

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский  
клинический  
научно-практический центр  
специализированных видов  
медицинской помощи  
(онкологический)  
(Санкт-Петербург, Россия)

<sup>2</sup> НМИЦ НИИ онкологии  
им. Н.Н. Петрова  
Минздрава России  
(Санкт-Петербург, Россия)

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский  
государственный  
педиатрический  
медицинский университет  
(Санкт-Петербург, Россия)

# МИКРОБИОМ И ЕГО РОЛЬ В ОНКОЛОГИИ

Ф.В. Моисеенко<sup>1,2</sup>, С.В. Югай<sup>3</sup>, Н.М. Волков<sup>1</sup>

## MICROBIOME AND ITS ROLE IN ONCOLOGY

**Ф.В. Моисеенко<sup>1,2</sup>**

Доктор медицинских наук,  
Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр  
специализированных видов медицинской помощи (онкологический);  
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России,  
197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А.  
e-mail: moiseenkofv@gmail.com.

**С.В. Югай<sup>3</sup>**

Резидент, Санкт-Петербургский государственный педиатрический  
медицинский университет,  
194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2.

**Н.М. Волков<sup>1</sup>**

Кандидат медицинских наук,  
Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр  
специализированных видов медицинской помощи (онкологический),  
197758, Санкт-Петербург, Песочный, ул. Ленинградская, 68А.  
e-mail: volkovnm@gmail.com.

**F.V. Moiseenko<sup>1,2</sup>**

Doctor of Medicine,  
St. Petersburg Clinical Research Center of Specialized Types of Care (Oncology);  
N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology,  
197758, St. Petersburg, Pesochny, Leningradskaya st., 68.  
e-mail: moiseenkofv@gmail.com.

**S.V. Ugay<sup>3</sup>**

Resident,  
St. Petersburg State Pediatric Medical University,  
194100, St. Petersburg, Litovskaya str., 2.

**N.M. Volkov<sup>1</sup>**

Candidate of Medicine,  
St. Petersburg Clinical Research Center of Specialized Types of Medical Care (Oncology),  
197758, St. Petersburg, Pesochny, Leningradskaya str., 68А.  
e-mail: volkovnm@gmail.com.

Микробиом представляет отдельную «экосистему» в организме носителя, которая находится в тесном взаимодействии с организмом хозяина. Среди функций, на которые оказывает влияние микробиом, качественный и количественный состав микрофлоры, энергетический гомеостаз и функционирование центральной нервной системы, активность врожденного и приобретенного иммунитета. Как следствие такого плотного взаимодействия, микроорганизмы могут оказывать влияние на возникновение и течение многих патологических состояний организма, среди которых и возникновение злокачественных опу-

холей. Эффективность и токсичность практически всех из применяемых видов противоопухолевой терапии находится во взаимодействии с микробиомом. В данной статье описываются основные имеющиеся данные о роли микроорганизмов в организме человека в возникновении и течении злокачественных опухолей, а также связь между микробиомом и эффективностью противоопухолевого лечения.

**Ключевые слова:** лекарственная терапия, рак, микробиом, иммунотерапия.

Microbiome is a now thought to be a unique isolated ecosystem, that tightly interact with host organism. Among functions that are influenced by microbiome we can mention energetic homeostasis, central nervous system functioning, activity of innate and diversity of adaptive immunity. As a consequence of such interaction the qualitative and quantitative composition of microbiome might influence many pathologic and physiologic processes, among which are malignant solid tumors. In this article we try to summarize up-to-date information on the role of microbiome in the appearance, clinical course and treatment of various solid tumors.

**Keywords:** drug therapy, cancer, microbiome, immunotherapy.

Общий вес микробиоты организма взрослого человека оценивается в 0,2. С рождения человеческого организма их роль заключается в программировании взаимодействия организма с окружающей средой, формировании и последующей адаптации механизмов врожденного и приобретенного иммунитета, а говоря более обще, в деликатной настройке баланса между защитой от инфекции, воспалением и толерантностью к внешним антигенам, получаемым с пищей, воздухом и жидкостями.

Если рассматривать метаорганизм, то взаимодействие между синатропными микроорганизмами, жизнь которых связана с человеком и его жильем, и их носителем играют важнейшую роль в поддержании физиологического гомеостаза, реакций на изменения внешней среды и выживание. В последнее время накапливаются данные о том, что состав флоры на эпителиальных барьерах влияет на системные функции организма, включая метаболизм, энергетический баланс, функционирование центральной нервной системы, в том числе и когнитивные функции, сердечно-сосудистую систему, питание, циркадные ритмы, воспаление, врожденный и приобретенный иммунитет. Микроорганизмы населяют весь желудочно-кишечный тракт. Максимальная популяция находится в толстом кишечнике и представлена 1013–1014 видами бактерий [1]. Около 1012 видов бактерий населяют кожные покровы в зависимости от сухости окружающего климата [2]. Состав микробиоты различных анатомических зон контролируется генетическими особенностями организма хозяина, в частности полиморфизмами генов, ассоциированных с работой иммунной системы, а также экзогенными факторами, такими как образ жизни и питания. При рождении состав микробиома во многом похож на состав микроорганизмов влагалища или кожи при родоразрешении через Кесарево сечение [3]. Более или менее полное формирование микробиоты заканчивается к третьему году жизни. В течение взрослой жизни состав микробиома характеризуется относительной стабильностью, тем не менее, различные заболевания, применение антибактериальных препаратов, изменения состава и качества питания могут оказывать

на него существенное влияние. Любопытно, что у людей старше 60–70 лет происходит необратимые постепенные изменения микрофлоры в сторону ее обеднения [4].

Как уже отмечалось выше, микробиом прямо или косвенно воздействует как на формирование, так и на функционирование многих систем организма. Важно сказать, что кроме локальной модуляции иммунитета в толстом кишечнике, микробиом также воздействует на весь «метаорганизм» [5]. В этой связи, применяемые для экспериментов модели животных, выращенных в искусственных условиях, не имеют всех необходимых иммунных механизмов для полноценного взаимодействия с окружающей средой, бактериальной и вирусной инфекцией. Так, в рамках одной из работ, направленных на исследование роли микробиоты в формировании иммунитета, была исследована 21 линия лабораторных мышей с целью идентификации наиболее близко родственных «диких» животных. Таковыми оказались животные рода *Mus musculus domesticus* из штата Мэриленд, США. Далее было проведено сравнение качественного и количественного состава микробиома «диких» и лабораторных животных. Так, микробиом «диких» мышей был значительно богаче микроорганизмами рода *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*, что может определять и объективность трансляции результатов лечения, полученных на этой модели.

