



# Vpliv mikrobiote na delovanje imunskega sistema in zaviralcev imunskih kontrolnih točk

Impact of microbiota on the immune system and immune checkpoint inhibitors

Nežka Hribernik,<sup>1</sup> Karla Berlec,<sup>1</sup> Romana Marinšek Logar<sup>2</sup>

## Izvelek

Imunski sistem je ključen pri nadzoru nastanka in rasti malignih celic. Z imunoterapijo z zaviralci imunskih kontrolnih točk je imunski sistem postal eden pomembnejših tarč onkološkega zdravljenja. Sorazmerno visok delež onkoloških bolnikov na to zdravljenje še vedno ne odgovori. Črevesna mikrobiota bi glede na zadnja spoznanja lahko postala način premagovanja odpornosti na imunoterapijo. Možni načini modulacije mikrobiote so prehranska strategija, probiotiki in fekalna transplantacija mikrobiote. Ovire pri raziskovanju mikrobiote in njene uporabe pri zdravljenju z zaviralci imunskih kontrolnih točk so zaenkrat nestandardizirani pristopi k analizi mikrobiote, geografske razlike v mikrobioti, vpliv kulture ter načina življenja itd. V teku so številne predklinične in klinične raziskave, nekatere že z obetavnimi rezultati. Z obdelavo mikrobiote bi bila lahko obravnava onkoloških bolnikov še bolj personalizirana in holistična.

## Abstract

The immune system plays a critical role in controlling the formation and growth of malignant cells. By using immunotherapy with immune checkpoint inhibitors, the immune system has become one of the most important targets for treatment. However, a relatively high proportion of cancer patients still do not respond to this treatment. In light of recent findings, the gut microbiota may be a way to overcome resistance and make treatment effective in a larger group of patients. Possible ways to modulate the microbiota include diet, probiotics, and faecal microbiota transplantation. Obstacles to the study of the microbiota and its use in immune checkpoint inhibitor therapy currently include nonstandard approaches to microbiota analysis, geographic differences in the microbiota, the influence of culture and lifestyle, etc. A number of preclinical and clinical studies are currently underway, some with promising results. In the future, manipulation of the microbiota may become one of the approaches for even more personalised and holistic treatment of cancer patients.

<sup>1</sup> Oddelek za internistično onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

<sup>2</sup> Oddelek za mikrobiologijo, Katedra za mikrobno diverziteto, mikrobiomiko in biotehnologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

**Korespondenca / Correspondence:** Nežka Hribernik, e: [nezka.hribernik@gmail.com](mailto:nezka.hribernik@gmail.com)

**Ključne besede:** mikrobiota; zaviralci imunskih kontrolnih točk; neodzivnost na imunoterapijo; probiotiki; fekalna transplantacija

**Key words:** microbiota; immune checkpoint inhibitors; immunotherapy resistance; probiotics; faecal transplantation

**Prispelo / Received:** 13. 2. 2022 | **Sprejeto / Accepted:** 22. 8. 2022

**Citirajte kot/Cite as:** Hribernik N, Berlec K, Marinšek Logar R. Vpliv mikrobiote na delovanje imunskega sistema in zaviralcev imunskih kontrolnih točk. Zdrav Vestn. 2023;92(5–6):248–55. DOI: <https://doi.org/10.6016/ZdravWestn.3337>



Avtorske pravice (c) 2023 Zdravniški Vestnik. To delo je licencirano pod Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodno licenco.

## 1 Uvod

Na področju sistemskega onkološkega zdravljenja smo v zadnjih letih priča izjemnemu napredku, registriranih je vedno več novih specifičnih zdravil, ki več ali manj prispevajo k preživetju in kakovosti življenja onkoloških bolnikov. Eno prelomnih odkritij načinov sistemskega zdravljenja je imunoterapija z zaviralci imunskih kontrolnih točk (ZIKT). Njuna odkritelja, James P. Allison in Tasuku Honjo, sta leta 2018 za svoje delo prejela Nobelovo nagrado na področju medicine. Gre za popolnoma novo skupino zdravil za zdravljenje onkoloških bolnikov. Način delovanja je bistveno drugačen od delovanja citostatskega zdravljenja. Čeprav pri določenih malignomih doseže dober odgovor na zdravljenje, še vedno kar visok delež bolnikov nanj ne odgovori. Vzroki odpornosti na imunoterapijo z ZIKT so področje intenzivnih raziskav, med katerimi dobiva vedno večji pomen vloga mikrobiote (1). V tem prispevku želimo povzeti nova dognanja o pomenu mikrobiote za imunski odgovor in o njenem vplivu na učinkovitost specifičnega onkološkega zdravljenja z ZIKT.

## 2 Zaviralci imunskih kontrolnih točk

### 2.1 Način delovanja

Maligna celica za svoje preživetje uporablja različne mehanizme pobega. Eden od njih je tudi onemogočanje bolnikovega imunskega sistema preko zavrtja ključnih imunskih kontrolnih točk v imunskih signalnih poteh. Med terapevtsko pomembne imunske kontrolne točke zaenkrat uvrščamo citotoksični T-limfocitni antigen 4 (CTLA-4), antigen za programirano celično smrt 1 (PD-1) in ligand za programirano celično smrt (PD-L1) (2). CTLA-4 je receptor na površini limfocitov T, ki modulira ko-stimulacijsko signalizacijo CD28 (protein *Cluster of Differentiation 28*) z ligandom CD80 in CD86. Ta dva sta izražena na površini antigen predstavljajočih celic (APC) med zgodnjo fazo imunskega odgovora. PD-1, prav tako imunska kontrolna točka, je receptor na površini limfocitov T in B ter na naravnih celicah ubijalkah in mieloidnih celicah. Ta prepozna in se veže na endogene ligande PD-L1 in PD-L2. Ob aktiviranju CTLA-4 in PD-1 ali obeh se zavre odgovor limfocitov T ter sproži imunska toleranca (2,3).

