

Utjecaj mikroba na terapije tumora

Čulo, Anja

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:217:061362>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI CI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

UTJECAJ MIKROBA NA TERAPIJE TUMORA

THE IMPACT OF MICROBES ON TUMOR THERAPIES

SEMINARSKI RAD

Anja ulo

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Ivan i Ba e

Zagreb, 2014.

Sadržaj

1. Uvod.....	2
2. Utjecaj mikroba na imunološki sustav.....	3
3. Utjecaj mikroba na terapije tumora.....	4
3.1. Imunoterapija CpG-oligonukleotidima.....	4
3.2. Kemoterapija spojevima platine.....	7
3.3. Kemoterapija ciklofosfamidom.....	9
3.4. Kemoterapija kamptotekinom.....	13
4. Zaključak.....	16
5. Literatura.....	16
6. Sažetak.....	19
7. Summary.....	19

1. Uvod

Ljudsko tijelo ne sadrži samo ljudske stanice. Naseljava ga oko 10^{14} mikroba i 10^{15} virusa. Ta kompleksna zajednica sadrži taksone iz različitih domena života: bakterija, arheja i eukariota. Geni tih organizama stvaraju naš mikrobiom. Njihova međusobna interakcija i interakcija s imunološkim sustavom domaćina ima veliki utjecaj na zdravlje ovjeka (Clemente i sur. 2012).

Mikrobi naseljavaju sve površine ljudskog tijela koje su u dodiru s okolišem. Većina ih se nalazi u probavnom traktu (Peterson i sur. 2009), ali se nalaze i u ustima (Nasidze i sur. 2009), u vagini (Ravel i sur. 2011) i na koži (Costello i sur. 2009). Zajednice bakterija na određenim dijelovima tijela pojedinaca su slične, ali ipak postoji interindividualna varijabilnost (Costello i sur. 2009). Različiti faktori utječu na sastav mikroba. Specifični geni domaćina utječu na sastav bakterija (Benson i sur. 2010), ali ne i virusa (Reyes i sur. 2010). Sastav bakterija, virusa i eukariota zdravih odraslih osoba je stabilan tijekom vremena. Za stabilnost su važni konstantni okolišni faktori i prehrana (Clemente i sur. 2012).

Sastav mikroba mijenja se od rođenja do starosti. Dugo vremena se smatralo da su fetusi u maternici sterilni, ali je kasnije pokazano da amniotska tekućina sadrži bakterije (Jimenez i sur. 2008). Najraniji uzorak stolice novorođenčeta sadrži male količine bakterija (Koenig i sur. 2011). Nakon rođenja, novorođenčetad je izložena mikrobima iz majčine vagine ili s kože, ovisno o načinu porođaja (Dominguez-Bello i sur. 2010). Raznolikost bakterija i virusa nakon rođenja je vrlo niska, a zatim se povećava tijekom razvoja (Clemente i sur. 2012). Rani kolonizatori probavila su obično aerotolerantni, a kasnije se zamjenjuju anaerobima. Krajem prve godine života sastav mikroba se počinje razvijati prema onome kakav pronašlazimo kod odraslih jedinki (Palmer i sur. 2007). U crijevima odraslog ovjeka dominiraju bakterije iz koljena *Bacteroidetes* i *Firmicutes*. Tijekom starosti dolazi do veće varijabilnosti u sastavu bakterija vjerojatno zbog bolesti i veće upotrebe lijekova (Clemente i sur. 2012).

Jedan od glavnih faktora koji može utjecati na sastav mikroba je upotreba antibiotika. S njima treba biti jako oprezan jer prekomjerna upotreba dovodi do stvaranja otpornih patogena. Neke bakterijske vrste se ne oporavljaju i do nekoliko mjeseci nakon tretmana, a dugorođeno dolazi do smanjene raznolikosti bakterija. Upotreboom antibiotika smanjuju se kolonizacijske sposobnosti vrsta koje se nalaze u probavilu što može dovesti do pojava anoga rasta stranih mikroba koji mogu uzrokovati različite bolesti (Clemente i sur. 2012).

U prošlosti su bolesti promatrane sa stajališta: „jedan mikrob – jedna bolest“. Bakterije, eukarioti i virusi su proučavani u uvjetima u kojima se smatralo da uzrokuju bolest. No, to se pokazalo neispravnim. S obzirom na to da ljudsko tijelo naseljavaju brojni mikrobi, ispostavilo se da su neke bolesti rezultat disbioze, a ne pojedinog patogena. Takve bolesti su dijabetes, pretilost te različite autoimune bolesti i alergije. Mikrobi sudjeluju u složenim interakcijama koje utječu na fenotip i liječenje bolesti. U budućnosti bi liječenje moglo uključivati aktivnu modulaciju sastava virusa i mikroba. Stvaranje zdrave mikrobne populacije bi se moglo postići i transplantacijom stranih mikroba. Sastav mikrobnih zajednica može se mijenjati i korištenjem antibiotika (Clemente i sur. 2012).

2. Utjecaj mikroba na imunološki sustav

Sisavci i mikrobi koevoluiraju milijunima godina pa stoga nije neobično da složena interakcija između ljudskog imunološkog sustava i simbiotskih mikroba. Mikrobi su potrebni za razvoj i prirodu ene i ste ene imunosti. U modernom okruženju mnogi ljudi nisu izloženi mikrobima potrebnima za razvoj normalnog imunološkog sustava što uzrokuje porast broja osoba s autoimunim bolestima i alergijama u razvijenim zemljama. Prirodni imunološki sustav prepoznaće opće molekule koje su prisutne kod velikog broja različitih bakterija kao što su komponente stanične stjenke (lipopolisaharid i peptidoglikan) i flagelin. *Toll-like* receptori (TLRs) su proteini koji domaćin koristi kako bi prepoznao takve antigene. Kad ti proteini nisu prisutni ili su mutirani, imunološki sustav u probavilu se ne razvija normalno. Simbiotski mikrobi utječu i na diferencijaciju T-limfocita (Clemente i sur. 2012).

Za imunološki sustav domaćin važna je sposobnost razlikovanja je li neka bakterija patogen ili simbiont. Prirodni imunološki sustav prepoznaće molekule koje su univerzalne. Stoga je za diskriminaciju bakterija zadužen sistem imunološki sustav. On prepoznaće antigene i ovisno o njima pokreće proučalne ili antiupalne odgovore. Mikrobi utječu na diferencijaciju CD4⁺ T-limfocita u pro- ili antiupalne skupine. Oni nastaju u timusu, a nakon toga odlaze na periferiju gdje različiti signali utječu na njihovo sazrijevanje i funkciju (Lee i Mazmanian 2010).

U 19. stoljeću Rudolf Virchow je uočio prisutnost leukocita unutar tumora. To je bila prva indikacija koja upućuje na povezanost upalnih procesa i tumora. Danas se zna da upalni odgovori igraju odlučujuću ulogu u različitim fazama razvoja tumora te u reakcijama tumora

na terapije. Mnogi okolišni uzroci tumora su povezani s nekom vrstom kronične upale. Upale utječu na odgovor imunološkog sustava domaćina na tumor pa se zato koriste u imunoterapijama i za povlačenje u inaktivaciju kemoterapija. U nekim slučajevima upale mogu i oslabiti u inak terapije (Grivennikov i sur. 2010).