Процесс канцерогенеза практически всегда ассоциирован с появлением и накоплением генетических нарушений. Взаимодействие микробиома и «метаорганизма» приводит к модуляции физиологии последнего, формированию про- и противоопухолевого микроокружения, что вне всего сомнения воздействует на возникновение и течение опухолевого процесса. При этом микробиом участвует как в формировании опухолей непосредственно на заселенных эпителиальных барьерах, так и дистанционно в стерильных тканях. Канцерогенное действие микроорганизмов, населяющих человеческий организм, может реализовываться в непосредственном трансформирующем действии микроорганизма, например, за счет выделения токсического метаболита или онкогенного аген-

та, а также в непрямом действии за счет индуцирования иммуносупрессии или наоборот воспаления [6].

В качестве примера опосредованного воздействия микробиома на возникновение опухолей можно привести связь ожирения, патологического воспалительного ответа на фоне резистентности к инсулину и измененный энергетический метаболизм, установленную ранее [7]. Так, установлена корреляция между возникновением большинства опухолей ЖКТ и длительным потреблением диеты богатой жирами. Данное наблюдение было продемонстрировано в эксперименте для женских особей мышей, которых кормили высокожирной пищей в течение беременности. Такой режим питания приводил к повышению вероятности возникновения опухолей печени и легкого в двух последующих поколениях [8, 9]. Повышение риска возникновения опухолей наблюдалась также при переносе микробиоты от мышей, получавших высокожирную диету, и снижалось при лечении пробиотиками с *Lactobacillus reuteri*. Сходные закономерности выявлены и для нарушения состава микробиома при длительном применении антибактериальных препаратов [10].

Существует несколько примеров прямого карциногенного действия различных микроорганизмов. Широкие эпидемиологические исследования, направленные на выявление особенностей микробиоты или дисбиозов на возникновение опухолей, позволили идентифицировать несколько патогенных организмов, обозначенных в классификации Международного агентства по исследованию рака (МАИР) как группа 1. В эту группу включены 7 вирусов, 2 вида паразитов и один вид бактерий [11]. Например, *Helicobacter pylori*, единственный бактериальный штамм, наличие которого значимо повышает риск возникновения рака, а также лимфомы желудка. Тем не менее, более половины мировой популяции инфицированы *Helicobacter pylori* и у большинства хроническая инфекция приводит лишь к возникновению гастрита с различной тяжестью течения, а трансформация хронической инфекции в атрофию, метаплазию и рак является скорее редкостью. История этого открытия началась в июле 1984 года, когда молодой гастроэнтеролог из Австралии Барри Маршал выпил говяжий бульон с патогенной бактерией *Helicobacter pylori* с целью доказать то, что последняя вызывает воспаление слизистой желудка, что, в свою очередь, может быть первым шагом к возникновению рака желудка. В течение недели после приема взвеси бактерий у него появилась обильная рвота и «зловонный» запах изо рта, а при биопсии стенки желудка в слизистой были выявлены многочисленные спиралевидные микроорганизмы, что подтверждало его концепцию. Через 21 год Маршалу и его ментору Робину Воррену за открытие бактерии, приводящей к хроническому воспалению слизистой желудка, пептическим язвам и в некоторых случаях к возникновению злокаче-

ственных опухолей, была присуждена Нобелевская премия. С тех пор было определено, что механизмы вирулентности хеликобактерной инфекции и ее карциногенный потенциал связаны с различиями в экспрессии двух генов, кодирующих цитотоксины: цитотоксин ассоциированного гена А (*cagA*) и гена вакуолинизирующе гоцитотоксина А (*vacA*) [12]. Прямое индуцирование трансформации клеток эпителия желудка требует экспозиции к хеликобактерной инфекции в течение нескольких десятилетий через первичный воспалительный ответ, повреждение эпителия, атрофию, снижение кислотности и кишечную метаплазию и возникает лишь у 3% носителей [13]. До проявления карциногенного потенциала, *Helicobacter pylori* кооперируется с микробиотой ЖКТ для поддержания и контроля энергетического гомеостаза через воздействие на циркулирующие метаболиты ЖКТ [14]. Кроме того, хеликобактерная инфекция имеет значительное влияние и на иммунный ответ носителя. Так, инактивации подвергаются TLR4 и TLR2, а также инфламсом NLRP3, что индуцирует экспрессию IL-1β и IL-18, и в свою очередь приводит к активации иммунологических ответов через Th1 клеток и регуляторных Т лимфоцитов, используемых в норме для защиты от астмы, хронических воспалительных заболеваний и туберкулеза [15].

Любопытно, что в настоящее время гипотеза изолированной роли *Helicobacter pylori* в возникновении опухолей желудка подвергается сомнению. Одним из возможных объяснений того, что на первом этапе была выявлена только одна из бактерий можно считать тот факт, что в 80-х годах единственным методом исследования микробиома был бактериологический метод, а *Helicobacter pylori*, в отличие от многих других микроорганизмов, входящих в состав микробиоты, хорошо растет на клеточных средах. Применение более чувствительных методов, таких как 16S секвенирование, существенно меняет представление о роли качественного и количественного состава микрофлоры. Так, сравнение «богатства» микрофлоры на примере 205 случаев поверхностного гастрита и рака желудка, показала существенное снижение числа видов микробиоты при возникновении рака. При этом, микробиом полученный при биопсии стенки желудка от больных с опухолью, содержал существенно больше типа *Fusobacteria*, а также *Peptostreptococcus*, *Dialister* и *Mogibacterium* [16].

Похожее взаимодействие микроорганизмов и слизистых установлено и для толстой кишки [17]. Так, была показана связь между токсином выделяемым *Bacteroides fragilis*, видом микроорганизмов, вызывающих диарею у детей, и возникновением колоректального рака. К настоящему моменту показано, что токсин привлекает иммунокомпетентные клетки к эпителиальному барьеру и усиливает активность воспалительного каскада, что в свою очередь и может приводит к малигнизации предсуществовавших клеток.

Все сказанное выше доказывает, что микробиом может играть дополнительную роль в возникновении злокачественных опухолей как за счет непосредственного взаимодействия с барьером, так и опосредованно через модулирование системного воспаления на уровне всего организма. Одним из примеров карциногенного воздействия микрофлоры на клетки, предрасположенные к злокачественной трансформации, является колоректальный рак, возникающий на фоне наследственных нарушений гена APC при наследственном аденоматозном полипозе. Несмотря на наличие нарушения этого гена, опухоли возникают не у всех его носителей, что предполагает существование дополнительного фактора, который увеличивает вероятность трансформации [18]. Так, при исследовании больных с наследственным аденоматозным полипозом вероятность более раннего озлокачествления полипов наблюдалась у носителей *pks+* *Escherichia coli* и онкотоксин продуцирующих *Bacteroides fragilis*, что по-видимому и могло являться дополнительным фактором.

Подобные исследования очень важны с точки зрения исследования патогенеза опухолей и физиологии взаимодействия микробиома и организма человека, но крайне редко приводят к однозначным выводам о патогенетической роли того или иного вида бактерий. Сложность связана с тем, что крайне сложно определить является ли присутствие того или иного микроорганизма причиной или следствием наличия заболевания. Кроме того, к сожалению, микроорганизмы, участвовавшие в возникновении опухоли, могут не присутствовать на момент постановки клинического диагноза.