Monoklonska protitelesa proti tem imunskim

kontrolnim točkam imenujemo zaviralci imunskih kontrolnih točk (ZIKT) in jih uvrščamo v skupino imunoterapevtikov (3). Ti ponovno vzpostavijo in aktivirajo imunski sistem, ki je nato sposoben prepoznati in uničiti maligno celico.

Z ZIKT se poveča število limfocitov T (celic CD8), tako za tumor specifičnih, ki povzročijo protitumorski učinek, kot tudi avtoaktivnih celic T, ki lahko povzročijo avtoimunski odgovor. Ti avtoimunski odgovori so vzrok neželenim učinkom ZIKT. Imenujemo jih imunsko pogojeni neželeni učinki. Avtoaktivne celice T lahko infiltrirajo kateri koli organ v telesu. Zato je spekter neželenih učinkov zelo širok. Prizadet je lahko kateri koli organ (4,5). Imunsko pogojeni neželeni učinki ZIKT so odvisni od vrste ZIKT. Ob zdravljenju z zaviralci PD-(L)1 se resni imunsko pogojeni neželeni učinki pojavijo pri okoli 15 % bolnikov, pri zaviralcih CTLA-4 pri 25 % in pri kombinirani imunoterapiji pa pri okoli 50–60 % bolnikov (5,6).

### 2.2 Indikacije za zdravljenje z zaviralci imunskih kontrolnih točk

Med ZIKT imamo v Sloveniji za zdravljenje zaenkrat na voljo:

- protitelesa proti citotoksičnemu T-limfocitnemu antigenu 4 (anti-CTLA-4) – ipilimumab;
- protitelesa proti programirani celični smrti 1 (anti-PD-1) – pembrolizumab, cemiplimab in nivolumab;
- protitelesa proti ligandu za programirano celično smrt (anti-PD-L1) – durvalumab, atezolizumab in avelumab.

Indikacij za zdravljenje je vedno več, sistematično pa so predstavljene v [Tabeli 1](#).

### 2.3 Odpornost na zdravljenje

Pozitivni odgovori na zdravljenje z ZIKT se gibljejo od 10 do 30 % pri monoimunoterapiji in do 60 % pri kombinirani imunoterapiji (kombinacija protiteles anti-CTLA-4 in anti-PD-1). Posebnost delovanja imunoterapije oz. ZIKT je dolgotrajnost doseženih odgovorov na zdravljenje. Taka oblika krivulje odgovora na zdravljenje je specifična za ZIKT ([Slika 1](#)) (3).

Še vedno pomemben delež bolnikov na zdravljenje

**Tabela 1:** Indikacije za posamezne zaviralce imunskih kontrolnih točk (na dan 1. 9. 2021).

Vrsta ZIKT	Registrirano v Sloveniji	Indikacije
PD-L1 monoklonska protitelesa	Durvalumab	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lokalno napredoval, neresektabilen nedrobnocelični rak pljuč po kemoradioterapiji na osnovi platine.</li> </ul>
	Avelumab	<ul style="list-style-type: none"> <li>• metastatski karcinom Merklvih celic,</li> <li>• metastatski karcinom ledvičnih celic (prvi red zdravljenja v kombinaciji z aksitinibom).</li> </ul>
	Atezolizumab	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lokalno napredoval ali metastatski urotelijski karcinom;</li> <li>• razsejan trojno negativni rak dojke;</li> <li>• hepatocelularni karcinom.</li> </ul>
PD-1 monoklonska protitelesa	Cemiplimab	<ul style="list-style-type: none"> <li>• metastatski ali lokalno napredovali ploščatocelični karcinom kože.</li> </ul>
	Nivolumab in Pembrolizumab	<ul style="list-style-type: none"> <li>• metastatski melanom (v monoimunoterapiji ali v kombinaciji z zaviralcem CTLA-4);</li> <li>• melanom, stadij III, po kirurški resekciji;</li> <li>• lokalno napredovali ali metastatski nedrobnocelični rak pljuč;</li> <li>• metastatski karcinom ledvičnih celic (v kombinaciji z zaviralcem CTLA-4);</li> <li>• klasični Hodkinov limfom;</li> <li>• metastatski ali lokalno napredovali ploščatocelični karcinom glave in vratu;</li> <li>• metastatski ali lokalno napredovali urotelijski karcinom;</li> <li>• maligni mezoteliom plevre;</li> <li>• metastatski karcinom rektuma/kolona, ki je MSI-H ali dMMR;</li> <li>• metastatski ploščatocelični karcinom požiralnika;</li> <li>• metastatski adenokarcinom želodca.</li> </ul>
CTLA-4 monoklonska protitelesa	Ipilimumab	<ul style="list-style-type: none"> <li>• metastatski melanom (v monoimunoterapiji ali v kombinirani imunoterapiji);</li> <li>• razsejani karcinom ledvičnih celic (v kombinaciji z nivolumabom);</li> <li>• metastatski drobnocelični karcinom pljuč;</li> <li>• maligni mezoteliom plevre;</li> <li>• MSI-H karcinom rektuma/kolona.</li> </ul>

