

Περίληψη διδακτορικής διατριβής

Τίτλος : « Η περιεγχειρητική χορήγηση προβιοτικών ως ρυθμιστής του εντερικού μικροβιώματος και η συσχέτιση της με τις μετεγχειρητικές επιπλοκές χειρουργικών επεμβάσεων για κολοορθικό καρκίνο »

Υποψήφια Διδάκτωρ : Μαγγανά Ορσαλία

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή :

- 1) Παπακωνσταντίνου Ιωάννης (επιβλέπων)
- 2) Κωνσταντουλάκης Μανούσος
- 3) Δημητρούλης Δημήτριος

Εισαγωγή:

Ο γαστρεντερικός σωλήνας φιλοξενεί ένα ιδιαίτερα περίπλοκο μικροβιακό οικοσύστημα, αποτελούμενο από περισσότερα από 10^{14} μικρόβια, που παραμένουν σχετικά σταθερά κατά την διάρκεια της ζωής. Αυτή η παρατήρηση μπορεί να οδηγήσει στην ιδέα ότι κάθε άνθρωπος μπορεί να διαθέτει μια μοναδική μικροβιακή «ταυτότητα», παρά τις αλλαγές σχετιζόμενες με την διαίτα, την χρήση αντιβιοτικών και την υγεία του ξενιστή. Το σύνολο των μικροοργανισμών που διαμένουν μέσα ή πάνω στο ανθρώπινο σώμα λέγεται μικροχλωρίδα, και το γονιδίωμα τους είναι γνωστό ως μικροβίωμα.

Η τρέχουσα βιβλιογραφία για την επίδραση του εντερικού μικροβιώματος στα αποτελέσματα της χειρουργικής αντιμετώπισης του κολοορθικού καρκίνου είναι περιορισμένη. Ωστόσο, τα υπάρχοντα δεδομένα συνάδουν, υποστηρίζοντας μια συσχέτιση μεταξύ της σύνθεσης του εντερικού μικροβιώματος και των μετεγχειρητικών επιπλοκών ασθενών χειρουργημένων για κολοορθικό καρκίνο.

Οι Shogan *et al.* έδειξαν ότι η ίδια η δημιουργία αναστόμωσης προκαλεί σημαντικές αλλαγές στη βακτηριακή σύνθεση στην αναστομωτική εστία. Οι Van Praagh *et al.* έδειξαν ότι η αναστομωτική διαφυγή σχετίζεται με χαμηλή μικροβιακή ποικιλομορφία στις μη καρκινικές γραμμές εκτομής των αναστομώσεων με χειρουργικό συρραπτικό στους ασθενείς με κολοορθικό καρκίνο.

Με βάση τα παραπάνω, φαίνεται λογικό να επανεκτιμήσουμε τον ρόλο των βακτηρίων στην αλλαγή της διαδικασίας επούλωσης και να διερευνήσουμε τρόπους για εξισορρόπηση των κατεστραμμένων βακτηριακών ειδών, με τον πιο απλό να είναι η χρήση προβιοτικών.

Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα, τα προβιοτικά μπορούν να είναι αποτελεσματικά στην αποκατάσταση της εντερικής μικροβιακής ποικιλομορφίας και στην μείωση της συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης μετεγχειρητικά..

Οι συνήθεις περιεγχειρητικές τακτικές, όπως η μηχανική προετοιμασία του εντέρου (MBP), η χορήγηση αντιβιοτικών (ABT) καθώς και το σχετιζόμενο με την χειρουργική επέμβαση στρες επηρεάζουν την μικροβιακή σύνθεση, οδηγώντας σε μια δυσβιωτική κατάσταση, η οποία προδιαθέτει σε επιπλεγμένη μετεγχειρητική πορεία.