Первые предпосылки к определению связи отдельных участников микробиома и эффективности проводимого онкологическим пациентам лечения были получены для больных гематологическими заболеваниями, прошедших высокодозную химиотерапию и аллогенную трансплантацию костного мозга. Проведение 16S секвенирования состава микрофлоры кишечника у 541 больного, готовившегося к трансплантации, позволило показать, что вероятность отторжения трансплантата и рецидива заболевания была достоверно ниже в группе, имевшей *Eubacterium limosum* [19]. К сожалению, данное наблюдение носит вероятностный характер, так как выявление *Eubacterium limosum* позволяло лишь выделить группу с более низкой вероятностью рецидива, а не полностью его исключить (вероятность рецидива в группе с *Eubacterium limosum* 33,8%, а в группе без *Eubacterium limosum* 19,8%) [19].

Несмотря на высокую значимость относительно новых методов противоопухолевого лечения, таких как таргетная и иммунотерапия, до настоящего момента сохраняется место и для более старого варианта лечения цитостатическими препаратами. На многих примерах показано участие микробиома в модули-

ровании эффекта или токсичности лекарственных препаратов с цитостатическим механизмом действия. Так, гемцитабин – антагонист пиримидинов известен своей активностью при раке легкого, поджелудочной железы. Данные, полученные на мышинных моделях колоректального рака, показывают, что резистентность к гемцитабину может быть результатом повышенной деградации препарата в дифлюоро-диоксиуридин на фоне повышенной экспрессии длинной формы бактериального фермента цитинин деаминазы в *Gammaproteobacteria* [20, 21]. В эксперименте с подкожной опухолью MC-26 резистентность к гемцитабину формировалась при введении в хвостовую вену *E. coli*, экспрессирующую цитидин деаминазу, но не формировалась при введении дефицитной по экспрессии этого гена *E. coli*.

Несмотря на то, что гемцитабин является одним из немногих препаратов, зарегистрированных для лечения аденокарциномы поджелудочной железы, его эффективность при этом заболевании крайне невысока. Для оценки влияния микрофлоры на эффективность гемцитабина было проведено исследование экспрессии бактериальной ДНК в ткани нормальной поджелудочной железы и рака поджелудочной железы [20]. Признаки бактериальной колонизации были выявлены в 86 из 113 образцов рака и лишь в 3 из 20 образцах ткани нормальной поджелудочной железы, полученной от доноров без онкологического заболевания. Наиболее частыми формами среди выявленных микроорганизмов были *Gammaproteobacteria*, принадлежавшие в основном к видам *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonaceae* и преобладающие в двенадцатиперстной кишке. Появление этих микроорганизмов в ткани поджелудочной железы можно связать с ретроградным обсеменением через панкреатические протоки. Любопытно, что значительно большее число бактерий было выявлено у больных после стентирования.

Сходным образом, есть данные предполагать, что токсичность иринотекана – ингибитора топоизомеразы 1, может быть связана с особенностями микробиома [22]. Так, ранняя диарея чаще всего опосредуется холинергическими механизмами, в то время как отсроченная, возникающая через 24 и более часа, чаще всего связана с метаболизмом препарата. Когда в просвет кишечника попадает дезактивированная в печени форма SN-38G, она может быть конвертирована в активную форму SN-38 бактериями, имеющими бета-глюкуронидазу, в частности продуцируемую отдельными штаммами *E. coli*.

Токсические проявления другого широко применяемого цитостатического препарата – цисплатина: ототоксичность, мукозиты и потеря веса неожиданно оказались также связаны с кишечной микробиотой [23]. Так, в одном из исследований на моделях опухолей у крыс было показано, что дополнение терапии D-метионином позволяет снизить вероя-

ность ототоксичности и мукозитов, что впоследствии было подтверждено в рандомизированно клиническом исследовании [24, 25]. Как было показано несколько позднее, данный эффект развивается за счет антиоксидантных и противовоспалительных свойств D-метионина, но также и за счет активации положительной флоры, в частности *Lachnospiraceae* и *Lactobacillus* [26]. Кроме того, равно как и для ингибиторов контрольных точек, о чем будет сказано ниже, противоопухолевая эффективность цисплатина также зависит от изменения состава микробиома, в частности уменьшения концентрации грамположительных бактерий, за счет применения антибиотиков [27].

Тем не менее, наибольшим распространением, данные о роли микробиома обязаны его влиянию на эффективность ингибиторов контрольных точек. Одной из первых работ, позволивших говорить о непосредственном влиянии отдельных штаммов микроорганизмов, входящих в состав микробиома, стали исследования, проведенные во Франции под руководством Л. Зитвогель, которая по праву считается на настоящий момент основоположником этого направления в онкологии. С учетом относительно небольшого числа хорошо спланированных исследований фундаментальных механизмов взаимодействия микрофлоры и иммунной системы, авторам представляется целесообразным разобрать сделанные под руководством Зитвогель шаги для лучшего понимания имеющихся на сегодня предпосылок [28]. Так, на первом этапе было проведено сравнение терапевтической эффективности монотерапии анти-PD-1 и комбинации анти-PD-1 и CTLA-4 на моделях саркомы MCA-205 и RET меланомы у мышей. Животные были разделены на две группы. В одной, в течение 14 дней к питанию добавлялась смесь антибиотиков широкого спектра действия (ампициллина + колистина + стрептомицина), во второй группе животные не получали антибактериальных препаратов. При оценке результатов было выявлено, что в обеих моделях группы, получавшие антибактериальные препараты, характеризовались большей скоростью роста опухолей и меньшей продолжительностью жизни животных.

На втором этапе была проведена ретроспективная оценка влияния антибактериальных препаратов на эффективность терапии ингибиторами контрольных точек у больных с НМРЛ (n=140), раком почки (n=67) и уротелиальными опухолями (n=42). Из 249 включенных пациентов, антибактериальная терапия в анамнезе была зарегистрирована у 69 (28%). Эти больные получали различные препараты, в том числе бета-лактамы, фторхинолоны, макролиды по поводу различных инфекционных состояний, включая воспаление полости рта, мочеполовые инфекции, а также инфекции легких. Антибактериальная терапия оказалась негативным предиктивным фактором для показателей ВДП и ОВ для всех опухолей вместе и

каждой по отдельности. Данные наблюдения были подтверждены на валидационной когорте из 239 больных НМРЛ и раком почки. На основании этих результатов авторами было сделано предположение о возможном влиянии различных характеристик состава микробиома на показатели эффективности ингибиторов контрольных точек.