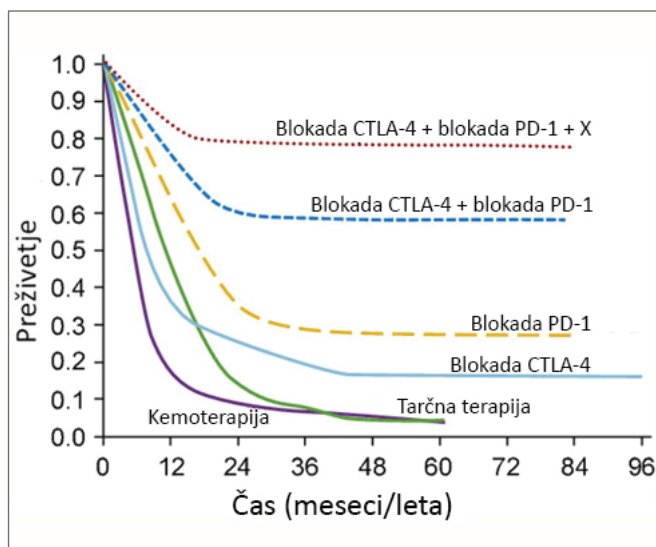
Legenda: ZIKT – zaviralci imunskih kontrolnih točk; PD-L1 – ligand za programirano celično smrt; PD-1 – antigen za programirano celično smrt 1; CTLA-4 – citotoksični T-limfocitni antigen 4; MSI-H – mikrosatelitna nestabilnost.

ne odgovori (Slika 1). Vzroki odpornosti na ZIKT so predmet številnih raziskav. Možni vzroki so lahko mikrookolje, imunogenost tumorja in običajni mehanizmi preživetja maligne celice, kot so genomska nestabilnost maligne celice, njena sposobnost za indukcijo angiogeneze, uravnavanje energijske porabe celic in premagovanje celične smrti. V zadnjih letih ima vedno večji pomen tudi sestava mikrobiote bolnika, ki naj bi prav tako vplivala na odgovor na zdravljenje z ZIKT (3,7,8).

### 3 Črevesna mikrobiota in imunski sistem

Črevesna mikrobiota je zelo kompleksen in hkrati stabilen sistem, ki je sorazmerno specifičen za posameznika. Oblikuje se do približno 3. leta starosti. Število

mikroorganizmov se po dolžini prebavne cevi povečuje, v želodcu znaša do  $10^4$  CFU/g gram vsebine (*angl.* colony forming units, CFU), v debelem črevesju pa od  $10^9$  do  $10^{12}$  CFU/g. V človeškem organizmu je okoli 39 trilijonov bakterij, ki so v neprestani interakciji z gostiteljem, tako na površini kože kot na sluznicah. Različnih črevesnih bakterij je preko tisoč, od tega jih je okoli 85 % nujno potrebnih za normalno delovanje črevesja. Manjši delež jih je potencialno patogenih. Glavna naloga mikrobiote je, da svojemu gostitelju pomaga razgraditi zaužito hrano na osnovne hranilne snovi. Črevesna mikrobiota vpliva na lokalne in sistemske funkcije metabolizma, vnetnega procesa in imunskega sistema, karcinogeneze. Glede na zadnja spoznanja pa tudi modulira odgovor na sistemsko onkološko zdravljenje. Tabela 2 prikazuje, kako vpliva črevesna mikrobiota na človeka (9).



**Slika 1:** Prikaz krivulj preživetja ob zdravljenju s specifičnim sistemskim onkološkim zdravljenjem. Povzeto po Emens, et al., 2017 (3).

Legenda: PD-1 – antigen za programirano celično smrt 1; CTLA-4 – citotoksični T-limfocitni antigen; X – drugi terapevtski pristopi.

Pri odraslih je mikrobiota primarno sestavljena iz bakterij *Firmicutes* in *Bacteroidetes*, sledijo pa jim *Actinobacteriaceae*, *Proteobacteriaceae*, *Fusobacteriaceae* in druge. Njihovo razmerje je odvisno od dela prebavne cevi. Na sestavo posameznikove mikrobiote vplivajo

različni dejavniki, kot so materina mikrobiota, način rojstva (carski rez ali vaginalni porod), prehrana, prejetje antibiotikov in drugih zdravil, prebolele bolezni, genetika, drugi dejavniki okolja (9).

Na ravni črevesja poteka med mikrobioto in imunskim sistemom t. i. »*crosstalk*«. Ta komunikacija je ključna, saj omogoča toleranco komenzalnih bakterij in prepoznavo oportunističnih nevarnih bakterij, prepreči njihovo invazijo in s tem okužbe. Poleg lokalnega imunskega odziva mikrobiota tudi sistemsko vpliva na prirojen in pridobljen imunski sistem ter pomaga oblikovati celotni imunski sistem (9-11).

Komunikacija med mikrobioto in imunskim sistemom je možna že zaradi same strukture prebavne poti. Tik pod sluznico je namreč plast vezivnega tkiva, ki vsebuje imunske APC (antigen predstavitvene celice) in prirojene limfoidne celice ter limfocite T in B. Vse te celice sestavljajo tako imenovani GALT (*angl.* gut associated lymphoid tissue), ki predstavlja kar 70 % celotnega imunskega sistema človeškega telesa (10).