3. Utjecaj mikroba na terapije tumora

Postoje različiti načini borbe protiv tumora: kemoterapija, operacija, terapija zračenjem, usmjerena terapija, imunoterapija, hipertermija, transplantacija matičnih stanica, fotodinamska terapija, terapija pomoći lasera i transfuzija krvi i krvnih produkata (www.cancer.org). Prilikom kemoterapije koriste se kemijske supstance koje se mogu podijeliti u nekoliko kategorija: alkilirajuće agensi (ciklofosfamid, ifosfamid), antraciklinski antibiotici (doksorubicin, bleomicin), spojevi platine (cisplatin, oksaliplatin), inhibitori mitoze (vincristin), antimetaboliti (5-fluorouracil), derivati kamptotekina (topotekan), modifikatori biološkog odgovora (interferon) i hormoni. U terapijama zračenjem koriste se X-zrake, -zrake i, rječ je, zračenje pomoći protona i neutrona. Zračenje stvara slobodne radikale koji zatim uništavaju stanice raka (Ozben 2006). Imunoterapije koriste imunološki sustav ovjeka za borbu protiv tumora. Iako su stanice raka manje imunogene od patogena, imunološki sustav ih je sposoban prepoznati i uništiti (Blattman i Greenberg 2004).

Različite terapije mijenjaju mikrookolinu tumora i time potiču imunološki odgovor koji uništava tumor. Upalne stanice povezane s tumorima potiču u proliferaciju stanica tumora i gume antitumorsku imunost. S obzirom na to da mikrobi iz probavnog sustava utječu na upale i imunost, ne samo lokalno već i u cijelome tijelu, postavlja se pitanje mogu li oni doprinositi terapijama tumora (Iida i sur. 2013).

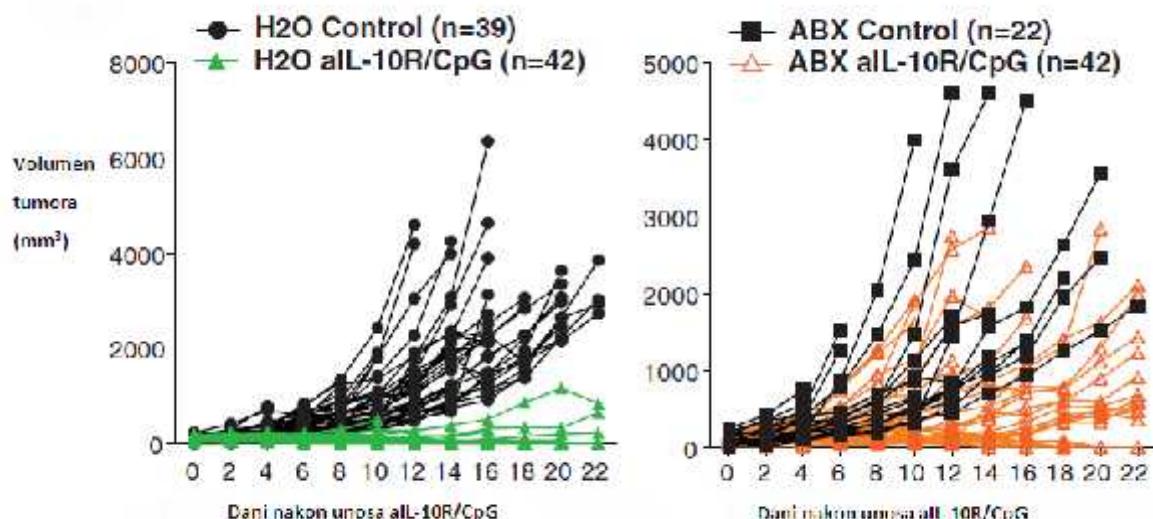
3.1. Imunoterapija CpG-oligonukleotidima

Imunogena svojstva DNA su otkrivena 1984. kad je primijeteno da DNA izolirana iz *Mycobacterium tuberculosis* aktivira NK stanice i potiče regresiju tumora. Dalnjim istraživanjima je utvrđeno da su za to zaslužne CpG sekvene u bakterijskoj DNA. Te sekvene su kod kralježnjaka obično metilirane. Sintetički oligodeoksinukleotidi (ODN) koji sadrže CpG motive pokazuju slična svojstva kao bakterijska DNA. Njihova biološka aktivnost ovisi o bazama na 5' i 3' krajevima. Metilacija citozina unutar CpG motiva poništava imunogena svojstva (Carpentier i sur. 2003). CpG-ODN imaju modificiranu fosfotioratnu

okosnicu koja ih ini otpornima na endonukleaze (Jahrasdörfer i Weiner 2008). Bakterijska DNA i CpG-ODN direktno aktiviraju B-limfocite i dendriti ke stanice kod sisavaca te makrofage kod miševa i štakora. Dendriti ke stanice su važne za obranu od patogena, ali i za poticanje antitumorskog odgovora (Vicari i sur. 2002). Aktivacijom dendriti kih stanica dolazi do izlu ivanja citokina što vodi do aktivacije T-limfocita i NK-stanica. CpG-ODN u stanice vjerojatno ulaze endocitozom gdje aktiviraju razli ite signalne puteve. *Toll-like* receptor 9 (TLR9) je najvažnija komponenta za prepoznavanje CpG-ODN. On je dio uro ene imunosti i važan je za prepoznavanje mikroba (Carpentier i sur. 2003). CpG-ODN poti e stanice na ekspresiju TLR9 (Shirota i sur. 2012). CpG-ODN se mogu koristiti sami, u kombinaciji s antitijelima ili antigenima i s dendriti kim stanicama (Carpentier i sur. 2003). Dodatak antitijela za receptor interleukina 10 (anti-IL-10R) pokazuje snažniju antitumorsku aktivnost od samog CpG-ODN i poti e antitumorsku imunološku memoriju (Vicari i sur. 2002). Istraživanja na modelnim organizmima pokazuju da CpG-ODN može pove ati antitumorsku aktivnost u kombinaciji s kemoterapijom i radioterapijom, no klini kim ispitivanjima je utvr eno da ne poboljšava u inak kemoterapije (Jahrasdörfer i Weiner 2008). Efikasnost terapije je ve a kad se CpG-ODN injektira direktno u tumor. Unutar mikrookoliša tumora, CpG-ODN pove ava broj T-limfocita i NK stanica (Shirota i sur. 2012).

Kako bi istražili utjecaj simbiotskih bakterija na upalne procese u mikrookolišu tumora, znanstvenici su miševima davali koktel antibiotika (ABX), koji se sastoji od vankomicina, imipenema i neomicina, po evši tri tjedna prije inokulacije tumora. Za potkožnu inokulaciju su izabrane tri vrste tumora s obzirom na osjetljivost na terapiju: EL4 limfom, MC38 karcinom debelog crijeva i B16 melanom. Miševi su analizirani ili tretirani kad su tumori dosegnuli promjer 4 mm. Predterapijska analiza ekspresije gena kod MC38 i EL4 tumora pokazala je smanjenu ekspresiju gena povezanih s upalom, fagocitozom i prezentacijom antigena, a pove anu kod gena zaduženih za razvoj tikva, rak i metabolizam (Iida i sur. 2013).