Далее, с помощью «shortgun» секвенирования были изучены особенности микробиома, определяющие эффективность иммунотерапевтического подхода. ДНК микроорганизмов, населявших ЖКТ, была получена до начала терапии у 60 больных НМРЛ и у 40 больных раком почки. Более высокие показатели богатства микрофлоры, как на уровне исследованных генов, так и таксономических единиц ассоциировались с более высокой частотой отсутствия прогрессирования через 6 месяцев после начала терапии. Далее, было проведено сравнение качественного состава микрофлоры для ответивших на терапию и не ответивших пациентов. Был выявлен целый ряд особенностей, позволяющих отличить микробиом этих двух групп. Так, ответ на терапию был связан с повышенным содержанием классифицированных и неклассифицированных микроорганизмов типа Firmicutes, в частности *Akkermansia* and *Alistipes*. Из них наибольшая связь с клиническими детерминантами эффекта, в том числе с 3-х месячным периодом без прогрессирования болезни, была показана для *A. Muciniphila*. Значимость *A. Muciniphila* была впоследствии подтверждена на валидационной когорте.

Далее авторы изучили непосредственный механизм, который мог бы связывать кишечную микрофлору и противоопухолевое действие анти-PD-1 препаратов. С этой целью был исследован состав Т клеток памяти после инициации анти-PD-1 терапии. Реакция CD4+ и CD8+ Т лимфоцитов была оценена для 27 больных НМРЛ и 28 больных раком почки. Оценка активации производилась во время кокультивации с аутологичными моноцитами, преинкубированными с различными элементами микробиоты. На этом этапе секреция интерферона-гамма наблюдалась только для *A. Muciniphila*. Для того, чтобы установить причинно-следственную связь между эффектом анти-PD-1 терапии и доминированием одного из видов микроорганизмов, мыши, получавшие антибактериальную терапию, были рекультивированы микробиотой от больных, ответивших на терапию в одной группе и не ответивших в другой. Спустя две недели «аватарам» была пересажена опухоль MCA-205, а через 5 дней начата терапия анти-PD-1. Ответ на терапию в мышинных моделях напрямую коррелировал с происхождением пересаженной флоры.

Вторая основополагающая работа о влиянии микробиома на эффективность современных препаратов из группы ингибиторов контрольных точек была проведена в Университете MD Anderson Cancer Center [29]. В рамках этой работы проводилась про-

спективный сбор микрофлоры кишечника и ротовой полости среди больных злокачественной меланомой кожи, которым проводилась терапия анти-PD-1. Анализ полученных образцов производился с помощью таксономического профилирования 16S рибосомальной РНК (n=89) и «shortgun» секвенирования (n=25). До проведения анализа полученных результатов секвенирования, все образцы были разделены на две группы: «responder» (R – больные у которых был зарегистрирован объективный ответ опухоли через 6 месяцев после начала терапии в соответствии с критериями RECIST 1.1; n=54) и «nonresponder» (NR – больные со стабилизацией заболевания или прогрессированием болезни; n=35). Результаты показали, что микробиом кишечника и ротовой полости существенно различается как для всех исследованных образцов, так и для каждого отдельного пациента. При этом в ротовой полости преобладал вид *Lactobacillales*, а в кишечнике – *Bacteroidales*. Любопытно, что в то время как альфа разнообразие кишечной микрофлоры (различия в пределах одного пациента) были достоверно выше для группы R относительно NR (p<0,01), для микробиоты полости рта подобной закономерности выявлено не было. Кроме того, показатели выживаемости без прогрессирования были достоверно выше для больных с максимальным уровнем разнообразия при сравнении с промежуточным и минимальным уровнями. Существенные различия были выявлены между R и NR и на качественном уровне. В ответившей группе преобладали *Clostridiales* и *Ruminococcaceae*, а в NR группе – *Bacteroidales*. Парный анализ образцов выявил в группе ответивших также *Faecalibacterium*. Более глубокий «shortgun» анализ подтвердил обогащение микрофлоры в группе R видами *Faecalibacterium*, а NR – *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Escherichia coli* и *Anaerotruncus colibiformis*. Важно отметить, что кишечный микробиом оставался довольно стабильным в течение времени наблюдения. Обратный вопрос о связи между составом микробиома и эффективностью анти-PD-1 был реализован с помощью кластеризации результатов профилирования микробиома. Безотносительно результатов лечения, было выявлено два типа микрофлоры. Тип 1 включал в себя практически только образцы, обогащенные *Clostridiales*, от больных, ответивших на терапию, в то время как тип 2, состоял как из R, так и NR образцов, где преобладали *Bacteroidales*. Изучение влияния конкретного вида на эффект терапии привело к сходным с описанными ранее результатам. Так, было показано, что больные с высоким уровнем содержания *Faecalibacterium* имели большие показатели длительности без прогрессирования относительно пациентов с небольшим количеством (p=0,03) и наоборот высокий уровень *Bacteroidales* предполагал невысокую эффективность (p=0,05). Таким образом, при поведении многофакторного анализа наилуч-

шие показатели эффективности анти-PD-1 терапии были выявлены у больных с наибольшим богатством микрофлоры, преобладанием *Faecalibacterium* и высоким уровнем *Bacteroidales*.

В рамках описываемой работы был также предпринята попытка определить механизм, через который микробиом способствует реализации противоопухолевого эффекта иммунотерапии. С этой целью были исследована плотность опухолеассоциированных иммунных инфильтратов, а также более высокая плотность CD8+ Т-лимфоцитов в образцах опухоли, полученных до лечения, в группе R. При определении связи между конкретным видом микроорганизмов, была установлена связь между преобладанием видов *Faecalibacterium* и более высокой концентрацией CD8+, а также обратная корреляция между семейством *Ruminococcaceae* и *Clostridiales*.

Логичным предположением из предыдущих этапов работы представляется возможность направленного изменения микрофлоры с целью повышения эффективности иммунотерапии, что и было предпринято авторами. Мыши, которым была выполнена трансплантация микробиоты от больных, ответивших на терапию, имели достоверно большую глубину уменьшения размеров опухоли к 14 дню терапии. Важно отметить, что 16S секвенирование фекалий мышей с ответом на иммунотерапию показал достоверное большее содержание *Faecalibacterium*.

Таким образом, на основании представленных данных можно не сомневаться в определенном взаимодействии микробиома и эффективных механизмов, активирующихся при лечении современными поколениями ингибиторов контрольных точек. Тем не менее, большинство из имеющихся на настоящий момент данных носят феноменологический характер и требуют дальнейшего уточнения и изучения. К сожалению, несмотря на очевидность значимости количественного и качественного состава микробиома для эффективности наиболее современных и перспективных методов противоопухолевого лечения мы находимся еще довольно далеко от его возможности воздействия на него. Первой проблемой является то, что пока не представляется возможным подобрать идеального донора для трансплантации. С теоретической точки зрения это должен быть человек с высокообразной микрофлорой, которая бы включала в себя и штаммы, ассоциированные с эффективностью конкретного вида терапии. Одной из возможностей здесь является трансплантация от больного с уже установленным эффектом иммунотерапии. К сожалению, кроме положительного иммуномодулирующего эффекта микрофлора может приводиться к возникновению хронических состояний и заболеваний, что, например, уже показано для ожирения [30]. Возможной альтернативой трансплантации фекалий может быть перенос конкретной популяции микроорганизмов. Однако для этого требуется точная идентификация

штамма, который повышает эффективность иммунотерапевтического воздействия. К сожалению, на настоящий момент, во-первых, нет данных о роли минорных популяций микроорганизмов, а во-вторых, только меньшая часть из уже идентифицированных бактериальных штаммов может быть культивирована с помощью стандартных методов. Следующим непростым шагом к созданию эффективных лекарственных препаратов является скрининг их эффективности. Данный этап осложняется невозможностью проведения подобных процедур *in vitro*. К настоящему моменту на мышинных моделях идентифицированы несколько видов, в частности *Bifidobacteria spp.* [15, 20], *Akkermansia muciniphilia* [14], *E. hirae* [16], and *Bacteroides spp.* [13]. Однако большинство их работ были проведены на мышинных моделях, что, вне всякого сомнения, имеет весьма ограниченное применение для человеческого ЖКТ.