Η αλλαγή του εντερικού μικροβιώματος με τα προβιοτικά φαίνεται χρήσιμη για την μείωση των σχετιζόμενων με μολύνσεις επιπλοκών στους χειρουργικούς ασθενείς. Περαιτέρω μελέτες χρειάζονται για να προσδιοριστεί η ορθότερη χορήγηση προβιοτικών, όπως και για να καθοριστεί η υποομάδα των ασθενών που θα ωφελούταν περισσότερο, πιθανώς ανάλογα με την ύπαρξη ενός διαφορετικού εντερικού μικροβιώματος. Με αυτόν τον τρόπο, τα προβιοτικά μπορούν να μειώσουν σημαντικά την εμφάνιση επιπλοκών μετά από χειρουργικές επεμβάσεις του κατώτερου πεπτικού.

Ερευνητικοί στόχοι :

Ο πρωταρχικός ερευνητικός στόχος είναι να διερευνηθεί η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής συσχέτισης μεταξύ της περιεγχειρητικής χορήγησης προβιοτικών και της εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών στις 30 μέρες μετά την επέμβαση για κολοορθικό καρκίνο.

Επίσης, θα διερευνήσουμε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής συσχέτισης μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και της εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών στις 30 μέρες από την επέμβαση, με την πιθανή ύπαρξη μιας μικροβιακής «ταυτότητας», ως προγνωστικού παράγοντα στους ασθενείς με κολοορθικό καρκίνο.

Τέλος, θα καθορίσουμε αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της περιεγχειρητικής χρήσης προβιοτικών και του εντερικού μικροβιώματος πριν και μετά την χειρουργική επέμβαση για κολοορθικό καρκίνο.

Ερευνητική Μέθοδος:

Προτείνουμε μια τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική δοκιμή περιλαμβάνοντας ασθενείς που υφίστανται χειρουργική επέμβαση για κολορρθικό καρκίνο.

Συμμετοχή δύο ερευνητικών κέντρων με συστηματική δραστηριότητα χειρουργικής κατώτερου πεπτικού με εξειδικευμένους χειρουργούς κατώτερου πεπτικού.

Κάψουλες είτε του εικονικού φαρμάκου είτε μίας φόρμουλας που θα περιέχει *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium Bifidum* και *Lactobacillus plantarum*, θα χορηγούνται δια της στοματικής οδού , ξεκινώντας 7 μέρες πριν την προγραμματισμένη επέμβαση και συνεχίζοντας για άλλες 7 μέρες μετεγχειρητικά.

Η σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος θα μελετηθεί από φρέσκα δείγματα κοπράνων και υλικό από τις χειρουργικές αναστομώσεις, αντίστοιχα.

Οι ασθενείς θα παρακολουθούνται μέχρι και 30 μέρες μετεγχειρητικά για την εμφάνιση μετεγχειρητικών επιπλοκών ως το πρωταρχικό αποτέλεσμα της μελέτης.

Πληθυσμός της μελέτης :

Ενήλικες ασθενείς που παρουσιάζουν ιστολογικά επιβεβαιωμένο αδενοκαρκίνωμα δεξιού, ορθού ή αριστερού κόλου, που κρίνονται κατάλληλοι για χειρουργική επέμβαση.

Πρωτεύοντα αποτελέσματα:

Χρονικό πλαίσιο: 30 μέρες μετά την χειρουργική επέμβαση.

- 1) Το ποσοστό των αναστομωτικών διαφυγών που ανιχνεύονται με ακτινολογικές τεχνικές.
- 2) Το ποσοστό των λοιμώξεων του χειρουργικού πεδίου.
- 3) Το ποσοστό του παρατεταμένου μετεγχειρητικού ειλεού που ανιχνεύεται με κλινική παρατήρηση της πρώτης αποβολής αερίων μετά την χειρουργική επέμβαση.
- 4) Νοσηρότητα και θνητότητα με χρήση της Clavien-Dindo ταξινόμησης.

Δευτερεύοντα αποτελέσματα :

1) Η σύνθεση του ενδοαυλικού μικροβιώματος καθώς και το σχετιζόμενο με τον εντερικό βλεννογόνο μικροβίωμα θα μελετηθούν με ανάλυση DNA, με ενίσχυση των βακτηριακών 16S ριβοσωματικού RNA γονιδίων, από φρέσκα δείγματα κοπράνων και υλικό από τις χειρουργικές αναστομώσεις, αντίστοιχα.