Miševi s MC38 i B16 su tretirani kombinacijom intratumoralnih CpG-oligonukleotida (ODN), ligandom *Toll-like* receptora 9 (TLR9) i antitijelima za receptor interleukina 10 (IL-10). Ova imunoterapija usporava rast tumora i produžuje život induciranjem hemoragijske nekroze pomo u faktora nekroze tumora (TNF) koji proizvode mijeloidne stanice povezane s tumorom. Ovaj tretman je induciraо nekrozu tumora u kontrolnoj skupini miševa s MC38. Efikasnost terapije je smanjena u miševima tretiranim s ABX što je prikazano na Slici 1.



Slika 1. Volumen tumora MC38 kod kontrolne skupine (lijevo) i životinja tretiranih s ABX (desno). Zelenim i naranastim su oznaene životinje podvrgnute anti-IL-10R/CpG terapiji (preuzeto iz: Iida i sur. 2013).

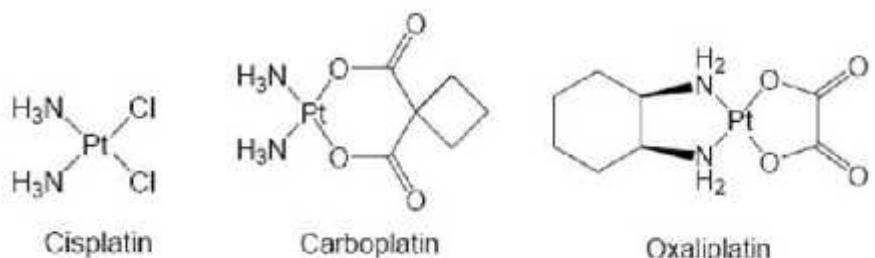
ABX je značajno smanjio ekspresiju *Tnf* inducirano pomoću CpG-ODN i u estalost TNF-pozitivnih leukocita u MC38 tumorima. Smanjio je u estalost stanica koje proizvode TNF i koliki su citokini po stanici kod različitih vrsta leukocita. Nakon anti-IL-10R/CpG-ODN terapije, tumori miševa tretiranih s ABX su pokazali smanjenu ekspresiju proučalnih *Il1a*, *Il1B*, *Il12b* i *Cxcl10* gena, ali ne i antiupalnih *Il10*, *Il1rn*, *Socs3* i *Nos2* gena. GF (*germ-free*) i SPF (*specific pathogen-free*) miševi s MC38 tumorom su primili anti-IL-10R/CpG-ODN terapiju. Tumori GF miševa su proizvodili znacajno manje koliko TNF-a. Ovi rezultati pokazuju da smanjenje populacije mikroba utječe na efikasnost terapije. Simbiotski mikrobi potiču u mijeloidne stanice povezane s tumorom na proizvodnju citokina kao odgovor na terapiju. ABX i nedostatak mikroba blokiraju taj odgovor i TNF-ovisnu nekrozu tumora. Praćena je produkcija TNF-a u ovisnosti o sastavu fekalnih mikroba kako bi se utvrdio utjecaj pojedinih bakterijskih vrsta na antitumorski odgovor. Korištene su dvije skupine mikroba: 1) tretman s ABX tijekom tri tjedna nakon čega je uslijedio oporavak jedan do pet tjedna i 2) tretman pojedinačnim antibiotikom tijekom tri tjedna. Kolika je bakterija se vratila na predtretmansko stanje tijedan dana nakon prestanka uzimanja ABX. Raznolikost bakterija je postupno rasla, ali nije dosegnula prijašnje stanje. Kako bi se vratila normalna ekspresija gena *Tnf* potrebna su bila pet tjedna. Pojedinačni antibiotici su pokazali varijabilnost u utjecaju na ekspresiju *Tnf*. Jedino je imipenem dosljedno smanjio ukupnu prisutnost bakterija. Identificirani su rodovi bakterija koji su pozitivno ili negativno korelirali s ekspresijom *Tnf*. Rod *Lactobacillus* je pokazao negativnu korelaciju. Uključujuće vrste *L. murinum*, *L. intestinalis* i *L. fermentum*. Za posljednju je od poznato da ima antiupalni učinak.

Pozitivnu korelaciju su pokazali rodovi *Ruminococcus* i *Alistipes* (*A. shahii*). Vrste roda *Lactobacillus* su se brzo oporavila nakon prestanka ABX tretmana. Oporavak rodova *Ruminococcus* i *Alistipes* je duže trajao i poklopio se s obnovom TNF odgovora. Davanje uzgojene *A. shahii* miševima prethodno tretiranim s ABX je obnovilo sposobnost mijeloidnih stanica povezanih s tumorom da proizvode TNF. Davanje *L. fermentum* netretiranim miševima je ublažilo odgovor (Iida i sur. 2013) .

3.2. Kemoterapija spojevima platine

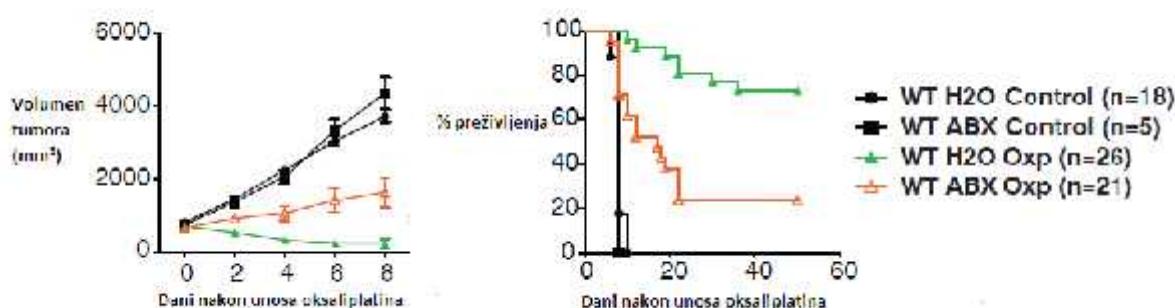
Poznato je da neki kemoterapeutici i terapije zra enjem uzrokuju stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) tijekom lije enja tumora. ROS su važni u prijenosu signala i za baktericidnu aktivnost fagocita, no mogu uzrokovati teška ošte enja biološki makromolekula, osobito DNA. Ošte enje membrane mitohondrija dovodi do izlaska citokroma c što poti e ulazak stanice u apoptozu. Velike koli ine ROS mogu dovesti i do nekroze. Stanice raka su izložene ve em oksidativnom stresu u usporedbi s normalnim stanicama zbog poja ane metaboli ke aktivnosti, ošte enja mitohondrija i pove anog stvaranja ROS. Oksidativni stres može potaknuti proliferaciju stanica tumora, uzrokovati mutacije i genetsku nestabilnost te uzrokovati promjene u osjetljivosti na antitumorski agens, no može i uništiti stanice pa se stoga koristi u terapijama tumora (Ozben 2006).