Другим принципиальным подходом к направленной модификации микробиома является воздействие на среды для колонизации и количественного увеличения необходимого подвида микроорганизмов.

Такое воздействие возможно с помощью пищевых и химических субстанций, называемых пребиотиками. Одним из наиболее изученных в этой области субстанций является диетические волокна, компоненты которых метаболизируются в короткие жирные кислоты, которые в свою очередь обладают свойствами по модуляции эффекта ингибиторов контрольных точек [31]. Однако в связи с тем, что эти вещества в первую очередь влияют на количественный состав микрофлоры, значительная ее модификация ими представляется крайне затруднительной.

Таким образом, микробиом человека является сложнейшей системой, которая непосредственно или опосредованно взаимодействует со многими, если не со всеми процессами, среди которых и онкологические заболевания. На настоящий момент детальное понимание и описание механизмов ее функционирования и воздействия на человека находится на начальном этапе, тем не менее, уже существующие данные позволяют предположить огромный потенциал в манипулировании микробиомом как в лечении онкологических заболеваний, так и в их профилактике.

## Список литературы

1. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K.S., Manichanh C., Nielsen T., Pons N., Levenez F., Yamada T., Mende D.R., Li J., Xu J., Li S., Li D., Cao J., Wang B., Liang H., Zheng H., Xie Y., Tap J., Lepage P., Bertalan M., Batto J.M., Hansen T., Le Paslier D., Linneberg A., Nielsen H.B., Pelletier E., Renault P., Sicheritz-Ponten T., Turner K., Zhu H., Yu C., Li S., Jian M., Zhou Y., Li Y., Zhang X., Li S., Qin N., Yang H., Wang J., Brunak S., Doré J., Guarner F., Kristiansen K., Pedersen O., Parkhill J., Weissenbach J., Metabite C., Bork P., Ehrlich S.D., Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing // *Nature*. – 2010. – Vol. 464, № 7285. – P. 59–65.
2. Williams A.R., Balasooriya B.A., Day D.W. Polyps and cancer of the large bowel: a necropsy study in Liverpool // *Gut*. – 1982. – Vol. 23, № 10. – P. 835–842.
3. Mueller N.T., Bakacs E., Combellick J., Grigoryan Z., Dominguez-Bello M.G. The infant microbiome development: mom matters // *Trends Mol Med*. – 2015. – Vol. 216 № 2. – P. 109–117.
4. Yatsunenkov T., Rey F.E., Manary M.J., Trehan I., Dominguez-Bello M.G., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Baldassano R.N., Anokhin A.P., Heath A.C., Warner B., Reeder J., Kuczynski J., Caporaso J.G., Lozupone C.A., Lauber C., Clemente J.C., Knights D., Knight R., Gordon J.I. Human gut microbiome viewed across age and geography // *Nature*. – 2012. – Vol. 486 № 7402. – P. 222–227.
5. Belkaid Y., Naik S. Compartmentalized and systemic control of tissue immunity by commensals // *Nat Immunol*. – 2013. – Vol. 146 № 7. – P. 646–653.
6. Zitvogel L., Ma Y., Raouf D., Kroemer G., Gajewski T.F. The microbiome in cancer immunotherapy: Diagnostic tools and therapeutic strategies // *Science*. – 2018. – Vol. 359, № 6382. – P. 1366–1370.
7. Conroy M.J., Dunne M.R., Donohoe C.L., Reynolds J.V. Obesity-associated cancer: an immunological perspective // *Proc Nutr Soc*. – 2016. – Vol. 75, № 2. – P. 125–138.
8. Poutabidis T., Varian B.J., Levkovich T., Lakritz J.R., Mirabal S., Kwok C., Ibrahim Y.M., Kearney S.M., Chatzigiagkos A., Alm E.J., Erdman S.E. Dietary microbes modulate transgenerational cancer risk // *Cancer Res*. – 2015. – Vol. 75, № 7. – P. 1197–1204.
9. Masuyama H., Mitsui T., Nobumoto E., Hiramatsu Y. The Effects of High-Fat Diet Exposure In Utero on the Obesogenic and Diabetogenic Traits Through Epigenetic Changes in Adiponectin and Leptin Gene Expression for Multiple Generations in Female Mice // *Endocrinology*. – 2015. – Vol. 156, № 7. – P. 2482–2491.
10. Xuan C., Shamonki J.M., Chung A., Dinome M.L., Chung M., Sieling P.A., Lee D.J. Microbial dysbiosis is associated with human breast cancer // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. e83744.
11. Dzutsev A., Badger J.H., Perez-Chanona E., Roy S., Salcedo R., Smith C.K., Trinchieri G. Microbes and Cancer // *Annu Rev Immunol*. – 2017. – Vol. 35. – P. 199–228.
12. Zhang S.H., Zhu X., Li B.M., Li H. The effect of virulence genotypes of *Helicobacter pylori* on eradication therapy in children // *Saudi J Gastroenterol*. – 2018. – Vol. 24, № 4. – P. 249–254.

