10.21518/2079-701X-2018-10-128-133

Т.Ю. СЕМИГЛАЗОВА[1,2], д.м.н., **Н.А. БРИШ[1], Т.Ю. ГАЛУНОВА[1], А.С. БЕРНАЦКИЙ[1], В.В. СЕМИГЛАЗОВ[1,3],** д.м.н.
[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург
[2] ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург
[3] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России

РОЛЬ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ В ФОРМИРОВАНИИ ОТВЕТА НА ИММУНОТЕРАПИЮ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ:

СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Современная концепция симбиотических взаимоотношений между макроорганизмом и микробиотой кишечника не вызывает сомнений. На состав микробиоты прежде всего влияют факторы окружающей среды, генетические и иммунные факторы организма хозяина. Дисбиоз кишечника может привести к доминированию некоторых видов бактерий, способствующих активации механизмов канцерогенеза и развитию злокачественных опухолей толстой кишки за счет хронического воспаления или местной иммуносупрессии. В эру иммуноонкологии роль кишечной микробиоты в формировании ответа на иммунотерапию злокачественных новообразований представляет большой интерес для медицинского сообщества. Учитывая, что состав кишечной микробиоты является индивидуальным для каждого человека, ее исследование как нельзя лучше вписывается в набирающую силу концепцию персонализированного медицинского подхода.

Ключевые слова: *кишечная микробиота, иммунотерапия, checkpoint-ингибиторы, антибиотикотерапия.*

T.Yu. SEMIGLAZOVA[1,2], N.A. BRISH[1], T.Yu. GALUNOVA[1], A.S. BERNATSKIY[1], V.V. SEMIGLAZOV[1,3]
[1] N.N.Petrov National Medical Research Centre of Oncology the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg
[2] I.I. Mechnikov North-Western State Medical University of the Ministry of Health of Russia, St.Petersburg
[3] I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of the Ministry of Health of Russia

THE ROLE OF GUT MICROBIOTA IN FORMING A RESPONSE TO IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT NEOPLASMS: PROBLEM STATE

The modern concept of symbiotic relationship between the macroorganism and the gut microbiota is practically assured. The microbiota composition is primarily influenced by environmental factors, genetic and immune factors of the host organism. The gut dysbiosis can lead to the dominance of certain types of bacteria that promote the activation of carcinogenesis mechanisms and the development of malignant tumours of the colon due to chronic inflammation or local immunosuppression. The role of the intestinal microbiota in forming a response to the immunotherapy of malignant neoplasms is of great interest to the medical community in the era of immunooncology. Given that the gut microbiota composition is individual for each person, its examination fits nicely into the up-and-coming concept of a personalized medical approach.

Keywords: *intestinal microbiota, immunotherapy, checkpoint-inhibitors, antibiotic therapy.*

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к кишечной микробиоте и ее роли в терапевтическом лечении различных заболеваний с каждым годом возрастает. Это можно оценить по количеству научных публикаций на данную тему на ресурсе PubMed: в начале 2000-х годов по запросу «gut microbiota» имелось менее 10 статей, более 500 публикаций – в 2011 году и уже более 10 000 статей – к 2017 году. При поиске работ, которые бы содержали указания на связь микробиома со злокачественными новообразованиями, представлено более 1 500 статей. Бурно развиваются новые идеи использования микроорганизмов как точки приложения в диагностике, лечении и определении прогноза отдельных злокачественных новообразований. Появляется все больше исследований, связанных с изучением роли количественного и качественного состава микрофлоры в формировании ответа на те или иные терапевтические агенты. Отдельный интерес представляют работы, посвященные исследованию в области иммунотерапии онкологических заболеваний. Определение количественного и качественного состава кишечной микробиоты в настоящее время является одним из перспективных направлений в медицине, который позволяет прогнозировать клинический ответ на применение таргетных препаратов.

КОНЦЕПЦИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ МАКРООРГАНИЗМОМ И МИКРОБИОТОЙ КИШЕЧНИКА

Микробиота пищеварительного тракта в современном представлении рассматривается как качественно и количественно гетерогенное соотношение разнообраз-

ных микроорганизмов, играющее значимую роль в поддержании биохимического, метаболического и иммунного равновесия макроорганизма, представляющее собой неспецифический барьер от патогенных бактерий и других экзогенных факторов агрессии. В толстой кишке условия среды благоприятны для жизнедеятельности микроорганизмов, поэтому в этом отделе кишечника численность 36 000 видов бактерий достигает пиковых значений – 10^{10}–10^{13} КОЕ/мл (1011 бактерий на грамм кишечного содержимого), что составляет примерно 5–8% от массы тела [1–3]. Анаэробы превалируют над аэробами в соотношении 1000:1 [1–3]. По результатам исследования популяций в Европе (клиническое исследование MetaHIT) и в Америке (клиническое исследование HMP) было установлено, что в составе микробиоты доминируют микроорганизмы типов Bacteroidetes и Firmicutes [4–6]. Общепринятым считается факт, что колонизация бактериями кишечника начинается сразу после рождения, при прохождении плода через родовые пути матери [7–9]. Хотя на состав кишечной микробиоты влияет множество факторов, таких как диета, пол, географическое местоположение и этническая принадлежность [10–14], вид родоразрешения является самым важным фактором приобретения новорожденным первичной микробиоты. Несколько исследований предполагают корреляцию между кесаревым сечением и развитием различных аутоиммунных заболеваний в связи с доказанной существенной ролью микробиома матери в становлении перинатальной иммунной системы [15–18]. Это дает основание полагать, что определенный состав комменсальной микрофлоры играет важную роль в формировании иммунного ответа и, следовательно, определяет степень подверженности организма различным заболеваниям [8, 19].

В некоторых исследованиях было обнаружено, что микробиота кишечника является основным фактором, влияющим на распространенность опухоли и продолжительность жизни пациентов за счет воздействия на процессы молекулярного окислительного стресса и системную генотоксичность периферических лейкоцитов, ведущих к снижению активности системного воспаления, которое играет достаточно важную роль в механизмах развития злокачественных опухолей

В настоящее время является доказанным, что дисбиоз кишечника, который является проявлением нарушения равновесия в бактериальной экосистеме, может привести к доминированию некоторых видов бактерий, что способствует активации механизмов канцерогенеза и развитию злокачественных опухолей толстой кишки за счет хронического воспаления или местной иммуносупрессии [20–24].

Учитывая, что кишечная микробиота является потенциально модифицируемой единицей, вмешательство для восстановления благоприятного микробиоценоза у больных различными онкологическими заболеваниями может иметь хорошие результаты. В настоящее время все чаще применяются методы иммунотерапии злокачественных опухолей. Развитие этой области представляет большой интерес для медицинского сообщества, и в последние годы стал рассматриваться вопрос о ключевой роли кишечной микробиоты в формировании ответа на воздействие противоопухолевых препаратов. Имеется достаточно много исследований, по результатам которых было показано, что при введении образцов микробиоты от доноров в организм пациентов, получающих терапию по поводу различных онкологических заболеваний, стимулируется рост собственных микроорганизмов у реципиентов, что повышает активность антиканцерогенных иммунных механизмов, а также происходит стимуляция различных звеньев иммунитета [25–31]. Это дает повод для дальнейшего исследования связи между применением иммунотерапии в лечении злокачественных новообразований и ролью резидентных микроорганизмов в течении онкологических заболеваний. В некоторых исследованиях было обнаружено, что микробиота кишечника является основным фактором, влияющим на распространенность опухоли и продолжительность жизни пациентов за счет воздействия на процессы молекулярного окислительного стресса [32–33] и системную генотоксичность периферических лейкоцитов [31], ведущих к снижению активности системного воспаления, которое играет достаточно важную роль в механизмах развития злокачественных опухолей.

МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА И ОТВЕТ НА ИММУНОТЕРАПИЮ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Во многих работах на мышиных моделях была определена ключевая роль микробиоты кишечника в ответе опухоли на химиотерапию и иммунотерапию check-point-ингибиторами (ингибиторами иммунных «точек контроля» или регуляторными молекулами ключевых этапов иммунного ответа) [25, 34–38], что было связано с опухолеспецифическими Т-клеточными ответами и накоплением Т-клеток CD8 + [37, 39–41]. Также в некоторых исследованиях было показано, что механизм данного взаимодействия опосредован дендритными клетками, увеличивающими прайминг и накопление CD8+ Т-лимфоцитов в микроокружении опухоли [37, 42].