Spojevi platine (Slika 2.) stvaraju velike koli ine ROS (Ozben 2006). Oksaliplatina ometa replikaciju DNA i transkripciju te je nespecifi an za stani ni ciklus (Baker 2003). Sli na je cisplatini i karboplatini. Stvara kovalentne veze unutar lanca DNA i time sprje ava replikaciju. Koristi se sama ili u kombinaciji s 5-fluorouracilom (Ibrahim i sur. 2004). Cisplatina djeluje sli no kao oksaliplatina. Stvaranjem kovalentnih veza unutar lanaca DNA aktivira signalne putove koji vode stanicu u apoptozu (Siddik 2003). Oksaliplatina, za razliku od cisplatine, uzrokuje imunogenu stani nu smrt koja poti e antitumorsku imunost pomo u T-stanica (Iida i sur. 2013).



Slika 2. Kemijska struktura spojeva platine koji se koriste u kemoterapijama: cisplatina, karboplatina i oksaliplatina (preuzeto s: www.jeccr.com)

U inci terapija cisplatinom i oksaliplatinom ne ovise direktno o upalnom procesu. Kako bi ispitali utjecaj mikroba na takve terapije, znanstvenici su inokulirali miševe s limfomima EL4 i karcinomima debelog crijeva MC38. Tretman oksaliplatinom je uklonio većinu potkožnih EL4 tumora u kontrolnoj skupini miševa. Miševim tretiranim s ABX i GF miševi su pokazali smanjenu regresiju tumora i slab odgovor na terapiju (Slika 3.). U inci oksaliplatine na MC38 i cisplatine na EL4 tumore su također bili smanjeni kod životinja tretiranih s ABX. U inak ABX je primijećen dva dana nakon tretmana oksaliplatinom što ukazuje na supresiju rane citotoksičnosti. 18 sati nakon tretmana, ABX je smanjio promjene u ekspresiji gena primijećenih kod EL4 tumora. Inhibirao je gene povezane s diferencijacijom, aktivacijom i funkcijom monocita, a povećao je ekspresiju gena povezanih sa stanicnim funkcijama poput metabolizma, translacije, transkripcije i replikacije DNA (Iida i sur. 2013).



Slika 3. Volumen tumora EL4 kod kontrolne skupine i životinja tretiranih s ABX. Narančastim i zelenim su označene životinje tretirane oksaliplatinom (preuzeto iz: Iida i sur. 2013).

Analiza ekspresije gena nakon tretmana oksaliplatinom je pokazala da je smanjena indukcija proučalnih gena u odsustvu mikroba što ukazuje na važnost upalnog procesa za antitumorski u inak lijeka. Za razliku od anti-IL-10R/CpG-ODN terapije, antitumorski u inak oksaliplatine je neovisan o TNF. ABX tretman nakon unosa oksaliplatine je smanjio indukciju *Nox1* i *Cybb* koji kodiraju NADPH oksidazu 2 (NOX2) koja stvara ROS i *Nos2*, *Sod1* i *Sod2* koji su zaduženi za odgovor na ROS. Oksaliplatina je potaknula stvaranje ROS u tumorima

kontrolne skupine miševa, ali ne i one tretirane s ABX što je detektirano *in vivo* pomo u bioluminisenciji. Stvaranje ROS se može blokirati pomo u antioksidansa N-acetil cisteina (NAC). On blokira apoptozu stanica raka inducirana pomo u oksaliplatina *in vitro* i inhibira u inak terapije oksaliplatinom na mišje tumorske stani ne linije *in vivo*. Inhibicija stvaranja ROS pomo u deficijencije *Cybb* ili pomo u NAC smanjila je regresiju tumora inducirana s oksaliplatinom i smanjila je ukupnu stopu preživljena u usporedbi sa životnjama tretiranim s ABX. Redukcija mijeloidnih stanica pomo u Gr-1 antitijela smanjila je sposobnost oksaliplatine da inducira regresiju tumora i pove a preživljavanje. Ovi rezultati upu uju na to da do smanjenog u inka oksaliplatine u GF i ABX miševima dolazi zbog smanjene sposobnosti mijeloidnih stanica da stvaraju ROS (Iida i sur. 2013).

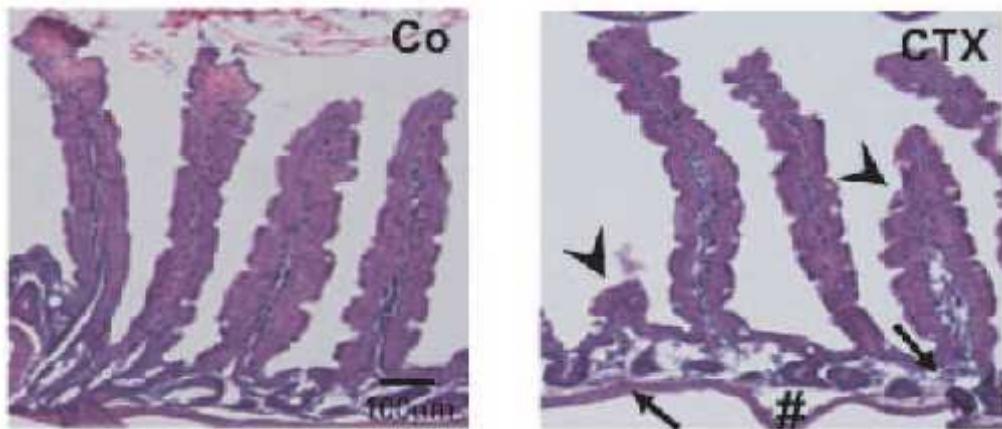
Koli ina tumorske DNA vezane s platinom je bila sli na kod kontrolne skupine i miševa tretiranih s ABX, iako su tumori ABX miševa pokazali manje ošte enja DNA, što zna i da ABX smanjenjem produkcije ROS sprje ava ošte ivanje DNA i apoptozu nakon vezanja s oksaliplatinom. Smanjena indukcija *Atr* gena zaduženog za odgovor na ošte enje DNA i gena *Bax*, *Fas*, *Cdkn1a* i *Rb1*, koji se nalaze nizvodno od p53, je u skladu sa smanjenim ošte enjem tumorske DNA i smanjenom p53-ovisnom aktivacijom apoptoze. Iako se prije smatralo da produkcija ROS od strane tumorskih stanica potrebna za citotoksi an efekt spojeva platine *in vitro*, ovi podaci ukazuju na to da ROS potrebni za genotoksi nost ve inom potje u od upalnih stanica povezanih s tumorima. ABX tretman utje e na citotoksi nost ubrzo nakon kemoterapije što je primije eno kod oksaliplatine i njemu sli ne cisplatine koja ne može potaknuti imunogenu stani nu smrt. Tako je potvr eno da simbiotske bakterije moduliraju genotoksi nost spojeva platine neovisno o imunosti potaknutoj imunogenom stani nom smrti. Aktivacija dendriti kih stanica i adaptivni antitumorski imunološki odgovor nakon oksaliplatine tako er zahtijeva upalni odgovor ovisan o simbiotskim bakterijama. Osim kompleksa platine, lijekovi poput antraciklina, alkiliraju ih agenasa, podofilotoksina i kamptotekina tako er induciraju ROS kao dio njihove antitumorske aktivnosti i vjerojatno se sli no reguliraju (Iida i sur. 2013).

