

Н.І. Федосова,
Н.Л. Черемшенко,
В.Г. Тихонов,
К.Д. Тарнопольська,
І.М. Восійкова

Інститут експериментальної
патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Ключові слова: аденокарцинома Ерліха, лектин *B. subtilis* IMB B-7724, біфідобактерії *B. animalis*, протипухлинний ефект.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.02.133>

ПРОТИПУХЛИННА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІЙ РОДУ *BIFIDOBACTERIUM* ТА ЛЕКТИНУ *B. SUBTILIS* IMB B-7724

Мета: дослідження протипухлинної ефективності комбінованого застосування бактерій роду *Bifidobacterium* та позаклітинного метаболіту (лектину) *B. subtilis* IMB B-7724. **Об'єкт і методи:** дослідження проведені на мишах лінії Balb/c ($n = 52$). В якості експериментальної моделі використана аденокарцинома Ерліха (АКЕ). Починаючи з 2-ї доби після трансплантації пухлинних клітин тваринам дослідних груп вводили лектин *B. subtilis* IMB B-7724 (п/ш, по 1 мг/кг маси, № 10), *B. animalis* (per os, по 7×10^5 КУО/мишу, № 10) або застосовували їх комбінацію. Оцінювали частоту перещеплення (%), латентний період виходу пухлин, об'єм пухлин (мм³), тривалість життя тварин. Статистичну обробку результатів проводили за загально прийнятими методами варіаційної статистики. **Результати:** введення мишам з АКЕ лектину *B. subtilis* IMB B-7724 (як окремо, так і в комбінації з *B. animalis*) призводило до суттєвого гальмування пухлинного росту. Індекс гальмування росту пухлин складав відповідно 55,0 та 50,5%. У тварин цих груп спостерігали також статистично достовірне збільшення тривалості життя порівняно з контрольною групою: на 61,4 та 50,0% відповідно. Застосування окремо *B. animalis* такого вираженого ефекту не мало. **Висновок:** на моделі аденокарциноми Ерліха продемонстрований виражений протипухлинний ефект (гальмування росту первинної пухлини, збільшення тривалості життя), як при комбінованому застосування бактерій роду *Bifidobacterium* та лектину *B. subtilis* IMB B-7724, так і при окремому введенні бактеріального лектину. Застосування окремо *B. animalis* не вплигло на динаміку росту пухлини та тривалість життя тварин.

Останнім часом увагу науковців привертає дослідження мікробіоти організму людини як ключового фактору, що визначає індивідуальні особливості обміну речовин і функцій життєво важливих систем організму: травної, імунної, гормональної, нервової. Поступово накопичується інформація щодо ролі ендогенної мікрофлори у підтримці гомеостазу та у формуванні різних патофізіологічних станів, зокрема раку. Мікробіота відіграє важливу роль у запобіганні численним захворюванням і може впливати на здоров'я людини завдяки процесам метаболізму поживних речовин і токсинів, які перешкоджають розвитку патогенних збудників або уповільнюють їх ріст, утворюючи корисні мікробні продукти та метаболізуючи поживні речовини і токсини патогенних мікробів. Не викликає сумнівів той факт, що ендогенна мікрофлора в нормі та зміни її складу при дисбактеріозі можуть впливати на численні функції організму, а за певних умов (запалення, порушення функції природних бар'єрів, імунодефіцит) — ініціювати розвиток раку. Взаємодія кишкової мікробіоти зі стромальними та епітеліальними клітинами ви-

конує значну кількість ключових регуляторних функцій: контроль надлишкового росту патогенних організмів, підтримка імунного гомеостазу слизової оболонки, регуляція метаболізму. Зміни кількісного та якісного складу кишкової мікробіоти можуть призвести до розвитку хворобливих станів, таких як діабет, ожиріння, неврологічні захворювання, рак [1].

Численні дослідження показали, що зміна складу кишкової мікробіоти може призвести до виникнення та прогресування злоякісного процесу за допомогою різних механізмів. Зокрема, продемонстровано, що у виникненні раку шлунка та стравоходу задіяна бактерія *H. Pylori* [2]; з розвитком раку стравоходу асоційовані *Bacteroidetes*, *Firmicutes* і *Proteobacteria* [3]; у колоректальному канцерогенезі беруть участь *Bacteroides fragilis*, *Clostridium septicum*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, тощо; показана роль бактерій у виникненні раку печінки [4] та ротової порожнини [5].

