastic colonic lesions: an experimental study. *Hepatogastroenterology*, 2003; 50: 1914-1918
- [43] Marteau P., Pochart P., Flourié B., Pellier P., Santos L., Desjeux J.F., Rambaud J.C.: Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1990; 52: 685-688
- [44] Moore W.E., Moore L.H.: Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995; 61: 3202-3207
- [45] Nagao F., Nakayama M., Muto T., Okumura K.: Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the immune system in healthy human subjects. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2000; 64: 2706-2708
- [46] Nakanishi S., Kataoka K., Kuwahara T., Ohnishi Y.: Effects of high amylose maize starch and *Clostridium butyricum* on metabolism in colonic microbiota and formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in the rat colon. *Microbiol. Immunol.*, 2003; 47: 951-958
- [47] Narushima S., Sakata T., Hioki K., Itoh T., Nomura T., Itoh K.: Inhibitory effect of yogurt on aberrant crypt foci formation in the rat colon and colorectal tumorigenesis in RasH2 mice. *Exp. Anim.*, 2010; 59: 487-494
- [48] Orrhage K., Sillerström E., Gustafsson J.A., Nord C.E., Rafter J.J.: Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutat. Res.*, 1994; 311: 239-248
- [49] Orrhage K.M., Annas A., Nord C.E., Brittebo E.B., Rafter J.J.: Effects of lactic acid bacteria on the uptake and distribution of the food mutagen Trp-P-2 in mice. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2002; 37: 215-221
- [50] Osterlund P., Ruotsalainen T., Korpela R., Saxelin M., Ollus A., Valtu P., Kouri M., Elomaa I., Joensuu H.: *Lactobacillus* supplementation for diarrhoea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomized study. *Br. J. Cancer*, 2007; 97: 1028-1034
- [51] Ouwehand A.C., Vaughan E.E.: *Gastrointestinal Microbiology*. Taylor & Francis Group, New York 2006
- [52] Pala V., Sieri S., Berrino F., Vineis P., Sacerdote C., Palli D., Masala G., Panico S., Mattiello A., Tumino R., Giurdanella M.C., Agnoli C., Grioni S., Krogh V.: Yogurt consumption and risk of colorectal cancer in the Italian European prospective investigation into cancer and nutrition cohort. *Int. J. Cancer*, 2011; 129: 2712-2719
- [53] Peters R.K., Pike M.C., Garabrant D., Mack T.M.: Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. *Cancer Causes Control*, 1992; 3: 457-473
- [54] Philip R., Epstein L.B.: Tumour necrosis factor as immunomodulator and mediator of monocyte cytotoxicity induced by itself, g-interferon and interleukin-1. *Nature*, 1986; 323: 86-89
- [55] Rafter J., Bennett M., Caderni G., Clune Y., Hughes R., Karlsson P.C., Klinder A., O'Riordan M., O'Sullivan G.C., Pool-Zobel B., Rechkemmer G., Roller M., Rowland I., Salvadori M., Thijs H., Van Loo J., Watzl B., Collins J. K.: Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007; 85: 488-496
- [56] Rao C.V., Sanders M.E., Indranie C., Simi B., Reddy B.S.: Prevention of colonic preneoplastic lesions by the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM in F344 rats. *Int. J. Oncol.*, 1999; 14: 939-944
- [57] Reddy B.S., Weisburger J.H., Narisawa T., Wynder E.L.: Colon carcinogenesis in germ-free rats with 1,2-dimethylhydrazine and N-methyl-n'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res.*, 1974; 34: 2368-2372
- [58] Rowland I.R., Grasso P.: Degradation of N-nitrosamines by intestinal bacteria. *Appl. Microbiol.*, 1975; 29: 7-12
- [59] Rowland I.R., Rumney C.J., Coutts J.T., Lievens L.C.: Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*, 1998; 19: 281-285
- [60] Shackelford L.A., Rao D.R., Chawan C.B., Pulusani S.R.: Effect of feeding fermented milk on the incidence of chemically induced colon tumors in rats. *Nutr. Cancer*, 1983; 5: 159-164
- [61] Silva M.F., Sivieri K., Rossi E.A.: Effects of a probiotic soy product and physical exercise on formation of pre-neoplastic lesions in rat colons in a short-term model of carcinogenic. *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, 2009; 6: 17
- [62] Singh J., Rivenson A., Tomita M., Shimamura S., Ishibashi N., Reddy B.S.: *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 1997; 18: 833-841
- [63] Tabibian N., Clarridge J.E.: *Streptococcus bovis* septicemia and large bowel neoplasia. *Am. Fam. Physician*, 1989; 39: 227-229
- [64] Takagi A., Matsuzaki T., Sato M., Nomoto K., Morotomi M., Yokokura T.: Enhancement of natural killer cytotoxicity delayed murine carcinogenesis by a probiotic microorganism. *Carcinogenesis*, 2001; 22: 599-605
- [65] Thun M.J., DeLancey J.O., Center M.M., Jemal A., Ward E.M.: The global burden of cancer: priorities for prevention. *Carcinogenesis*, 2010; 31: 100-110
- [66] [76] Wada M., Nagata S., Saito M., Shimizu T., Yamashiro Y., Matsuki T., Asahara T., Nomoto K.: Effects of the enteral administration of *Bifidobacterium breve* on patients undergoing chemotherapy for pediatric malignancies. *Support. Care Cancer*, 2010; 18: 751-759
- [67] Weisburger J.H., Wynder E.L.: Etiology of colorectal cancer with emphasis on mechanism of action and prevention. *Important Adv. Oncol.*, 1987; 197-220

[68] Yamazaki K., Tsunoda A., Sibusawa M., Tsunoda Y., Kusano M., Fukuchi K., Yamanaka M., Kushima M., Nomoto K., Morotomi M.: The effect of an oral administration of *Lactobacillus casei* strain shirota on azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci and colon cancer in the rat. *Oncol. Rep.*, 2000; 7: 977-982

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.