3.3. Kemoterapija ciklofosfamidom

Ciklofosfamid (CTX) je alkiliraju i agens koji djeluje citotoksi no i imunosupresivno. Neaktivan je *in vitro*, ali produkti njegovog metabolizma nastali u jetri pokazuju biološku aktivnost. esto se koristi za lije enje tumora i autoimunih bolesti. Postoje njegovi brojni

analizi koji pokazuju specifi nije djelovanje (Ahmed i Hombal 1984). Koristi se kao imunosupresivni agens prije transplantacije organa. Karcinogen je i uzrokuje pojavu sekundarnih tumora. Stvara kovalentne veze unutar lanaca DNA. Uzrokuje mutacije gena, aberacije kromosoma i stvaranje mikronukleusa. (Anderson i sur. 1995).

Ciklofosfamid je alkiliraju e antitumorsko sredstvo koje inducira imunogenu stani nu smrt tumorskih stanica, uništava imunosupresorske T-stanice i poti e $T_{H}1$ i $T_{H}17$ stanice koje kontroliraju rast tumora. esto uzrokuju mukozitis (ozljeđu mukozne barijere koja je povezana s translokacijom bakterija) i neutropeniju. Te komplikacije zahtijevaju terapiju antibioticima koja može rezultirati disbiozom. 48 sati nakon ubrizgavanja CTX miševima, analizirana je epitelna barijera crijeva. Primije eno je skra enje malih crijevnih vila, nepovezanost epitelne barijere, intersticijski edemi i fokalna akumulacija mononuklearnih stanica u lamini propriji (Slika 4.). Nakon kemoterapije pove ava se broj vr astih i Panethovih stanica u vilima i kriptama. U duodenu muševa tretiranih s CTX je pove ana koli ina antibakterijskog enzima lizozima. Oralno unesen fluorescin izotiocijanat (FITC) – dekstran je detektiran u krvi 18 sati nakon uzimanja CTX što ukazuje na pove anu permeabilnost u crijevu. Ošte enja u crijevnoj barijeri su pra ena zna ajnom translokacijom simbiotskih bakterija u mezenteri ke limfne vorove i slezenu kod više od 50% muševa 48 sati nakon CTX tretmana. Nekoliko vrsta Gram-pozitivnih bakterija, uklju uju i *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus murinus* i *Enterococcus hirae*, uzgojeno je na hranjivim podlogama direktno iz tih limfnih organa. Analiziran je sastav crijevnih mikroba pomo u *high-throughput 454 pyrosequencing-a* i kvantitativne lanane reakcije polimerazom (QPCR). Iako CTX nije uzrokovao veliku disbiozu u ranim fazama (24-48 sati), promijenio je sastav mikroba u tankom crijevu kod muševa sa potkožnim tumorima (metastaziraju i melanom B16F10 i nemetastaziraju i sarkom MCA205) tjedan dana nakon terapije. CTX je smanjio prisutnost bakterijskih vrsta koljena *Firmicutes* u mukoznom sloju što je u skladu s izvješ imo o fekalnim uzorcima pacijenata. Ukupna koli ina bakterija i vrste *Clostridium leptum* u tankom crijevu nije promijenjena 7 dana nakon tretmana. No, CTX je doveo da smanjenja broja laktobacila i enterokoka. Ovi rezultati ukazuju na sposobnost CTX-a da potakne selektivnu translokaciju odre enih Gram-pozitivnih bakterija pra enu zna ajnim promjenama u mikrobiomu tankog crijeva (Viaud i sur. 2013).



Slika

4. Crijevni vili kod kontrolne skupine miševa (lijevo) i oše enja kod skupine tretirane s CTX (desno) (preuzeto iz: Viaud i sur. 2013).

Poklapaju i se sa disbiozom 7 dana nakon uzimanja CTX, u estalost $CD103^+ CD11b^+$ dendriti kih stanica i T-stanica koje proizvode transkripcijski faktor ROR t je zna ajno smanjena u lamini propriji tankog, ali ne i debelog crijeva. ROR t je potreban za stvaranje T_{H17} stanica koje proizvode interleukin-17 (IL-17). CTX poti e polarizaciju $CD4^+$ T stanica prema T_{H1} (proizvodnja interferona-) i T_{H17} putu. Ovaj u inak je specifi an za CTX. Crijevni mikrobi su neophodni za konverziju $CD4^+$ T-stanica u proizvo a e IL-17 kao odgovor na CTX. *Ex vivo* otpuštanje IL-17 pomo u splenocita stimuliranih pomo u receptora T-stanica (TCR) je poja ano nakon uzimanja CTX kod SPF (*specific pathogen free*) miševa, ali ne i kod GF (*germ free*) miševa. Sterilizacija crijeva pomo u antibiotika širokog spektra (ATB – kombinacija kolistina, ampicilina i streptomicina) je suprimirala u inak CTX na sekreciju IL-17 i IFN- od strane splenocita. Tretman miševa s vankomicinom, antibiotikom specifi nim za Gram-pozitivne bakterije, je smanjio konverziju T_{H17} inducirano pomo u CTX. Kod SPF miševa, broj laktobacila je pozitivno korelirao s T_{H1} i T_{H17} polarizacijom splenocita, a broj *Clostridium* skupine IV nije. Ovi rezultati upu uju na specifi no udruživanje odre enih mikrobioloških komponenti u lumenu crijeva (Viaud i sur. 2013).

CTX je u slezeni pove ao u estalost „patogenih“ T_{H17} (pT_{H17}) stanica, koje dijele zna ajke sa T_{H1} stanicama (ekspresija transkripcijskog faktora T-bet u jezgri, citoplazmatska ekspresija IFN- i izlaganje kemokinskog receptora CXCR3 na površini) i T_{H17} stanica (ekspresija ROR t, IL-17 i CCR6). Ovaj odgovor tako er ovisi o crijevnim mikrobima. Pove anje koli ine pT_{H17} stanica zahtijeva ekspresiju gena *MyD88* zaslužnog za diferencijaciju mijeloidnih stanica koji je potreban za uspjeh kemoterapija kod nekoliko tumorskih modela. Receptori Nod1 (*nucleotide-binding oligomerization domain-containing*) i

Nod2 nisu nužni za poveavanje kolićine pT_H17 u slezeni ni za usporavanje rasta tumora nakon CTX tretmana. Ovi rezultati potvrđuju sposobnost CTX da stimulira pT_H17 stanice kroz kompleksni put koji uključuje crijevne bakterije i *MyD88*, što je u skladu s njegovim antitumorskim učinkom. Uz u inak na brojnost pT_H17 stanica, CTX potiče antigen-specifični imuni odgovor protiv simbiotskih bakterija. Stoga je istraženo moguće Gram-pozitivne bakterijske vrste, koje su translocirane u sekundarne limfne organe nakon CTX tretmana, polarizirati CD4⁺ T stanice prema T_H1 ili T_H17 putu. *Lactobacillus johnsonii* i *Enterococcus hirae* stimuliraju diferencijaciju CD4⁺ T stanica u T_H1 i T_H17 stanice *in vitro*, u prisutnosti dendritičkih stanica poteklih iz koštane srži. *Escherichia coli* je pokazala slabiji efekt. Oralno davani *L. johnsonii* i *E. hirae*, ali ne i *L. plantarum* (koja nije detektirana u eksperimentima sa translokacijom), olakšali su rekonstituciju pT_H17 stanica u slezeni SPF miševa tretiranih sa ATB. T_H1 memorijski odgovor protiv *L. johnsonii* je detektiran u 50% miševa koji su primali CTX, ali ne i u kontrolnoj skupini, nakon *in vitro* restimulacije CD4⁺ T-stanica sa dendritičkim stanicama iz koštane srži uz dodatak *L. johnsonii* (slabiji u inak sa *E. hirae*). Uzimajući u obzir da disbioza inducirana sa CTX doseže vrhunac kasno (7. dan), zaključeno je da je translokacija specifičnih Gram-pozitivnih simbiotskih bakterija nužna za posredovanje između akumulacije pT_H17 stanica i T_H1 memorijskih odgovora specifičnih za bakterije (Viaud i sur. 2013).