Многие исследователи расходятся во мнениях о том, бактерии какого именно рода могут быть посредниками для лучшего ответа на противоопухолевую иммунотерапию. Есть сведения о том, что эффективность анти-PD-1-терапии значительно выше у пациентов, в составе микробиоты которых обнаруживается относительное преобладание бактерий рода Ruminococcaceae [43]. Другие исследователи предполагают, что относительное увеличение содержания Clostridiales в фекальных образцах [38] коррелирует с более выраженным ответом на проводимую терапию, а также имеются данные о значительном

увеличении выживаемости без прогрессирования (PFS) у групп пациентов с высоким содержанием Faecalibacterium [44]. И наоборот, пациенты с высоким содержанием Bacteroidales в составе микрофлоры имели меньшую PFS по сравнению с теми, у кого количество этих бактерий было снижено.

Однако в противовес данному заключению существует мнение о том, что противоопухолевый эффект анти-CTLA-4-препаратов как раз может иметь взаимосвязь с присутствием в составе кишечной нормобиоты различных видов микроорганизмов рода Bacteroidales. Для того чтобы установить причинно-следственную связь между доминированием отдельных Bacteroides spp. и противоопухолевой эффективностью анти-CTLA-4-терапии, на основе мышиных моделей были проведены реколонизации желудочно-кишечного тракта фекальными образцами, содержащими различные изоляты представителей данного рода бактерий. Было доказано, что заселение кишечника комбинацией B. fragilis и Burkholderia cepacia, в отличие от всех других изолятов, было связано с более выраженным противоопухолевым ответом на анти-CTLA-4-препараты [38]. По мнению авторов, это могло быть связано с ролью микроорганизмов Akkermansia muciniphila в формировании ответа на иммунотерапию как комменсала, который был наиболее часто связан с благоприятным клиническим исходом (как в случаях НМРЛ, так и при наличии почечно-клеточной карциномы) [38].

Доказано, что дисбиоз кишечника может привести к доминированию некоторых видов бактерий, способствующих активации механизмов канцерогенеза и развитию злокачественных опухолей толстой кишки за счет хронического воспаления или местной иммуносупрессии

Несколько проведенных исследований показали, что увеличение относительной численности микроорганизмов рода Bifidobacterium в микробиоте кишечника определяет противоопухолевый ответ Т-клеток [37, 39, 40]. Результаты показали, что наличие комменсальной флоры с преобладанием рода Bifidobacterium может способствовать увеличению активности противоопухолевого иммунитета, тем самым увеличивая эффективность анти-PD-L1-терапии [37]. Также большое количество работ в настоящее время оценивают взаимосвязи количественного и качественного состава микробиоты с ответом на анти-CTLA-4-препараты. Анализ показал, что уже после начала лечения CTLA-4-ингибиторами происходят изменения на уровне рода микроорганизмов. Так, использование ипилимумаба вызывает достоверно быстрое снижение представительства как Bacteroidales, так и Burkholderiales с относительным увеличением содержания Clostridiales в фекальных образцах [38]. После проведения переноса фекальных образцов от доноров к реципиентам было установлено, что заселение кишечника комбинацией B. fragilis и Burkholderia cepacia, в отличие от всех других выделенных изолятов, было связано с более выраженным противоопухолевым ответом на анти-CTLA-4-препараты [38]. Возможно, это обусловлено активацией пирин-каспазы-1 [45] и прямым взаимодействием с сигнальными путями Tlr2 /Tlr4, индукцией активации Т-хелперов-1 при поражении лимфатических узлов, что способствует созреванию дендритных клеток, а следовательно, и улучшению терапевтического ответа опухоли на анти-CTLA-4-терапию [38, 46]. Следовательно, можно сделать вывод, что ипилимумаб может модифицировать численность иммуногенных микроорганизмов рода Bacteroides spp. в кишечнике, что, в свою очередь, влияет на его противоопухолевую активность. Все эти факторы могли бы объяснить механизмы иммуномодулирующих эффектов CTLA-4-ингибиторов.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОТЕРАПИИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ, ПОЛУЧАВШИХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИЮ, В КОНТЕКСТЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