Črevesna mikrobiota vpliva na lokalni imunski sistem z različnimi bakterijskimi metaboliti (npr. z lipopolisaharidi in flagelini), ki se vežejo na receptorje epitelnih celic sluznice, in s kratkoverižnimi maščobnimi kislinami, ki vplivajo na zvišano tvorbo protiteles IgA v plazemskih celicah. IgA primarno deluje tako, da blokirajo aderenco bakterij na epitelne celice in neposredno vplivajo na bakterijsko virulenco.

**Tabela 2:** Lokalni in sistemski učinki gastrointestinalne mikrobiote. Povzeto po Roy, et al., 2017 (9).

	Lokalni učinki gastrointestinalne mikrobiote	Sistemski učinki gastrointestinalne mikrobiote
<b>Fiziološke funkcije</b>	absorpcija hranil, sinteza vitaminov, metabolizem hormonov in žolča, fermentacija ogljikovih hidratov, krepitev pregrade sluznice, imunski sistem sluznice.	metabolizem, nevrološke, kognitivne in psihične funkcije, srčnožilne in mišičnoskeletne funkcije, cirkadiani ritem, staranje, vnetje in imunski sistem.
<b>Neonkološke bolezni, povezane z mikrobioto</b>	vnetne črevesne bolezni, gastritis in ulkusi želodca.	debelost, inzulinska rezistenca, srčnožilne bolezni, avtoimune bolezni, nealkoholna zamaščenost jeter.
<b>Onkološke bolezni, povezane z mikrobioto</b>	rak želodca ( <i>Helicobacter pylori</i> ), rak debelega črevesja in danke ( <i>Escherichia coli</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> ), karcinom žolčnika ( <i>Salmonella enterica Typhi</i> ).	limfom MALT, kožni in očesni limfom, hepatocelularni karcinom, rak dojke, rak prostate.
<b>Onkološko zdravljenje</b>	gastrointestinalna toksičnost, onkološkega zdravljenja.	učinkovitost kemoterapije in imunoterapije, toksičnost onkološkega zdravljenja.

Legenda: MALT – limfoidno tkivo, povezano s sluznico (*angl.* mucosa-associated lymphoid tissue).

Kratkoverižne maščobne kisline, ki so prisotne v obliki soli, kot so acetat, butirat in propionat, so tudi hranila za sluznične celice (10). Mesto pridobljenega imunskega odgovora na črevesne bakterije oz. diferenciacije naivnih limfocitov T je v lokalnih mezenterialnih bezgavkah črevesja. Posamezne bakterije mikrobiote lahko različno vplivajo na odgovor limfocitov T. Npr. *Bacteroides fragilis* in *Clostridium* klastri XIVa, IV, XVIII so pomembni kazalniki diferenciacije regulacijskih celic T (10). Po zorenju celic T v bezgavkah lahko te potujejo po telesu in sistemsko vplivajo na imunski odgovor. Igrajo tudi pomembno vlogo v črevesju, kjer vplivajo na tvorbo imunosupresivnih citokinov (IL-10) in na sluznično toleranco preko regulacijskih celic T. Celice T so zelo pomembne za zaščito pred bakterijskimi in glivičnimi okužbami, preko svojih citokinov vplivajo tudi na tvorbo tesnih stikov in na izločanje protimikrobnih proteinov (10).

Črevesje je tesno povezano tudi z živčnim sistemom. Imunski sistem črevesja vpliva na vnetni refleksni krog in na holinergično protivnetno pot. Vnetni refleksni krog je sestavljen iz prirojenega imunskega sistema, ki povzroči sprostitve vnetnih parametrov, aktiviranje vagusnega živca in odgovora na ravni možganov. Inervacija vagusnega živca je še posebej pomembna za prenos vseh informacij mehano-receptorjev, ki se aktivirajo ob okvari sluznice zaradi toksičnosti onkološkega sistemskega zdravljenja. Ti signali potujejo nato na višje ravni, kot so hipotalamus, hipokampus in frontalni režanj možganov, kjer se oblikujejo eferentni signali, ki potujejo preko motoričnega vagusnega živca in spodbudijo sintezo inhibitorjskih citokinov, znižanje imunosupresivnih hormonov ... Tudi na ta način se uravnava sistemsko in lokalno vnetje v črevesju. Govorimo o »povezavi mikrobiota – črevesje - možgani« (10,11).

V normalnih pogojih stabilnega delovanja črevesja prevladujejo nevtralni in za zdravje koristni mikroorganizmi. Okvara ravnovesja mikrobiote pa vodi v disbiozo, ko se namnožijo oportunistične patogene bakterije, zmanjša se raznolikost bakterij in stabilnost mikrobiote. Disbioza vodi v okvaro lokalnega, lokalnega in sistemskega imunskega odgovora, za katerega je značilna okvara črevesne sluznice, translokacija bakterij v mezenterjalne bezgavke ter periferno ožilje, ki končno pripelje do intenzivnega lokalnega in sistemskega vnetnega odziva. Prav tako disbioza vodi v okvaro povezave med črevesjem in nevrološkim sistemom, kar vodi v moteno kognicijo (9-12).