Ispitivan je utjecaj antibiotika na sposobnost CTX da inhibira rast tumora. Dugotrajan tretman sa antibioticima širokog spektra ATB je smanjio sposobnost CTX da izlije i P815 mastocitome kod singeničnih DBA2 miševa. Antitumorski u inak CTX na MCA205 sarkome je bio slabiji kod GF miševa nego SPF miševa. Potaknuti opažanjima da CTX inducira translokaciju Gram-pozitivnih bakterija koje koreliraju sa T_H1/T_H17 polarizacijom u slezeni, usporedena je sposobnost nekoliko sastojaka ATB, vankomicina (uništava Gram-pozitivne bakterije) i kolistina (uništava uglavnom Gram-negativne bakterije), da utječe na inhibiciju rasta tumora inducirano pomoću CTX. Vankomicin, i slabije kolistin, su smanjili antitumorskog učinka CTX na MCA205 sarkome. Koristeći transgeni tumorski model autohtone plućne karcinogeneze potvrđena je inhibitorna uloga vankomicina na antitumorskog učinka CTX na MCA205 sarkome. Vankomicin je također spriječio CTX-induciranu akumulaciju pT_H17 u slezeni i smanjio je učestalost CD3⁺ T-stanica i T_H1 stanica (Viaud i sur. 2013).

Prije spomenutih rezultata isti u povezanost između promjena sastava crijevnih mikroba uzrokovanih CTX, akumulacije pT_H17 stanica u slezeni i uspjeha kemoterapije. Kako bi se

utvrdila veza između ovih pojava, TH17 ili pTH17 populacije stanica su prebačene u miševe tretirane vankomicinom i ispitivana je njihovu sposobnost da ponovno uspostave smanjenje rasta tumora posredovano pomoću CTX. *Ex vivo* umnožene pTH17 stanice pokazale su obrazac ekspresije gena similaran CD4⁺ T-stanicama induciranim pomoću CTX *in vivo*. Samo pTH17, ne i TH17, su mogli sprječiti negativan učinak vankomicina na terapeutski učinak CTX. Ovi rezultati naglašavaju važnost pTH17 stanica za antitumorski imunološki odgovor pomoću CTX (Viaud i sur. 2013).

3.4. Kemoterapija kamptotekinom

Kamptotekin je citotoksin alkloid izoliran iz drveta *Camptotheca acuminata*. Inhibira sintezu DNA i RNA u stanicama sisavaca. Uzrokuje fragmentaciju stanica ne-DNA. Inhibira djelovanje topoizomeraze I (Hsiang i sur. 1985). Topoizomeraza I je važna za održavanje superzavijenosti DNA i aktivna je u stanicama koje se brzo dijele (Wallace i sur. 2010). Kamptotekin pokazuje slabu biološku dostupnost pa se najčešće koriste njegovi derivati CPT-11 (irinotekan) i topotekan (Pizzolato i Saltz 2003). CPT-11 je jedan od tri najčešće korištena lijeka za rak debelog crijeva te se koristi i kod tumora pluća i mozga i nekih oblika leukemija i limfoma. Sadrži dipiperidino skupinu vezanu na karbamat koja povećava topljivost i dostupnost. Taj dio se uklanja *in vivo* kako bi nastao aktivni metabolit SN-38 (Wallace i sur. 2010).

CPT-11 uzrokuje teške proljeve zbog svoje kompleksne aktivacije i metabolizma. Neaktivni produkt metabolizma SN-38G se želi u kanalima izlučuje u gastrointestinalni trakt gdje na njega djeluje enzim -glukuronidaza koji proizvode simbiotske bakterije. Enzim uklanja glukuronidnu skupinu i time reaktivira SN-38 *in situ*. Koncentracije SN-38 u lumenu crijeva igraju važnu ulogu u pojavljivanju proljeva koji sprječavajuavanje doze terapije i smanjuje efikasnost terapije kod 40% pacijenata. Efikasnost CPT-11 je moguća povećati upotrebom antibiotika koji smanjuju koloniju mikroba u probavnom sustavu, ali taj pristup nije preporedljiv iz nekoliko razloga. Crijevne bakterije igraju važne uloge u metabolizmu ugljikohidrata, sintezi vitamina i obradi želučnih soli, sterola i ksenobiotika. Nadalje, eliminacija simbiotskih bakterija povećava šanse za infekciju nekom patogenom bakterijom, uključujući i entrohemoragijsku *Escherichia coli* i *Clostridium difficile*. Stoga je važno inhibirati aktivnost -glukuronidaza, a pritom očuvati stalni sastav populacije mikroba (Wallace i sur. 2010).

Enzim -glukuronidaza odaje pljuje glukuronsku kiselinu s različitim supstrata. Koristi se u testovima istočne vode. Njegova prisutnost ukazuje na kontaminaciju bakterijama. Enzim iz *E. coli* sadrži četiri monomera. C-terminalna domena (aminokiseline 207-603) stvara beta vu. Aktivno mjesto sadrži aminokiseline Glu⁴¹³ i Glu⁵⁰⁴. Enzim sadrži „bakterijsku petlju“ od 17 aminokiselina koja nije pronađena kod ljudskog ortologa. Aktivno mjesto svakog monomera -glukuronidaze sadrži „bakterijsku petlju“ iz tog i susjednog monomera (Wallace i sur. 2010).

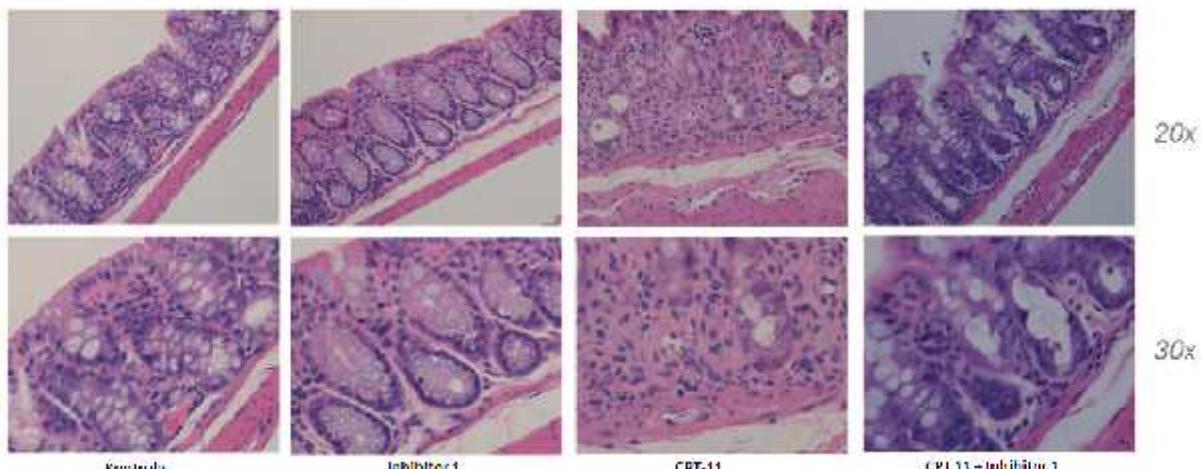
Glukaro-β-laktam (GDL) je inhibitor -glukuronidaze niskog afiniteta. Veže se u aktivno mjesto enzima i izaziva velike promjene u položaju aminokiselina. Pokazuje slabu inhibiciju *in vitro* i ne ometa aktivnost -glukuronidaze bakterija *E. coli* koje se nalaze u kulturi. Pomoćno u strukturne i kemijske biologije identificirani su slični selektivni inhibitori koji smanjuju toxicnost CPT-11 u probavilu, a ne ubijaju bakterije važne za zdravlje. Izabrani spojevi su mogli nekompetitivni inhibitori *in vitro*. Vežu se na „bakterijske petlje“ na ulazu u šupljinu aktivnog mjesta (Wallace i sur. 2010).