13. Peek R.M., Blaser M.J. Helicobacter pylori and gastrointestinal tract adenocarcinomas // Nat Rev Cancer. – 2002. – Vol. 2, № 1. – P. 28–37.
14. Khosravi Y., Bunte R.M., Chiow K.H., Tan T.L., Wong W.Y., Poh Q.H., Doli Sentosa I.M., Seow S.W., Amoyo A.A., Pettersson S., Loke M.F., Vadivelu J. Helicobacter pylori and gut microbiota modulate energy homeostasis prior to inducing histopathological changes in mice // Gut Microbes. – 2016. – Vol. 7, № 1. – P. 48–53.
15. Perry S., de Jong B.C., Solnick J.V., de la Luz Sanchez M., Yang S., Lin P.L., Hansen L.M., Talat N., Hill P.C., Hussain R., Adegbola R.A., Flynn J., Canfield D., Parsonnet J. Infection with Helicobacter pylori is associated with protection against tuberculosis // PLoS One. – 2010. – Vol. 5, № 1. – P. e8804.
16. Coker O.O., Dai Z., Nie Y., Zhao G., Cao L., Nakatsu G., Wu W.K., Wong S.H., Chen Z., Sung J.J.Y., Yu J. Mucosal microbiome dysbiosis in gastric carcinogenesis // Gut. – 2018. – Vol. 67, № 6. – P. 1024–1032.
17. Chung L., Thiele Orberg E., Geis A.L., Chan J.L., Fu K., DeStefano Shields C.E., Dejea C.M., Fathi P., Chen J., Finard B.B., Tam A.J., McAllister F., Fan H., Wu X., Ganguly S., Lebid A., Metz P., Van Meerbeke S.W., Huso D.L., Wick E.C., Pardoll D.M., Wan F., Wu S., Sears C.L., Housseau F. Bacteroides fragilis Toxin Coordinates a Pro-carcinogenic Inflammatory Cascade via Targeting of Colonic Epithelial Cells // Cell Host Microbe. – 2018. – Vol. 23, № 2. – P. 203–214.e5.
18. Dejea C., Wick E., Sears C.L. Bacterial oncogenesis in the colon // Future Microbiol. – 2013. – Vol. 8, № 4. – P. 445–460.
19. Peled J.U., Devlin S.M., Staffas A., Lumish M., Khanin R., Littmann E.R., Ling L., Kosuri S., Maloy M., Slingerland J.B., Abr K.F., Porosnicu Rodriguez K.A., Shono Y., Slingerland A.E., Docampo M.D., Sung A.D., Weber D., Alousi A.M., Gyurkocza B., Ponce D.M., Barker J.N., Perales M.A., Giralt S.A., Taur Y., Pamer E.G., Jenq R.R., van den Brink M.R.M. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation // J Clin Oncol. – 2017. – Vol. 35, № 15. – P. 1650–1659.
20. Geller L.T., Barzily-Rokni M., Danino T., Jonas O.H., Sbental N., Nejman D., Gavrut N., Zwang Y., Cooper Z.A., Shee K., Thaiss C.A., Reuben A., Livny J., Avraham R., Frederick D.T., Ligorio M., Chatman K., Johnston S.E., Mosher C.M., Brandis A., Fuks G., Gurbatri C., Gopalakrishnan V., Kim M., Hurd M.W., Katz M., Fleming J., Maitra A., Smith D.A., Skalak M., Bu J., Michaud M., Trauger S.A., Barsback I., Golan T., Sandbank J., Flaberty K.T., Mandinova A., Garrett W.S., Thayer S.P., Ferrone C.R., Huttenhower C., Bhatia S.N., Gevers D., Wargo J.A., Golub T.R., Straussman R. Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine // Science. – 2017. – Vol. 357, № 6356. – P. 1156–1160.
21. Choy A.T.F., Carnevale I., Coppola S., Meijer L.L., Kazemier G., Zaura E., Deng D., Giovannetti E. The microbiome of pancreatic cancer: from molecular diagnostics to new therapeutic approaches to overcome chemoresistance caused by metabolic inactivation of gemcitabine // Expert Rev Mol Diagn. – 2018. – Vol. 18, № 12. – P. 1005–1009.
22. Wallace B.D., Wang H., Lane K.T., Scott J.E., Orans J., Koo J.S., Venkatesh M., Jobin C., Yeh L.A., Mani S., Redinbo M.R. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme // Science. – 2010. – Vol. 330, № 6005. – P. 831–835.
23. Gori S., Inno A., Belluomini L., Bocus P., Bisoffi Z., Russo A., Arcaro G. Gut microbiota and cancer: How gut microbiota modulates activity, efficacy and toxicity of antitumoral therapy // Crit Rev Oncol Hematol. – 2019. – Vol. 143. – P. 139–147.
24. Vuyyuri S.B., Hamstra D.A., Khanna D., Hamilton C.A., Markwart S.M., Campbell K.C., Sunkara P., Ross B.D., Rebemtulla A. Evaluation of D-methionine as a novel oral radiation protector for prevention of mucositis // Clin Cancer Res. – 2008. – Vol. 14, № 7. – P. 2161–2170.
25. Hamstra D.A., Eisbruch A., Naidu M.U., Ramana G.V., Sunkara P., Campbell K.C., Ross B.D., Rebemtulla A. Pharmacokinetic analysis and phase 1 study of MRX-1024 in patients treated with radiation therapy with or without cisplatin for head and neck cancer // Clin Cancer Res. – 2010. – Vol. 16, № 9. – P. 2666–2676.
26. Wu C.H., Ko J.L., Liao J.M., Huang S.S., Lin M.Y., Lee L.H., Chang L.Y., Ou C.C. D-methionine alleviates cisplatin-induced mucositis by restoring the gut microbiota structure and improving intestinal inflammation // Ther Adv Med Oncol. – 2019. – Vol. 11. – P. 1758835918821021.
27. Pflug N., Kluth S., Vehreschild J.J., Bablo J., Tacke D., Biehl L., Eichhorst B., Fischer K., Cramer P., Fink A.M., von Bergwelt-Baildon M., Stilgenbauer S., Hallek M., Cornely O.A., Vehreschild M.J. Efficacy of antineoplastic treatment is associated with the use of antibiotics that modulate intestinal microbiota // Oncoimmunology. – 2016. – Vol. 5, № 6. – P. e1150399.
28. Routy B., Le Chatelier E., Derosa L., Duong C.P.M., Alou M.T., Daillère R., Fluckiger A., Messaoudene M., Rauber C., Roberti M.P., Fidelle M., Flament C., Poirier-Colame V., Opolon P., Klein C., Iribarren K., Mondragón L., Jacquilot N., Qu B., Ferrere G., Clémenson C., Mezquita L., Masip J.R., Naltet C., Brosseau S., Kaderbbai C., Richard C., Rizvi H., Levenez F., Galleron N., Quinquis B., Pons N., Ryffel B., Minard-Colin V., Gonin P., Soria J.C., Deutsch E., Lioriot Y., Ghiringhelli F., Zalcman G., Goldwasser F., Escudier B., Hellmann M.D., Eggermont A., Raoult D., Albiges L., Kroemer G., Zitvogel L. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors // Science. – 2018. – Vol. 359, № 6371. – P. 91–97.
29. Gopalakrishnan V., Spencer C.N., Nezi L., Reuben A., Andrews M.C., Karpinetz T.V., Prieto P.A., Vicente D., Hoffman K., Wei S.C., Cogdill A.P., Zhao L., Hudgens C.W., Hutchinson D.S., Manzo T., Petaccia de Macedo M., Cotechini T., Kumar T., Chen W.S., Reddy S.M., Szczepaniak Sloane R., Galloway-Pena J., Jiang H., Chen P.L., Shpall E.J., Rezvani K., Alousi A.M., Chemaly R.F., Shelburne S., Vence L.M., Okbuysen P.C., Jensen V.B., Swennes A.G., McAllister F., Marcelo Riquelme Sanchez E., Zhang Y., Le Chatelier E., Zitvogel L., Pons N., Austin-Breneman J.L., Haydu L.E., Burton E.M., Gardner J.M., Sirmans E., Hu J., Lazar A.J., Tsujikawa T., Diab A., Tawbi H., Glitza I.C., Hwu W.J., Patel S.P., Woodman S.E.,



Amaria R.N., Davies M.A., Gershenwald J.E., Hwu P., Lee J.E., Zhang J., Coussens L.M., Cooper Z.A., Futreal P.A., Daniel C.R., Ajami N.J., Petrosino J.F., Tetzlaff M.T., Sharma P., Allison J.P., Jenq R.R., Wargo J.A. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients // *Science*. – 2018. – Vol. 359, № 6371. – P. 97–103.