На основании изученных данных можно сделать вывод о том, что более высокую эффективность от применения иммунологических препаратов в лечении онкологических заболеваний следует ожидать у пациентов, которые имеют более разнообразное представительство микроорганизмов в составе кишечной микробиоты. Это подводит к логичному заключению о необходимости исследования влияния антибиотиков на эффективность проведения иммунотерапии при онкологических заболеваниях, в частности при применении checkpoint-ингибиторов. Определенные изменения состава микробиоты кишечника человека при применении антибиотиков оценить практически невозможно, потому что ответ каждого человека на антибактериальную терапию уникален [47, 48]. Во многих отечественных и зарубежных исследованиях было доказано, что при использовании антибиотиков в терапии различных заболеваний резко изменяется количественный и качественный состав микрофлоры, как патогенной, так и комменсальной [47–49]. Как пероральное, так и парентеральное использование антибактериальных препаратов оказывает воздействие и изменяет количественный и качественный состав микробиоты кишечника [50, 51], существенно влияя на метаболизм всей совокупности микроорганизмов. Были получены новые данные, свидетельствующие о том, что микроорганизмы могут влиять на популяции стволовых клеток, регулируя их дифференцировку. В свою очередь, антибиотики, изменяя состав кишечной микробиоты, влекут за собой изменения в путях развития клеток и отдаленные нарушения физиологии на всех уровнях функционирования макроорганизма [52].

Поскольку микробиота кишечника важна для формирования и поддержания иммунной системы хозяина, изменения в ее составе, обусловленные применением антибиотиков, могут иметь негативные последствия для

макроорганизма [53]. Так, было доказано, что в зависимости от количества и качества микробиоты человек подвержен более высокому риску развития различных аутоиммунных заболеваний [53–55]. Доклинические исследования показали, что микробиота модулирует активность ингибиторов иммунных контрольных точек, а применение антибиотиков широкого спектра действия снижает эффективность от их использования [56, 57]. При этом указывается, что результаты терапии определенно не коррелируют с такими факторами, как возраст, пол и характеристика опухолевого процесса [56]. По мнению исследователей, отрицательный эффект применения антибиотиков при терапии checkpoint-ингибиторами напрямую связан с элиминацией комменсальной флоры.

Доклинические исследования показали, что микробиота модулирует активность ингибиторов иммунных контрольных точек, а применение антибиотиков широкого спектра действия снижает эффективность их использования

В феврале 2017 г. состоялся международный урологический симпозиум (Орландо, Флорида), на котором были представлены первые данные о взаимосвязи между антибиотикотерапией и ответом на иммунотерапию ингибиторами иммунных «точек контроля» у онкологических больных. По данным ретроспективного анализа (Lisa Derosa et al., 2017 [56]) впервые выявлено снижение эффективности иммунотерапии ингибиторами точек иммунного контроля у больных почечно-клеточным раком, получавших антибактериальную терапию за месяц до начала противоопухолевого лечения. Проанализированы данные о 80 пациентах с метастастическим почечно-клеточным раком, получавших иммунотерапию check-point и антибактериальную терапию за месяц до начала противоопухолевого лечения.

Больные метастатическим почечно-клеточным раком получали иммунотерапию на основе ингибиторов иммунных «точек контроля»: монотерапию PD-1 или PD-L1-ингибиторами (n = 67); комбинированную терапию PD-1 и CTLA-4-ингибиторами (n = 10); комбинацию PD-L1 и бевацизумаба (n = 3). Из 80 пациентов с почечно-клеточным раком (65% мужчины) за месяц до начала иммунотерапии 16 больных (20%) получали антибактериальную терапию, в основном антибиотиками широкого спектра действия (бета-лактамные антибиотики и фторхинолоны). Большинству больных ПКР (80%) была ранее выполнена нефрэктомия. В исследовании показано, что более агрессивное течение почечно-клеточного рака после лечения ингибиторами точек иммунного контроля наблюдается у больных, подвергшихся антибактериальной терапии, в сравнении с пациентами, не получавшими антибактериальные препараты (медиана времени до прогрессирования составила 2,3 и 8,1 месяцев соответственно, p<0,001) [55].