Inhibitori u koncentracijama u rasponu od 0 do 100 μM nisu imali u inak na aktivnost -glukuronidaze sisavaca (enzim iz jetre goveda). Od 284 bakterijske vrste koje nalazimo u gastrointestinalnom traktu ovjeka, 123 sadrže -glukuronidazu. Od toga 110 vrsta sadrži ključne aminokiseline (361 i 365) sposobne za kontakt s inhibitorom. Za provjeru hipoteze da je „bakterijska petlja“ potrebna za efikasnost inhibitora, napravljena je -glukuronidaza kojoj nedostaju aminokiseline od 360 do 376. Enzim mutanta nije bio inhibiran akko ni koncentracijama inhibitora od 100 μM (Wallace i sur. 2010).

Većina vrsta mikroba u probavilu su obligantni anaerobi pa je ispitivan u inak na bakterije *E. coli* u anaerobnim uvjetima i na druge važne anaerobne vrste. Inhibitori su djelovali na *E. coli* i u anaerobnim i aerobnim uvjetima te su smanjili aktivnost enzima dvaju obligatnih anaeroba *Bacteroides vulgatus* i *Clostridium ramosum* koji nastanjuju probavilo sisavaca. Utvrđeno je da inhibitori ne utječu na vijabilnost *Lactobacillus reuteri* i *Bifidobacterium infantis* koje ne sadrže gen za -glukuronidazu. Nadalje, inhibitori pri koncentraciji od 100 μM nisu pokazivali značajnu u inak na vijabilnost dvaju staničnih linija ljudskog tumora debelog crijeva (HCT116, Caco-2) i jedne mišje linije tumora debelog crijeva (CMT93) (Wallace i sur. 2010).

Ispitivana je sposobnost Inhibitora 1 da spriječi proljev i oštete enja probavila uzrokovanu uzimanjem CPT-11. Zdravi Balb/cJ miševi stari 6-8 tjedana su podijeljeni u 4

skupine po 16 jedinki. Prva skupina je primila 50 µl destilirane vode intraperitonealno i 1% dimetil sulfoksid oralno dva puta dnevno. Skupina 2 je dobivala 10 µg Inhibitora 1 oralno dvaput dnevno. Skupina 3 je dobivala CPT-11 intreperitonealno jedanput dnevno (50 mg po kilogramu mase tijela). Skupina 4 je dobivala Inhibitor 1 i CPT-11 u istoj dozi i prema istom rasporedu kao skupine 2 i 3. Simptomi su se pojavili nakon 7 dana. Od 8. do 10. dana sve životinje iz skupine 3 su imale proljev i krvavi proljev. Niti jedna životinja iz skupina 1 i 2 nije imala proljev tijekom cijelog eksperimenta. 11. dan su se životinje iz skupine 3 eutanazirane. Životinje iz skupine 4 su pokazivale slabije simptome od životinja iz skupine 3. Ispitivanje uzorka tkiva debelog crijeva je pokazalo da Inhibitor 1 štiti epitel probavila i strukturu žlijezda od ošte enja uzrokovanih pomo u CPT-11. Miševi iz skupina 1 i 2 imale su zdravu strukturu žlijezda i netaknut epitel što je prikazano na Slici 5. Uzimanje CPT-11 ošte uje ova tkiva, uništavaju i žlijezde i uzrokuju i priljev upalnih stanica.



Slika 5. Uzorci tkiva debelog crijeva miševa izloženih različitim tretmanima (preuzeto iz: Wallace i sur. 2010).

4. Zaključak

Otprije je poznato da mikrobi igraju važnu ulogu u zdravlju ovjeka. Oblikuju naš imunološki i održavaju probavni sustav te nas štite od patogena. Nedavna istraživanja na miševima su pokazala da mikrobi u probavilu utje u na nekoliko vrsta antitumorskih terapija. U nedostatku odre enih mikroba, smanjuje se u inkovitost terapije. Ovi rezultati bi mogli imati veliki utjecaj na lije enje tumora. Jedna od posljedica klasi nih terapija je oslabljen imunološki sustav što ini organizam podložnijim infekcijama. Kako bi se infekcije sprije ile, pacijenti obično primaju antibiotike koji uništavaju i korisne bakterije. Stoga je potreban oprez prilikom uzimanja antibiotika tijekom terapije. No, još je prerano za davanje mikroba oboljelima od tumora. Znanstvenici su oprezni oko primjene rezultata dobivenih na miševima na ljudi. Bakterije u probavilu miša se razlikuju od onih u probavilu ovjeka i detalji o utjecaju bakterija na uništavanje stanica tumora su još uvijek nisu dovoljno istraženi. Ove rezultate nije mogu e ekstrapolirati na ljudi bez prethodnog istraživanja. Potrebna su istraživanja na zdravim ljudima kako bi se ispitao utjecaj mikroba iz probavila na makrofage i monocite sa i bez korištenja antibiotika. Potrebno je ispitati korelaciju izme u upotrebe antibiotika i uspješnosti kemoterapije. U budu nosti e možda biti mogu e pomo u sastava bakterija u crijevima odrediti najbolji mogu i pristup lije enju tumora ili transplantacijom stranih bakterija pove ati u inkovitost terapije.

5. Literatura

- Ahmed A.R., Hombal S.M., 1984. Cyclophosphamide (Cytoxan). A review on relevant pharmacology and clinical uses. *J Am Acad Dermatol.* **11**, 1115-1126.
- Anderson D., Bishop J.B., Garner R.C., Ostrosky-Wegman P., Selby P.B., 1995. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutat Res.* **330**, 115-181.
- Baker D.E., 2003. Oxaliplatin: a new drug for the treatment of metastatic carcinoma of the colon or rectum. *Rev Gastroenterol Disord.* **3**, 31-38.
- Benson A.K., Kelly S.A., Legge R., Ma F., Low S.J., Kim J., Zhang M., Oh P.L., Nehrenberg D., Hua K., et al. 2010. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 18933–18938.

Blattman J.N., Greenberg P.D., 2004. Cancer immunotherapy: a treatment for the masses. *Science* **305**, 200-205.