## 4 Črevesna mikrobiota in vpliv na učinkovitost in toksičnost zaviralcev imunskih kontrolnih točk

### 4.1 Učinkovitost zaviralcev imunskih kontrolnih točk in mikrobiota

Črevesna mikrobiota bi lahko postala eden od prediktivnih označevalcev odgovora na zdravljenje z ZIKT. Prve raziskave na mišjih modelih so pokazale občutno nižjo učinkovitost terapije z anti-CTLA-4 pri miših, ki so prejemale širokospektralno antibiotično terapijo. Prav tako so poročali o boljših odgovorih na zdravljenje z ZIKT ob hranjenju miši z *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron* ali *Burkholderia cepacia*. Večja prisotnost vrst rodu *Bifidobacterium* pa je bila povezana s kasnejšim napredovanjem maligne bolezni in boljšim odgovorom na anti-PD-1 zdravljenje. Ob oralnem nadomeščanju pripravkov probiotikov z bifidobakterijami so pri miših celo obnovili učinkovitost anti-PD-1 zdravljenja preko zvišane tumorske infiltracije in preko višje tvorbe interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) (13).

Tudi nekatere druge raziskave so potrdile vpliv mikrobiote na učinkovitost ZIKT pri ljudeh. Med pomembnejšimi je bila objavljena raziskava na področju raka pljuč, ledvic in urotelijskega raka. Dokazali so, da so imeli bolniki statistično značilno krajše preživetje, če so ob pričetku zdravljenja z ZIKT prejemali antibiotično zdravljenje. To kaže na to, da je bilo z antibiotičnim zdravljenjem porušeno ravnovesje mikrobiote, kar je vplivalo na imunski sistem in s tem na slabšo učinkovitost ZIKT (9,12,14,15). Prav tako so bolniki z večjo raznolikostjo bakterij v črevesni mikrobioti boljše odgovorili na zdravljenje. Ti so imeli večjo količino bakterij iz skupin *Clostridiales*, *Ruminococcaceae* in *Faecalibacterium*. Bolniki, ki niso odgovorili na ZIKT, pa naj bi imeli manjšo raznolikost in večjo prisotnost *Bacteroidales* (10,14,16).

### 4.2 Toksičnost zaviralcev imunskih kontrolnih točk in mikrobiota

Potekajo klinične raziskave, ki analizirajo bolnikovo mikrobioto kot dejavnik tveganja oz. zaščitni dejavnik pred imunsko pogojenimi neželenimi učinki. Predklinični modeli so pokazali manj toksičnosti pri miših na terapiji z anti-CTLA-4, ki so sočasno prejemale *Bacteroides fragilis* in *Burkholderia cepacia*. Vpliv črevesne



mikrobiote so preučevali tudi pri človeku. Bolniki brez imunsko pogojenega kolitisa ob anti-CTLA-4 terapiji so imeli značilno drugačno mikrobioto kot bolniki z imunsko pogojenim kolitisom. Več je bilo namreč bakterij iz debla *Bacteroidetes*. Glede na te in še na mnoge druge raziskave bo verjetno mikrobiota pomemben zaščitni dejavnik pred toksičnostjo ZIKT (9,10,17).

## 5 Obdelava mikrobiote in vpliv na zdravljenje z zaviralci imunskih kontrolnih točk

Nekatere novejšje raziskave kažejo na to, da bi obdelava intestinalne mikrobiote lahko prispevala k onkološki sistemski terapiji. Na sestavo mikrobiote lahko vplivamo s prehransko strategijo, probiotiki in fekalno presaditvijo mikrobiote.

Prehranska strategija je eden najpomembnejših dejavnikov, ki vpliva na sestavo mikrobiote. Spremembe v prehranskem režimu lahko pomembno spremenijo sestavo mikrobiote v prebavni cevi v sorazmerno kratkem času in tako posredno vplivajo na zdravje imunskega sistema (*angl.* immune health). Najpomembnejše hranilo so vlaknine, ki vplivajo na večjo raznolikost mikrobiote in spremenijo deleže posameznih bakterijskih skupin. Ob večjem vnosu vlaknin se poveča količina bakterij *Fusobacterium prausnitzii* (imunsko spodbujevalni tip bakterij) in količina kratkoverižnih maščobnih kislin, ki jih te izločajo, v vzorcih blata. Prehrana brez živalskih maščob vpliva na manjšo zastopanost za zdravje neugodnih bakterij iz skupine *Bacteroidales* (9-12,17,18). Ker prehranska strategija pomembno vpliva na sestavo mikrobiote, bi preko nje lahko posredno vplivali na učinkovitost sistemske onkološke terapije.

Prehransko stanje bolnikov z rakom je tudi sicer izrednega pomena in vpliva tako na napoved izida kot na neželene učinke sistemskega zdravljenja (9). Prehransko svetovanje je pomemben del multidisciplinarnе obravnave onkoloških bolnikov. Leta 2008 je bila na Onkološkem inštitutu Ljubljana vzpostavljena Enota za klinično prehrano ter kot prva v Sloveniji vključila strokovno izvajanje multidisciplinarnega procesa prehranske obravnave v vse faze zdravljenja bolnikov z rakom.