2) Η επίδραση της σύνθεσης του μικροβιώματος στην διάρκεια της νοσηλείας.

Summary of doctoral thesis

Title: « Perioperative administration of probiotics as a modulator of the intestinal microbiome and its impact on colorectal cancer surgery complications»

PhD candidate: Mangana Orsalia

Three-member advisory committee:

- 1) Papakonstantinou Ioannis (supervisor)
- 2) Konstantoulakis Manousos
- 3) Dimitroulis Dimitrios

Introduction:

The gastrointestinal tract hosts a particularly complex microbial ecosystem, consisting of more than 10^{14} microbes that remains relatively stable throughout life. This can lead to the idea that individuals might possess a unique microbial "identity", despite changes linked to diet, use of antibiotics and the host's health. All microorganisms residing within or on the human body are called microbiota, and their genomes are known as the human microbiome.

Current literature about the role of intestinal microbiome on colorectal cancer surgery outcomes is limited. However, there is consistency in the available data supporting a relation between the intestinal microbiome composition and postoperative complications in colorectal cancer surgery patients.

Shogan *et al.* showed that anastomosis construction itself causes important alterations to the bacterial composition at the anastomotic site. Van Praagh *et al.* showed that anastomotic leakage is associated with low microbial diversity in the non-cancerous resection lines of the stapled anastomoses of colorectal cancer patients.

It is reasonable to reconsider the role of bacteria in altering the healing process and to investigate a way of balancing the destroyed bacterial species, the simplest mode being probiotics.

There is evidence that probiotics may be effective in restoring gut microbiota diversity and reducing the systemic inflammatory response released postoperatively.

Standard perioperative cares, like mechanic bowel preparation (MBP), administration of antibiotics (ABT) and surgery-related stress affect the microbiome composition, leading to a dysbiotic state, which predisposes to complicated postoperative course.

Alteration of the intestinal microbiota with probiotics seems to be useful for reducing infectious complications in surgical patients. Further research is needed to define the best administration of probiotics, as well as to determine the subgroup of patients who could benefit most, depending possibly on the existence of a different intestinal microbiome. In this way, probiotics can effectively decrease the rate of complications after colorectal surgery.

Study Objectives:

The primary objective is to investigate if a significant association might exist between the administration of peri operative probiotics and the occurrence of postoperative complications at 30 days.

We will also investigate if a significant association might exist between the intestinal microbiome and the occurrence of postoperative complications at 30 days, with the existence of a microbiome "identity" as a prognostic marker in colorectal cancer patients.

Finally, we will determine if there is a correlation between perioperative use of probiotics and the intestinal microbiome before and after colorectal surgery.

Study Design:

We propose a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study enrolling patients undergoing colorectal surgery for cancer.

Two centers RCT. Participating centers hold a regular colorectal activity and have dedicated colorectal surgeons.

Capsules of placebo or of a formulation containing *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium Bifidum* and *Lactobacillus plantarum* will be administered per os, starting 7 days before operation and continuing for another 7 days postoperatively.

Patients will be followed up for 30 days with the development of postoperative complications as the primary outcome.

Study Population:

Adults with histologically confirmed right, rectal or left colon adenocarcinoma, eligible for surgery.

Primary Outcome Measures:

Time Frame: 30 days after surgery.

- 1) Rate of anastomotic leakage detected by imaging techniques.
- 2) Rate of surgical site infection. Time Frame: 30 days after surgery.
- 3) Rate of prolonged postoperative ileus detected by clinical observation of the first flatulence after the surgery.
- 4) Morbidity and Mortality using the Clavien-Dindo Classification.

Secondary Outcome Measures:

- 1) Microbiome composition: The composition of luminal microbiome and mucosal-associated microbiome will be studied by DNA analyses using amplification of bacterial 16S ribosomal RNA gene from fresh fecal samples and surgical anastomosis material, accordingly.
- 2) Impact of microbiome composition on length of hospitalization. Length of hospitalization will be detected and analyzed in association with microbiome composition.