30. Alang N., Kelly C.R. Weight gain after fecal microbiota transplantation // *Open Forum Infect Dis*. – 2015. – Vol. 2, № 1. – P. ofv004.

31. Bultman S.J. The microbiome and its potential as a cancer preventive intervention // *Semin Oncol*. – 2016. – Vol. 43, № 1. – P. 97–106.

## References

1. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K.S., Manichanh C., Nielsen T., Pons N., Levenez F., Yamada T., Mende D.R., Li J., Xu J., Li S., Li D., Cao J., Wang B., Liang H., Zheng H., Xie Y., Tap J., Lepage P., Bertalan M., Batto J.M., Hansen T., Le Paslier D., Linneberg A., Nielsen H.B., Pelletier E., Renault P., Sicheritz-Ponten T., Turner K., Zhu H., Yu C., Li S., Jian M., Zhou Y., Li Y., Zhang X., Li S., Qin N., Yang H., Wang J., Brunak S., Doré J., Guarner F., Kristiansen K., Pedersen O., Parkhill J., Weissenbach J., MetaHIT C., Bork P., Ehrlich S.D., Wang J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010; 464(7285): 59-65. doi: 10.1038/nature08821.

2. Williams A.R., Balasooriya B.A., Day D.W. Polyps and cancer of the large bowel: a necropsy study in Liverpool. *Gut*, 1982; 23(10): 835-842.

3. Mueller N.T., Bakacs E., Combellick J., Grigoryan Z., Dominguez-Bello M.G. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol Med*, 2015; 21(2): 109-117. doi: 10.1016/j.molmed.2014.12.002.

4. Yatsunen T., Rey F.E., Manary M.J., Trehan I., Dominguez-Bello M.G., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Baldassano R.N., Anokhin A.P., Heath A.C., Warner B., Reeder J., Kuczynski J., Caporaso J.G., Lozupone C.A., Lauber C., Clemente J.C., Knights D., Knight R., Gordon J.I. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 2012; 486(7402): 222-227. doi: 10.1038/nature11053.

5. Belkaid Y., Naik S. Compartmentalized and systemic control of tissue immunity by commensals. *Nat Immunol*, 2013; 14(7): 646-653.

6. Zitvogel L., Ma Y., Raouf D., Kroemer G., Gajewski T.F. The microbiome in cancer immunotherapy: Diagnostic tools and therapeutic strategies. *Science*, 2018; 359(6382): 1366-1370. doi: 10.1126/science.aar6918.

7. Conroy M.J., Dunne M.R., Donohoe C.L., Reynolds J.V. Obesity-associated cancer: an immunological perspective. *Proc Nutr Soc*, 2016; 75(2): 125-138.

8. Poutahidis T., Varian B.J., Levkovich T., Lakritz J.R., Mirabal S., Kwok C., Ibrahim Y.M., Kearney S.M., Chatzigiagkos A., Alm E.J., Erdman S.E. Dietary microbes modulate transgenerational cancer risk. *Cancer Res*, 2015; 75(7): 1197-1204. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2732.

9. Masuyama H., Mitsui T., Nobumoto E., Hiramatsu Y. The Effects of High-Fat Diet Exposure In Utero on the Obesogenic and Diabetogenic Traits Through Epigenetic Changes in Adiponectin and Leptin Gene Expression for Multiple Generations in Female Mice. *Endocrinology*, 2015; 156(7): 2482-2491.

10. Xuan C., Shamonki J.M., Chung A., Dinome M.L., Chung M., Sieling P.A., Lee D.J. Microbial dysbiosis is associated with human breast cancer. *PLoS One*, 2014; 9(1): e83744. doi: 10.1371/journal.pone.0083744.

11. Dzutsev A., Badger J.H., Perez-Chanona E., Roy S., Salcedo R., Smith C.K., Trinchieri G. Microbes and Cancer. *Annu Rev Immunol*, 2017; 35: 199-228.

12. Zhang S.H., Zhu X., Li B.M., Li H. The effect of virulence genotypes of *Helicobacter pylori* on eradication therapy in children. *Saudi J Gastroenterol*, 2018; 24(4): 249-254. doi: 10.4103/sjg.SJG\_579\_17.

13. Peek R.M., Blaser M.J. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer*, 2002; 2(1): 28-37.

14. Khosravi Y., Bunte R.M., Chiow K.H., Tan T.L., Wong W.Y., Poh Q.H., Doli Sentosa I.M., Seow S.W., Amoyo A.A., Pettersson S., Loke M.F., Vadivelu J. *Helicobacter pylori* and gut microbiota modulate energy homeostasis prior to inducing histopathological changes in mice. *Gut Microbes*, 2016; 7(1): 48-53. doi: 10.1080/19490976.2015.1119990.

15. Perry S., de Jong B.C., Solnick J.V., de la Luz Sanchez M., Yang S., Lin P.L., Hansen L.M., Talat N., Hill P.C., Hussain R., Adegbola R.A., Flynn J., Canfield D., Parsonnet J. Infection with *Helicobacter pylori* is associated with protection against tuberculosis. *PLoS One*, 2010; 5(1): e8804.

16. Coker O.O., Dai Z., Nie Y., Zhao G., Cao L., Nakatsu G., Wu W.K., Wong S.H., Chen Z., Sung J.J.Y., Yu J. Mucosal microbiome dysbiosis in gastric carcinogenesis. *Gut*, 2018; 67(6): 1024-1032.

17. Chung L., Thiele Orberg E., Geis A.L., Chan J.L., Fu K., DeStefano Shields C.E., Dejea C.M., Fatbi P., Chen J., Finard B.B., Tam A.J., McAllister F., Fan H., Wu X., Ganguly S., Lebid A., Metz P., Van Meerbeke S.W., Huso D.L., Wick E.C., Pardoll D.M., Wan F., Wu S., Sears C.L., Housseau F. *Bacteroides fragilis* Toxin Coordinates a Pro-carcinogenic Inflammatory Cascade via Targeting of Colonic Epithelial Cells. *Cell Host Microbe*, 2018; 23(2): 203-214.e5. doi: 10.1016/j.chom.2018.01.007.