Ima pa prehranska strategija tudi velik pomen v primarni preventivi raka. Nezdruživa prehrana je eden ključnih dejavnikov tveganja za nastanek raka. Izsledki epidemioloških raziskav so npr. dokazali, da uživanje predelanega mesa poveča tveganje za nastanek raka debelega črevesja in danke. Predelano meso namreč vsebuje nitrite, nitrate in druge konzervanse, ki se

razgradijo na N-nitroza spojine, te pa poškodujejo črevesno sluznico, kar vpliva na karcinogenezo (19,20). Pri prebavi mesa v človekovih prebavilih igrajo svojo vlogo tudi mikroorganizmi in njihova produkcija toksičnih aminov, ki delujejo kancerogeno (19). V Sloveniji se izvajajo cilji in ukrepi iz Nacionalnega programa o prehrani in telesni dejavnosti za zdravje, z namenom, da bi izboljšali prehranske navade prebivalcev ter povečali telesno dejavnost in zmanjšali sedeči življenjski slog prebivalstva.

Poleg prilagoditve prehranskega režima bolnikov, kažejo dober potencial za manipuliranje mikrobiote tudi probiotični pripravki. Probiotiki so živi mikroorganizmi, ki kot dodatek prehrani izboljšujejo prehransko in mikrobnoravnesje v prebavilih ter s tem vplivajo na krepitev črevesnega in sistemskega imunskega sistema. Najpogosteje se uporabljajo probiotiki, ki vsebujejo bakterije iz rodov *Lactobacillus* (npr. *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. gasseri*, *L. rhamnosa* GG ...) in *Bifidobacterium* (npr. *B. bifidum*, *B. thermophilum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis* ...) ter *Enterococcus* (npr. *E. faecium*) (18,21,22).

Probiotiki posredno krepijo pregrado črevesne stene in njeno obnovo s fermentacijo kratkoverižnih maščobnih kislin, ki so prisotne v obliki soli, kot so acetat, butirat in propionat. Ti presnovki so hranilne snovi za sluznične celice in zato pospešujejo njihovo rast. Prav tako povečajo absorpcijo vode in neposredno vplivajo na tvorbo vnetnih mediatorjev, kot so interleukini IL-6, IL-10 in drugi. Probiotične bakterije so tudi sposobne zasesti mesto na črevesni sluznici, kamor se sicer pripenjajo patogene bakterije. Pozitiven učinek probiotikov je povečan imunski odziv (18).

Uporaba probiotikov pri onkoloških bolnikih se je preizkušala v kliničnih raziskavah, ki so v večini preučevale varnost njihove uporabe in vpliv na sestavo mikrobiote bolnikov (22). Prve klinične raziskave so napravili pri bolnikih s karcinomom debelega črevesja in danke. Dokazano je bilo, da se z uporabo probiotikov spremeni lokalni imunski odziv sluznice, ker je bila spremenjena namreč sestava citokinov na površini sluznice (23). V teku je vedno več raziskav o uporabi probiotikov pri drugih vrstah raka, ki preučujejo tudi različne sestave probiotikov, njihovo stabilnost in vpliv na mikrobioto. Te bodo sčasoma verjetno odgovorile na vprašanje, ali uporaba probiotikov pri zdravljenju bolnikov z imunoterapijo vpliva na boljši odgovor na zdravljenje in zniža toksičnost imunoterapije. Zaenkrat to še ni bilo nedvoumno dokazano, zato njihova uporaba še ni del standardnega priporočila glede podporne terapije bolnikom, ki se zdravijo z ZIKT (18,22,23).

Fekalna transplantacija mikrobiote je najbolj neposreden način manipuliranja mikrobiote, in sicer presaditev celotne mikrobiote iz gostitelja v prejemnika. Pripravki FMT se lahko jemljejo *per oralno* v obliki liofiliziranih ali zmrznjenih pripravkov ali neposredno z endoskopskim posegom (kolonoskopija). FMT se je že izkazala kot uspešna in varna metoda pri drugih skupinah bolnikov, npr. pri okužbi s *Clostridium difficile*, ki je odporna na standardno zdravljenje (23).

Klinične raziskave s FMT pri onkoloških bolnikih so še v povojih. FMT se prav posebej preučuje pri bolnikih, ki prejemajo ZIKT z željo, da bi preko vplivanja na mikrobioto lahko obšli primarno ali sekundarno odpornost na zdravljenje z ZIKT (9,13,14,17,21). V letu 2020 je bila objavljena klinična raziskava faze I, v kateri so bolnikom z razsejanim malignim melanomom, ki so bili odporni na ZIKT, presadili mikrobioto bolnikov, ki so dobro odgovarjali na zdravljenje z ZIKT. Primarni opazovani izid je bila varnost in izvedljivost presaditve mikrobiote, sekundarni opazovani izid pa spremembe v imunskem odgovoru in objektivni odgovor na zdravljenje (24). Donorja mikrobiote sta bila bolnika z razsejanim malignim melanomom, pri katerih je bil ob zdravljenju z ZIKT dosežen popolni odgovor, ki je vztrajal več kot leto dni. Prejemnikov mikrobiote je bilo 10 bolnikov, ki so imeli diagnozo razsejanega malignega melanoma in pri katerih je bolezen napredovala vsaj po enem redu zdravljenja z ZIKT z zaviralci PD-1. Po protokolu so bolnikom prejemnikom pred FMT eradicirali njihovo mikrobioto s peroralnimi antibiotiki. FMT so nato izvedli preko kolonoskopske aplikacije mikrobiote in preko oralnega zaužitja kapsul mikrobiote, ki so jo nadalje prejemali vzdrževalno v kapsulah vsakih 14 dni. Ob tem so bolniki ponovno prejeli specifično sistemsko zdravljenje z ZIKT. Objektivni odgovor na ponovno zdravljenje z ZIKT je bil dokazan pri 3 bolnikih od 10, od tega sta 2 bolnika dosegla delni, 3. bolnik pa popolni odgovor na zdravljenje. Podrobno so analizirali tudi mikrobioto posameznega bolnika, tako dajalcev kot prejemnikov. Pri dajalcih so pri enem opazili izrazito veliko bakterij različnih rodov družine *Veillonellaceae*, pri drugem iz družine *Ruminococceae*, pri obeh pa iz družine *Lachnospiraceae*. Pri prejemnikih so po izvedeni FMT so dokazali več bakterijskih rodov, ki dobro vplivajo na imunsko delovanje, in sicer iz družine *Veillonellaceae*, ter zmanjšanje *Bifidobacterium bifidum*, ki vpliva na imunsko toleranco. Pri 3 bolnikih, ki so odgovorili na zdravljenje, so po FMT beležili izredno veliko rodov