В марте 2018 года в журнале Annals of Oncology были опубликованы данные о влиянии антибиотикотерапии, проводимой до начала check-point-ингибиторов, на общую выживаемость у больных почечно-клеточным раком (ПКР) и немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Были проанализированы когорта пациентов с распространенной формой почечно-клеточной карциномы (n = 121) и пациенты с НМРЛ (n = 239). В когорте ПКР 88% пациентов получали монотерапию анти-PD-1 или анти-PD-L1-препаратами. Остальные пациенты получали анти-PD-1 или анти-PD-L1-терапию в комбинации с анти-CTLA-4-препаратами (8%) или бевацизумабом (4%). В когорте пациенты НМРЛ получали либо только анти-PD-1 или анти-PD-L1-терапию (86%) или в комбинации с анти-CTLA-4-терапией (14%). Шестнадцать пациентов (13%) в группе ПКР и 48 (20%) в группе НМРЛ получали антибиотики в течение 30 дней после начала специального лечения. По сравнению с пациентами с ПКР, которые не получали антибиотики, пациенты, получившие курс антибиотикотерапии, имели более низкие показатели выживаемости: общей выживаемости (17,3 против 30,6 месяцев, ОР 3,5 [95% ДИ 1,1–10,8], p = 0,03) и выживаемости без прогрессирования (1,9 против 7,4 месяца, ОР 3,1 [95% ДИ, 1,4–6,9], p<0,01) соответственно. В группе пациентов с НМРЛ, которые получали антибиотики, также отмечалась более низкая медиана общей выживаемости (7,9 против 24,6 месяцев, ОР 4,4 [95% ДИ 2,6–7,7], p<0,01), а также была низкой и медиана выживаемости без прогрессирования (1,9 против 3,8 мес, ОР 1,5 [95% ДИ, 1,0–2,2], p = 0,03) соответственно [56].

Предполагается, что негативное влияние антибактериальных препаратов на противоопухолевый ответ обусловлено их способностью угнетать «эссенциальную» микрофлору кишечника. Ранее проведенные исследования на мышах подтвердили, что благодаря взаимодействию части микроорганизмов кишечника с иммунной системой может усиливаться терапевтический эффект check-point-ингибиторов [53–55].

Наличие комменсальной флоры с преобладанием рода Bifidobacterium может способствовать увеличению активности противоопухолевого иммунитета, тем самым увеличивая эффективность анти-PD-L1-терапии

В перспективе подобные исследования могут подтвердить эффективность определения дефицитных энтеротипов, а также доказать необходимость фекальной микробной трансплантации для улучшения противоопухолевого ответа различных злокачественных заболеваний на иммунотерапию checkpoint-ингибиторами.

РАЗРАБОТКА СТАНДАРТОВ ИЗУЧЕНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Определение состава кишечной микробиоты у онкологических больных сопряженно с рядом нерешенных вопросов:

- определение наиболее информативного локуса забора биоматериала;
- разработка методов забора, хранения, транспортировки биоматериала;
- разработка «банка микробиоты» (методы консервации культивируемых микроорганизмов, их последующее восстановление);
- синтезирование продуктов жизнедеятельности бактерий;
- изучение микробиоты после различных вмешательств, определение наиболее страдающего звена;
- донация макроорганизма.

Существующие методы изучения толстокишечной микробиоты (*табл.*) также разнятся по точности, чувствительности, специфичности, трудоемкости, стоимости и доступности выполнения метода в рутинной клинической практике [58–62].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кишечная микробиота является потенциально модифицируемой единицей, поэтому различного рода вмешательства для восстановления благоприятной микрофлоры у онкологических больных будут благоприятно сказываться на прогнозе заболевания. Для этого в скором будущем научному медицинскому сообществу предстоит разрешить ряд важных задач, в том числе:

- Разработать стандарты изучения кишечной микробиоты.
- Оценить факторы риска развития онкологических заболеваний (качественный и количественный состав кишечной микрофлоры) при нарушениях функционирования кишечной микрофлоры.
- Обеспечить донацию «здоровой» (полноценной) микрофлоры кишечника с целью повышения эффективности иммунотерапии checkpoint-ингибиторами, особенно у онкологических пациентов после применения антибиотикотерапии.