Carpentier A.F., Auf G., Delattre J.Y., 2003. CpG-oligonucleotides for cancer immunotherapy: Review of the literature and potent applications in malignant glioma. *Frontiers in Bioscience* **8**, 115-127.

Clemente J.C., Ursell L.K., Wegener Parfrey L., Knight R., 2012. The impact of the gut microbiota on human health: An Integrative View. *Cell* **148**, 1258-1267.

Costello E.K., Lauber C.L., Hamady M., Fierer N., Gordon J.I., and Knight R., 2009. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science* **326**, 1694-1697.

Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Fierer N., Knight R., 2010. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 11971-11975.

Grivennikov S.I., Greten F.R., Karin M., 2010. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell* **140**, 883-899.

Hsiang Y.H., Hertzberg R., Hecht S., Liu L.F., 1985. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase. *J Biol Chem.* **260**, 14873-14878.

Ibrahim A., Hirschfeld S., Cohen M.H., Griebel D. J., Williams G.A., Pazdur R., 2004. FDA drug approval summaries: oxaliplatin. *The Oncologist* **9**, 8-12.

Iida N., Dzutsev A., Stewart C.A.; Smith L., Bouladoux N., Weingarten R.A., Molina D.A., Salcedo R., Back T., Cramer S., Dai R., Kiu H., Cardone M., Naik S., Patri A.K., Wang E., Marincola F.M., Frank K.M., Belkaid Y., Trinchieri G., Goldszmid R.S., 2013. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* **342**, 967-970.

Jahrdsdörfer B., Weiner G.J., 2008. CpG oligodeoxynucleotides as immunotherapy in cancer. *Update Cancer Ther.* **3**, 27-32.

Jiménez E., Marín M.L., Martín R., Odriozola J.M., Olivares M., Xaus J., Fernández L., Rodríguez J.M., 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res. Microbiol.* **159**, 187-193.

Koenig J.E., Spor A., Scalfone N., Fricker A.D., Stombaugh J., Knight R., Angenent L.T., Ley R.E., 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108** (Suppl 1), 4578-4585. Published online July 28, 2010. 10.1073/pnas.1000081107.

Lee K.Y., Mazmanian S.K., 2010. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *Science* **330**, 1768-1773.

- Nasidze I., Li J., Quinque D., Tang K., and Stoneking M., 2009. Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Res.* **19**, 636–643.
- Ozben T., 2007. Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **96**, 2181–2196.
- Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B., Relman D.A., Brown P.O., 2007. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* **5**, 1556-1573.
- Peterson J., Garges S., Giovanni M., McInnes P., Wang L., Schloss J.A., Bonazzi V., McEwen J.E., Wetterstrand K.A., Deal C., et al; NIH HMP Working Group., 2009. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* **19**, 2317–2323.
- Pizzolato J.F., Saltz L.B., 2003. The camptothecins. *The Lancet* **361**, 2235-2242.
- Ravel J., Gajer P., Abdo Z., Schneider G.M., Koenig S.S., McCulle S.L., Karlebach S., Gorle R., Russell J., Tacket C.O., et al. 2011. Vaginal microbiome microbiome of reproductive-age women. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108** (Suppl 1), 4680–4687.
- Reyes A., Haynes M., Hanson N., Angly F.E., Heath A.C., Rohwer F., Gordon J.I., 2010. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature* **466**, 334–338.
- Shirota Y., Shirota H., Klinman D.K., 2012. Intratumoral injection of CpG-oligonucleotides induces the differentiation and reduces the immunosuppressive activity of myeloid-derived suppressor cells. *J Immunol* **188**, 1592-1599.
- Siddik Z.H., 2003. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* **22**, 7265–7279.
- Viaud S., Saccheri F., Mignot G., Yamazaki T., Daillère R., Hannani D., Enot D.P., Pfirschke C., Engblom C., Pittet M.J., Schlitzer A., Ginhoux F., Apetoh L., Chachaty E., Woerther P.L., Eberl G., Bérard M., Ecobichon C., Clermont D., Bizet C., Gaboriau-Routhiau V., Cerf-Bensussan N., Opolon P., Yessaad N., Vivier E., Ryffel B., Elson C.O., Doré J., Kroemer G., Lepage P., Gomperts Boneca I., Ghiringhelli F., Zitvogel L., 2013. The Intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* **342**, 971-976.
- Vicari A.P., Chiodoni C., Vaure C., Aït-Yahia S., Dercamp C., Matsos F., Reynard O, Taverne C., Merle P., Colombo M.P., O'Garra A., Trinchieri G.,Caux C., 2002. Reversal of tumor-induced dendritic cell paralysis by CpG immunostimulatory oligonucleotide and anti-interleukin 10 receptor antibody. *J. Exp. Med.* **196**, 541-549.
- Wallace B.D., Wang H., Lane K.T., Scott J.E., Orans J., Koo J.S., Venkatesh M., Jobin C., Yeh L., Mani S., Redinbo M.R., 2010. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science* **330**, 831-835.

www.cancer.org

www.jeccr.com

6. Sažetak

Ljudsko tijelo je dom za 10^{14} mikroba i 10^{15} virusa. Mikrobi naseljavaju sve površine tijela koje su u dodiru s okolišem. Održavanje stalnog sastava mikrobnih populacija je važno za zdravlje ovjeka. Duga koevolucija dovila je do složenih interakcija između ljudskog imunološkog sustava i simbiotskih mikroba. U odsustvu pojedinih vrsta mikroba, imunološki sustav se neće normalno razviti. Neke terapije tumora stimuliraju naš imunološki sustav. Upalni odgovori igraju odlučujuću ulogu u različitim fazama razvoja tumora i u reakcijama tumora na terapije. Nedavna istraživanja na miševima su pokazala da mikrobi u probavilu utječu na nekoliko vrsta antitumorskih terapija koje se koriste u liječenju ovjeka: imunoterapiju CpG-oligonukleotidima i kemoterapije spojevima platine, ciklofosfamidom i kampotekinom. Pacijenti obično nakon terapije dobivaju antibiotike kako bi se spriječile infekcije do kojih dolazi zbog oslabljenog imunološkog sustava. Upotreba antibiotika dovodi do smanjenja broja određenih bakterija što rezultira smanjenjem inkovitosti u terapiji. Ovi rezultati bi mogli imati veliki utjecaj na terapije tumora u budućnosti.

7. Summary

Human body is home to 10^{14} microbes and 10^{15} viruses. Microbes colonize all of the surfaces of the body that are exposed to the environment. It is important for human health to maintain constant composition of microbial populations. Long coevolution has led to complex interactions between human immune system and symbiotic microbes. In the absence of certain species of microbes, immune system will not develop normally. Some tumor therapies stimulate our immune system. Inflammatory responses play decisive roles at different stages of tumor development and reactions to therapy. Recent studies on mice showed that gut microbes affect few types of antitumor therapies which are often used in human treatment: CpG-oligonucleotide immunotherapy and platinum, cyclophosphamide and camptothecin chemotherapy. Cancer patients usually get antibiotics after therapy to prevent possible infections due to weakened immune system. The use of antibiotics reduces the number of certain bacteria which results in decreased therapy efficiency. These findings could have major impact on tumor therapies in the future.