bakterij iz družine *Enterococcaceae* in veliko bakterij vrste *Streptococcus australis*. Podobne težnje pa so opazili tudi pri nekaj bolnikih, ki niso odgovorili na zdravljenje, zato ni bilo moč zaključiti, katera prevladujoča mikrobiota bi lahko vplivala na odgovor na zdravljenje. Preverili so tudi izhodiščno mikrobioto teh 3 bolnikov, ki so odgovorili na zdravljenje, a se ni razlikovala od mikrobiote ostalih 7 bolnikov (24).

Opisana klinična raziskava je spodbuda za nadaljnja raziskovanja na področju imunoterapije in FMT. Protokol FMT se je izkazal kot varen in izvedljiv, lahko pa tudi učinkovit. Ostaja pa veliko dilem in odprtih vprašanj. Kateri bakterijski tipi oz. katera bi bila najbolj optimalna sestava mikrobiote, ki bi vplivala na uspešnost ZIKT, je neznanka. Postopek eradiciranja mikrobiote z antibiotiki ima vprašljiv pomen znotraj protokola FMT. Dokazano je namreč, da se črevesna mikrobiota prilagodi na jemanje eksogeno vnesenih donorskih bakterij brez kakršnih koli predhodnih postopkov odstranitve. Uporaba antibiotikov širokega spektra pa še dodatno vodi v razvoj odpornosti in disbiozo. Kljub številnim dilemam rezultati opisane klinične raziskave podpirajo koncept premagovanja odpornosti na imunoterapijo z moduliranjem črevesne mikrobiote (25).

## 6 Zaključek

Zdravljenje z ZIKT je del standardnega onkološkega zdravljenja. Žal ima korist od te vrste imunoterapije le omejen delež bolnikov. Neodzivnost na ZIKT je predmet številnih raziskav, preučevanje vpliva mikrobiote nanjo pa je med pomembnejšimi. V teku je več raziskav, ki preučujejo manipulacijo mikrobiote pri onkoloških bolnikih. Zaradi pomembnih razlik pri zasnovah raziskav je zaenkrat težko oblikovati trdne zaključke. Ovire, ki se pojavljajo ob raziskovanju mikrobiote, so nestandardiziranost pristopov k analizi mikrobiote, geografske razlike mikrobiote, vpliv kulture ter načini življenja itd. Potrebno bo ugotoviti, kako na delovanje imunskega sistema in sistemsko terapijo poleg mikrobiote vplivajo tudi nebakterijski organizmi, kot so glive, virusi ter protozoi, ki prav tako posejajo naše črevesje. Če bomo sposobni premostiti te ovire, bo v prihodnje verjetno manipuliranje mikrobiote eden novejših pristopov k še bolj personalizirani in holistični obravnavi onkoloških bolnikov.

## Izjava o navzkrižju interesov

Avtorji nimamo navzkrižja interesov.