Таблица. Сравнительная оценка существующих методов изучения толстокишечной микробиоты

Метод	Достоинства	Недостатки
Культуральный [58–62]	Распространенность, относительная доступность, выделение чистой культуры	Трудоемкость, долговременность, изучаемый спектр 2–4% от общего количества микроорганизмов
ПЦР [58–62]	Высокая чувствительность и специфичность, автоматизация, быстрый результат	Высокая вероятность ложноположительных/ложноотрицательных результатов, констатация присутствия/отсутствия микробных тел
RT-Q-PCR [58–62]	Высокая точность, быстрый результат	Отсутствие полных баз данных для сравнения, дороговизна
Секвенирование 16S рРНК [58–62]	Простота выполнения, возможность проследить путь эволюции, наличие баз данных	Широкий разброс разнообразия видов, невозможность оценить биологические функции
Полногеномное секвенирование [58–62]	Определение биологических функций, качественно-количественное соотношение микроорганизмов	Высокая стоимость, сложность выполнения, отсутствие баз данных
Изучение метаболома [58]	Высокая чувствительность, быстрота	Высокая стоимость, многократные повторения, оценка только ранее секвенированных микроорганизмов

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в ходе написания данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hawrelak JA, Myers SP. The causes of intestinal dysbiosis: a review *Altern Med Rev*, 2004, 9: 180-197.
2. Stark PL, Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast–fed and formula–fed infants during the first year of life. *J Med Microbiol,* 1982 May, 5(2): 189–203, Walker & Duffy, 1998.
3. Tuohy K, Del Rio D. Diet-microbe interactions in the gut. Elsevier Science, 2014: 268.
4. Кожевников А.А., Раскина К.В., Мартынова Е.Ю., Тяхт А.В., Перфильев А.В., Драпкина О.М. и др. Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования. *РМЖ*, 2017, 17: 1244–1247./ Kozhevnikov AA, Raskina KV, Martynova EYu, Tahht AV, Perfiliev AV, Drapkina OM et al. Gut microbiota: modern concepts of the species composition, functions and methods of investigation. *RMJ*, 2017, 17: 1244-1247.
5. Arora T, Bäckhed F. The gut microbiota and metabolic disease: current understanding and future perspectives. *J Intern Med*, 2016, 280(4): 339–349.
6. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault M-C, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr*, 1998, 80(suppl1).
7. Хавкин А.И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет. *РМЖ*, 2003, 3(11): 122-125./ Khavkin AI. Microbiocenosis of the intestine and immunity. *RMJ*, 2003, 3 (11): 122-125
8. Dominguez-Bello MG, Blaser MJ, Ley RE, Knight R. Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing. *Gastroenterology,* 2011, 140: 1713-1719.
9. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, et al. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, 2010. 90.
10. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature,* 2011, 473(7346): 174–180.
11. Iizumi T, Battaglia T, Ruiz V, Perez Perez GI. Gut Microbiome and Antibiotics. *Arch Med Res*, 2017 Nov, 48(8): 727-734
12. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT et al. Succession of microbial consortia in the devel-