18. Dejea C., Wick E., Sears C.L. Bacterial oncogenesis in the colon. *Future Microbiol*, 2013; 8(4): 445-460.

19. Peled J.U., Devlin S.M., Staffas A., Lumish M., Khanin R., Littmann E.R., Ling L., Kosuri S., Maloy M., Slingerland J.B., Abr K.F., Porosnicu Rodriguez K.A., Shono Y., Slingerland A.E., Docampo M.D., Sung A.D., Weber D., Alousi A.M., Gyurkocza B., Ponce D.M., Barker J.N., Perales M.A., Giralto S.A., Taur Y., Pamer E.G., Jenq R.R., van den Brink M.R.M. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*, 2017; 35(15): 1650-1659.

20. Geller L.T., Barzily-Rokni M., Danino T., Jonas O.H., Shental N., Nejman D., Gavert N., Zwang Y., Cooper Z.A., Shee K., Thaiss C.A., Reuben A., Livny J., Avraham R., Frederick D.T., Ligorio M., Chatman K., Johnston S.E.,

Mosher C.M., Brandis A., Fuks G., Gurbatri C., Gopalakrishnan V., Kim M., Hurd M.W., Katz M., Fleming J., Maitra A., Smith D.A., Skalak M., Bu J., Michaud M., Trauger S.A., Barsback I., Golan T., Sandbank J., Flaberty K.T., Mandinova A., Garrett W.S., Thayer S.P., Ferrone C.R., Huttenbower C., Bhatia S.N., Gevers D., Wargo J.A., Golub T.R., Straussman R. Potential role of intratumor bacteria in mediating tumor resistance to the chemotherapeutic drug gemcitabine. *Science*, 2017; 357(6356): 1156-1160. doi: 10.1126/science.aah5043.

21. Choy A.T.F., Carnevale I., Coppola S., Meijer L.L., Kazemier G., Zaura E., Deng D., Giovannetti E. The microbiome of pancreatic cancer: from molecular diagnostics to new therapeutic approaches to overcome chemoresistance caused by metabolic inactivation of gemcitabine. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018; 18(12): 1005-1009.

22. Wallace B.D., Wang H., Lane K.T., Scott J.E., Orans J., Koo J.S., Venkatesh M., Jobin C., Yeh L.A., Mami S., Redinbo M.R. Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science*, 2010; 330(6005): 831-835. doi: 10.1126/science.1191175.

23. Gori S., Inno A., Belluomini L., Bocus P., Bisoffi Z., Russo A., Arcaro G. Gut microbiota and cancer: How gut microbiota modulates activity, efficacy and toxicity of antitumoral therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019; 143: 139-147.

24. Vuyyuri S.B., Hamstra D.A., Khanna D., Hamilton C.A., Markwart S.M., Campbell K.C., Sunkara P., Ross B.D., Rebentulla A. Evaluation of D-methionine as a novel oral radiation protector for prevention of mucositis. *Clin Cancer Res*, 2008; 14(7): 2161-2170. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1954.

25. Hamstra D.A., Eisbruch A., Naidu M.U., Ramana G.V., Sunkara P., Campbell K.C., Ross B.D., Rebentulla A. Pharmacokinetic analysis and phase 1 study of MRX-1024 in patients treated with radiation therapy with or without cisplatin for head and neck cancer. *Clin Cancer Res*, 2010; 16(9): 2666-2676.

26. Wu C.H., Ko J.L., Liao J.M., Huang S.S., Lin M.Y., Lee L.H., Chang L.Y., Ou C.C. D-methionine alleviates cisplatin-induced mucositis by restoring the gut microbiota structure and improving intestinal inflammation. *Ther Adv Med Oncol*, 2019; 11: 1758835918821021. doi: 10.1177/1758835918821021.

27. Pflug N., Kluth S., Vebreschild J.J., Bablo J., Tacke D., Biehl L., Eichhorst B., Fischer K., Cramer P., Fink A.M., von Bergwelt-Baildon M., Stilgenbauer S., Hallek M., Cornely O.A., Vebreschild M.J. Efficacy of antineoplastic treatment is associated with the use of antibiotics that modulate intestinal microbiota. *Oncoimmunology*, 2016; 5(6): e1150399.

28. Routy B., Le Chatelier E., Derosa L., Duong C.P.M., Alou M.T., Daillère R., Fluckiger A., Messaoudene M., Rauber C., Roberti M.P., Fidelle M., Flament C., Poirier-Colame V., Opolon P., Klein C., Iribarren K., Mondragón L., Jacquilot N., Qu B., Ferrere G., Clémenson C., Mezquita L., Masip J.R., Naltet C., Brosseau S., Kaderbhai C., Richard C., Rizvi H., Levenez F., Galleron N., Quinquis B., Pons N., Ryffel B., Minard-Colin V., Gonin P., Soria J.C., Deutsch E., Loriot Y., Ghiringhelli F., Zalcman G., Goldwasser F., Escudier B., Hellmann M.D., Eggermont A., Raoult D., Albiges L., Kroemer G., Zitvogel L. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*, 2018; 359(6371): 91-97.

29. Gopalakrishnan V., Spencer C.N., Nezi L., Reuben A., Andrews M.C., Karpinets T.V., Prieto P.A., Vicente D., Hoffman K., Wei S.C., Cogdill A.P., Zhao L., Hudgens C.W., Hutchinson D.S., Manzo T., Petaccia de Macedo M., Cotechini T., Kumar T., Chen W.S., Reddy S.M., Szczepaniak Sloane R., Galloway-Pena J., Jiang H., Chen P.L., Shpall E.J., Rezvani K., Alousi A.M., Chemaly R.F., Shelburne S., Vence L.M., Okbuysen P.C., Jensen V.B., Swennes A.G., McAllister F., Marcelo Riquelme Sanchez E., Zhang Y., Le Chatelier E., Zitvogel L., Pons N., Austin-Breneman J.L., Haydu L.E., Burton E.M., Gardner J.M., Sirmans E., Hu J., Lazar A.J., Tsujikawa T., Diab A., Tawbi H., Glitza I.C., Hwu W.J., Patel S.P., Woodman S.E., Amaria R.N., Davies M.A., Gershenwald J.E., Hwu P., Lee J.E., Zhang J., Coussens L.M., Cooper Z.A., Futreal P.A., Daniel C.R., Ajami N.J., Petrosino J.F., Tetzlaff M.T., Sharma P., Allison J.P., Jenq R.R., Wargo J.A. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*, 2018; 359(6371): 97-103. doi: 10.1126/science.aan4236.

30. Alang N., Kelly C.R. Weight gain after fecal microbiota transplantation. *Open Forum Infect Dis*, 2015; 2(1): ofv004. doi: 10.1093/ofid/ofv004.

31. Bultman S.J. The microbiome and its potential as a cancer preventive intervention. *Semin Oncol*, 2016; 43(1): 97-106. doi: 10.1053/j.seminoncol.2015.09.001.