## Literatura

- Robert C. A decade of immune-checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Nat Commun.* 2020;11(1):3801. DOI: [10.1038/s41467-020-17670-y](https://doi.org/10.1038/s41467-020-17670-y) PMID: [32732879](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32732879/)
- Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* 2013;39(1):1-10. DOI: [10.1016/j.immuni.2013.07.012](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.012) PMID: [23890059](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23890059/)
- Emens LA, Ascierto PA, Darcy PK, Demaria S, Eggermont AM, Redmond WL, et al. Cancer immunotherapy: opportunities and challenges in the rapidly evolving clinical landscape. *Eur J Cancer.* 2017;81:116-29. DOI: [10.1016/j.ejca.2017.01.035](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.01.035) PMID: [28623775](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28623775/)
- Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD. Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade. *N Engl J Med.* 2018;378(2):158-68. DOI: [10.1056/NEJMra1703481](https://doi.org/10.1056/NEJMra1703481) PMID: [29320654](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29320654/)
- Martins F, Sofiya L, Sykietis GP, Lamine F, Maillard M, Fraga M, et al. Adverse effects of immune-checkpoint inhibitors: epidemiology, management and surveillance. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;16(9):563-80. DOI: [10.1038/s41571-019-0218-0](https://doi.org/10.1038/s41571-019-0218-0) PMID: [31092901](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31092901/)
- Xing P, Zhang F, Wang G, Xu Y, Li C, Wang S, et al. Incidence rates of immune-related adverse events and their correlation with response in advanced solid tumours treated with NIVO or NIVO+IP: a systematic review and meta-analysis. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):341. DOI: [10.1186/s40425-019-0779-6](https://doi.org/10.1186/s40425-019-0779-6) PMID: [31801636](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31801636/)
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74. DOI: [10.1016/j.cell.2011.02.013](https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013) PMID: [21376230](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21376230/)
- Fares CM, Van Allen EM, Drake CG, Allison JP, Hu-Lieskovan S. Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Blockade: Why Does Checkpoint Inhibitor Immunotherapy Not Work for All Patients? *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2019;39(39):147-64. DOI: [10.1200/EDBK\\_240837](https://doi.org/10.1200/EDBK_240837) PMID: [31099674](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31099674/)
- Roy S, Trinchieri G. Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2017;17(5):271-85. DOI: [10.1038/nrc.2017.13](https://doi.org/10.1038/nrc.2017.13) PMID: [28303904](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28303904/)
- Gopalakrishnan V, Helmink BA, Spencer CN, Reuben A, Wargo JA. The Influence of the Gut Microbiome on Cancer, Immunity, and Cancer Immunotherapy. *Cancer Cell.* 2018;33(4):570-80. DOI: [10.1016/j.ccell.2018.03.015](https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.015) PMID: [29634945](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29634945/)
- Bajic JE, Johnston IN, Howarth GS, Hutchinson MR. From the Bottom-Up: Chemotherapy and Gut-Brain Axis Dysregulation. *Front Behav Neurosci.* 2018;12:104. DOI: [10.3389/fnbeh.2018.00104](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00104) PMID: [29872383](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29872383/)
- Murphy CL, O'Toole PW, Shanahan F. The Gut Microbiota in Causation, Detection, and Treatment of Cancer. *Am J Gastroenterol.* 2019;114(7):1036-42. DOI: [10.14309/ajg.000000000000075](https://doi.org/10.14309/ajg.000000000000075) PMID: [30848738](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30848738/)
- Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CP, Alou MT, Daillère R, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science.* 2018;359(6371):91-7. DOI: [10.1126/science.aan3706](https://doi.org/10.1126/science.aan3706) PMID: [29097494](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29097494/)
- Elkrief A, Derosa L, Kroemer G, Zitvogel L, Routy B. The negative impact of antibiotics on outcomes in cancer patients treated with immunotherapy: a new independent prognostic factor? *Ann Oncol.* 2019;30(10):1572-9. DOI: [10.1093/annonc/mdz206](https://doi.org/10.1093/annonc/mdz206) PMID: [31268133](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31268133/)
- Zhang J, Dai Z, Yan C, Zhang W, Wang D, Tang D. A new biological triangle in cancer: intestinal microbiota, immune checkpoint inhibitors and antibiotics. *Clin Transl Oncol.* 2021;23(12):2415-30. DOI: [10.1007/s12094-021-02659-w](https://doi.org/10.1007/s12094-021-02659-w) PMID: [34125407](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34125407/)
- Buder-Bakhaya K, Hassel JC. Biomarkers for Clinical Benefit of Immune Checkpoint Inhibitor Treatment-A Review From the Melanoma Perspective and Beyond. *Front Immunol.* 2018;9:1474. DOI: [10.3389/fimmu.2018.01474](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01474) PMID: [30002656](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30002656/)
- Fessler J, Matson V, Gajewski TF. Exploring the emerging role of the microbiome in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):108. DOI: [10.1186/s40425-019-0574-4](https://doi.org/10.1186/s40425-019-0574-4) PMID: [30995949](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30995949/)
- Teskač K, Hudournik N, Marinšek-Logar R, Kristl J. Pomen probiotikov kot prehranskih dopolnil in zdravil. *Farm Vestn.* 2008;6:287-92.
- Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(11):690-704. DOI: [10.1038/s41575-019-0209-8](https://doi.org/10.1038/s41575-019-0209-8) PMID: [31554963](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31554963/)
- Grenham S, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG. Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front Physiol.* 2011;2:94. DOI: [10.3389/fphys.2011.00094](https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00094) PMID: [22162969](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22162969/)
- Alexander JL, Wilson ID, Teare J, Marchesi JR, Nicholson JK, Kinross JM. Gut microbiota modulation of chemotherapy efficacy and toxicity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(6):356-65. DOI: [10.1038/nrgastro.2017.20](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.20) PMID: [28270698](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28270698/)
- Suez J, Zmora N, Segal E, Elinav E. The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nat Med.* 2019;25(5):716-29. DOI: [10.1038/s41591-019-0439-x](https://doi.org/10.1038/s41591-019-0439-x) PMID: [31061539](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31061539/)
- Su GL, Ko CW, Bercik P, Falck-Ytter Y, Sultan S, Weizman AV, et al. AGA Clinical Practice Guidelines on the Role of Probiotics in the Management of Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology.* 2020;159(2):697-705. DOI: [10.1053/j.gastro.2020.05.059](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.05.059) PMID: [32531291](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32531291/)
- Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzale G, Ortenberg R, Lahat A, Katz L, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. *Science.* 2020;317(6529):602-9. DOI: [10.1126/science.abb5920](https://doi.org/10.1126/science.abb5920) PMID: [33303685](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33303685/)
- Araujo DV, Watson GA, Oliva M, Heirali A, Coburn B, Spreafico A, et al. Bugs as drugs: the role of microbiome in cancer focusing on immunotherapeutics. *Cancer Treat Rev.* 2021;92:102125. DOI: [10.1016/j.ctrv.2020.102125](https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102125) PMID: [33227623](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33227623/)