oping infant gut microbiome. *Proc Natl AcadSci U S A*, 2011 Mar 15, 108(Suppl 1): 4578-85.
13. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010 Mar 4, 464(7285): 59-65.
14. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M. et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 2012 May 9, 486(7402): 222-227.
15. Bager P, Melbye M, Rostgaard K, Benn CS, Westergaard T. Mode of delivery and risk of allergic rhinitis and asthma. *J Allergy ClinImmunol*, 2003 Jan, 111(1): 51-56.
16. Cardwell CR, Stene LC, Joner G, Cinek O, Svensson J, Goldacre MJ. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia*, 2008 May, 51(5): 726-735.
17. Debley JS, Smith JM, Redding GJ, Critchlow CW. Childhood asthma hospitalization risk after cesarean delivery in former term and premature infants. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2005 Feb, 94(2): 228-233.
18. Phillips J, Gill N, Sikdar K, Penney S, Newhook LA. History of cesarean section associated with childhood onset of T1DM in Newfoundland and Labrador, Canada. J Environ Public Health, 2012, 2012: 635097.
19. Zeissig S, Blumberg R.S. Life at the beginning: perturbation of the microbiota by antibiotics in early life and its role in health and disease. *Nat Immuno,* 2014 Apr, 15(4): 307-310.
20. Бельмер С.В. Антибиотик-ассоциированный дисбактериоз кишечника. *РМЖ*, 2004, 3(12): 148–151. /Belmer SV. Antibiotic-associated intestinal dysbacteriosis. *RMJ*, 2004, 3 (12): 148-151.
21. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. К.: Эксперт ЛТД, 2005. С. 362. /Yankovsky DS. Microbial human ecology: modern possibilities of its maintenance and restoration. K.: Expert of LTD., 2005. C. 362.
22. Burns AJ, Rowland IR. Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics. *Curr Issues Intest Microbiol,* 2000 Mar, 1(1): 13-24.
23. Grivennikov SI, Wang K, Mucida D, Stewart CA, Schnabl B, Jauch D et al. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature.* 2012 Nov 8, 491(7423): 254-258.
24. Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR. et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med*, 2009 Sep, 15(9): 1016-1022.
25. Ghiringhelli F, Larmonier N, Schmitt E, Parcellier A, Cathelin D, Garrido C. et al. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative. *Eur J Immunol*, 2004 Feb, 34(2): 336-344.
26. Noriho Iida, AmiranDzutsev, C. Andrew Stewart, Loretta Smith, Nicolas Bouladoux, Rebecca A. W. et al. Commensal Bacteria Control Cancer Response to Therapy by Modulating the Tumor Microenvironment. *Science*, 2013 Nov 22, 342(Issue 6161): 967-970.
27. Pochard P, Gosset P, Grangette C, Andre C, Tonnel AB, Pestel J. et al. Lactic acid bacteria inhibit TH2 cytokine production by mononuclear cells from allergic patients. *J Allergy Clin Immunol*, 2002 Oct, 110(4): 617-623.
28. Viaud S, Flament C, Zoubir M, Pautier P, LeCesne A, Ribrag V. et al. Cyclophosphamide induces differentiation of Th17 cells in cancer patients. *Cancer Res*, 2011 Feb 1, 71(3): 661-665.
29. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Dalil H et al. The Intestinal Microbiota Modulates the Anticancer Immune Effects of Cyclophosphamide. *Science*, 2013 Nov22, 342(Issue 6161): 971-976.
30. Vicari AP, Chiodoni C, Vaure C, Aït-Yahia S, Dercamp C, Matsos F et al. Reversal of tumor-induced dendritic cell paralysis by CpGimmunostimulatory oligonucleotide and anti-interleukin 10 receptor antibody. *J Exp Med*, 2002 Aug 19, 196(4): 541-549.
31. Yamamoto ML, Maier I, Dang AT, Berry D, Liu J, Ruegger PM et al. Intestinal bacteria modify lymphoma incidence and latency by affecting systemic inflammatory state, oxidative stress, and leukocyte genotoxicity. *Cancer Research*, 2013, 73: 4222-4232.
32. Joo HM, Hyun YJ, Myoung KS, Ahn YT, Lee JH, Huh CS et al. Lactobacillus johnsonii HY7042 ameliorates Gardnerella vaginalis-induced vaginosis by killing Gardnerella vaginalis and inhibiting NF-κB activation. *Int Immunopharmacol*, 2011 Nov, 11(11): 1758-1765.
33. Valladares R, Sankar D, Li N, Williams E, Lai K, Abdelgelie A et al. Lactobacillus johnsonii N6.2 Mitigates the Development of Type 1 Diabetes in BB-DP Rats. *PLoS One,* 2010, 5: e10507.
34. Pardoll D. Cancer and the Immune System: Basic Concepts and Targets for Intervention. *Semin Oncol*, 2015 Aug, 42(4): 523-538.
35. Peled JU, Devlin SM, Staffas A, Lumish M, Khanin R, Littmann ER et al. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*, 2017 May 20, 35(15): 1650-1659.
36. Routy B, Chatelier E, Derosa L, Duong C, Tidjani Alou M, Daillère R et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1–based immunotherapy against epithelial tumors. *Science,* 2017, Nov 02, pii: eaan3706. doi: 10.1126/science.aan3706.
37. Sivan A, Corrales L, Hubert N, Williams JB, Keston Aquino-Michaels, Zachary M Earley et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti–PD-L1 efficacy. *Science*, 2015 Nov 27, 350(6264): 1084–1089.
38. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science*, 2015 Nov 27, 350(6264): 1079–1084.
39. Dong P, Yang Y, Wang WP. The role of intestinal bifidobacteria on immune system development in young rats. *Early Hum Dev*, 2010 Jan, 86(1): 51-58.
40. López P, Gueimonde M, Margolles A, Suárez A: Distinct Bifidobacterium strains drive different immune responses in vitro. *Int J Food Microbiol*, 2010, 138: 157-165.
41. Ménard O, Butel MJ, Gaboriau-Routhiau V, Waligora-Dupriet AJ. Gnotobiotic mouse immune response induced by Bifidobacterium sp. strains isolated from infants. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74: 660–666.
42. Spranger S, Spaapen RM, Zha Y, Williams J, Meng Y, Ha TT, Gajewski TF. Up-regulation of PD-L1, IDO, and T(regs) in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8(+) T cells. *Sci Transl Med*, 2013 Aug 28, 5(200): 200ra116.
43. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, Prieto PA et al. Gut microbiome modulates response to anti–PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science,* 2018 Jan 05, 359(Issue 6371): 97-103.
44. Chaput N, Lepage P, Coutzac C, Soularue E, Le Roux K, Monot C et al. Baseline gut microbiota predicts clinical response and colitis in metastatic melanoma patients treated with ipilimumab. *Ann Oncol*, 2017 Jun 1, 28(6): 1368-1379.
45. Xu H, Yang J, Gao W, Li L, Li P, Zhang L. et al. Innate immune sensing of bacterial modifications of Rho GTPases by the Pyrin inflammasome. *Nature*, 2014 Sep 11, 513(7517): 237-241.
46. Huang JY, Lee SM, Mazmanian SK. The human commensal Bacteroidesfragilis binds intestinal mucin. *Anaerobe*, 2011 Aug, 17(4): 137-141.
47. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol*, 2008 Nov 18, 6(11): e280.
48. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl AcadSci U S A*, 2011 Mar 15, 108(Suppl 1): 4554-61.
49. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J*, 2007 May, 1(1): 56-66.
50. Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, McMurdo ME. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Appl Environ Microbiol*, 2004 Jun, 70(6): 3575-81.
51. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*, 2007 Jul, 5(7): e177.
52. http: //www.ascopost.com/News/48357.
53. Kamada N, Núñez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria. *Gastroenterology*, 2014 May, 146(6): 1477-1488.
54. Kamada N, Seo SU, Chen GY, Núñez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. Nat Rev Immunol. 2013 May, 13(5): 321-335
55. Derosa L, Routy B, Enot D, Baciarello G, Massard C, Loriot Y et al. Impact of antibiotics on outcome in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with immune checkpoint inhibitors. *J Clin Oncol,* 2017, 35(suppl 6S, abstract 462).
56. https:www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC44896221/.
57. Derosa L, Hellmann MD, Spaziano M, Halpenny D, Fidelle M, Rizvi H et al. Negative association of antibiotics on clinical activity of immune checkpoint inhibitors in patients with advanced renal cell and non-small cell lung cancer. *Ann Oncol*, 2018 Mar 30, pii: 4956695. doi: 10.1093.
58. Полуэктова Е.А., Ляшенко О.С., Шифрин О.С. и др. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека. *РЖГГК*, 2014, 2: 85-91./ Poluektova EA, Lyashenko OS, Shifrin OS. Modern methods for studying the microflora of the human gastrointestinal tract. *RZHGGK*, 2014, 2: 85-91.
59. Blaut M, Collins MD, Welling GW et al. Molecular biological methods for studying the gut microbiota: The EU human gut flora project. *Br J Nutr*, 2002, 87(suppl. 2): 203–211.
60. Dennemont J, Roupas A, Heitz M. Differentiation of Campylobacter jejuni, C. coli, C. lary and C. fetus fatty acid profiles obtained by gas chromatography – mass spectrometry and by their hippurate hydrolysis. *Mitt Geb Lebensmittelunters Hyg*, 1992, 83(2): 142–150.
61. Morgan XC, Huttenhower C. Chapter: Human microbiome analysis. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8(suppl. 12).
62. Prakash S et al. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. *Biologics*, 2011, 5: 71–86.