Актуальним є вивчення ролі ендогенної мікрофлори в канцерогенезі молочної залози. Аналіз сучасних досліджень показав, що молочна залоза

має свою унікальну мікробіоту, яка тісно пов'язана з фізіологічними властивостями цього органу. При розвитку пухлинного процесу у молочній залозі змінюється склад та властивості мікробіоти. Потрібно враховувати також, що суттєвий вплив на будь-які фізіологічні процеси, як в нормі, так і при патології, має мікробіота кишечника. За умови розвитку пухлинного процесу представники мікробіоти кишечника залучаються в ряд метаболічних перетворень, що істотно впливають на фізіологічні та патологічні процеси в молочній залозі, зокрема: метаболізм естрогенів, жовчної кислоти, коротколанцюгових жирних кислот [6]. Механізми впливу кишкової мікробіоти на виникнення та прогресування раку молочної залози включають дію на пухлинні клітини та їхнє мікрооточення бактеріальних метаболітів, зміну рівня естрогену, модуляцію активності імунної системи. Повідомлення про глибокі відмінності в мікробному складі між нормальними та злоякісно трансформованими тканинами, а також між доброякісними та злоякісними пухлинами молочної залози підтверджують значущість мікробіоти у прогресуванні пухлинного процесу [7].

Крім того, було показано, що мікробіота задіяна не лише у процесах виникнення та прогресування злоякісних пухлин, а й у відповіді організму на хіміотерапію. Нещодавні дослідження показали, що вирішальне значення для підтримання ефективності хіміотерапії раку має тонкий баланс між кишковою мікробіотою та імунною системою [8]. Ряд протипухлинних препаратів має складні механізми дії, які включають не лише прямі ефекти, а й активність кишкової мікробіоти та імунної системи.

Проте відомо, що деякі представники мікробіоти можуть відігравати захисну роль, сприяти пригніченню пухлинного процесу, підсилювати ефективність протипухлинної терапії. До таких мікроорганізмів належать, зокрема, представники родини *Bifidobacterium*, які є одними з перших колонізаторів шлунково-кишкового тракту людини та вважаються одними з найефективніших пробіотиків. Біфідобактерії відіграють важливу роль у підтримці гомеостазу кишечника за допомогою різних механізмів, таких як модуляція імунної системи, елімінація патогенів, антимікробна активність, продукція метаболітів і регуляція кишкового епітеліального бар'єру. Завдяки своїй здатності інтенсифікувати апоптоз ракових клітин і захищати від окислювального стресу присутність біфідобактерій у пробіотиках може забезпечувати протипухлинний ефект. Тобто біфідобактерії виявляють антиканцерогенний ефект шляхом індукції апоптозу ракових клітин, підтримку гомеостазу кишкової мікрофлори, зниження імунотоксичного впливу пухлини та засобів терапії, полегшення побічних ефектів, пригнічення проліферації

ракових клітин та посилення імунотерапії [9, 10]. На користь припущення щодо захисної ролі біфідобактерій в канцерогенезі свідчать результати експериментальних досліджень на різних моделях пухлинного росту у тварин. Виявлено, що зменшення кількості резидентних біфідобактерій пов'язане з більш агресивними злоякісними новоутвореннями шлунка, підшлункової залози та кишечника [11].

Антиканцерогенні властивості демонструють також інші сапрофітні мікроорганізми — бактерії родини *Bacillus*. Для цих бактерій характерна продукція низки метаболітів з цитотоксичною по відношенню до пухлинних клітин або імуномодуючою активністю [12]. Серед активних бактеріальних метаболітів виділяють лектини, глікопротеїни неіммунної природи з високоспецифічною спорідненістю до певних олігосахаридів клітинної поверхні. Продемонстровані протівірусні, антибактеріальні, імуномодуючі та протипухлинні властивості ряду лектинів [13].

Проте проведені на сьогодні дослідження щодо ролі біфідобактерій у канцерогенезі та ефективності їх використання при лікуванні хворих на рак різної локалізації, а також можливості підсилення антиканцерогенної дії шляхом одночасного застосування різних видів бактерій (або їх метаболітів) досить суперечливі. Виходячи з викладеного, метою роботи було дослідження протипухлинної ефективності комбінованого застосування бактерій родини *Bifidobacterium* та позаклітинного метаболіту *B. subtilis* IMB B-7724.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведені на мишах лінії Balb/c (самки, $n = 52$), розведення віварію Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології (ІЕПОР) ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Вік тварин складав 2,0 міс., маса — 22,0–25,0 г. Тварини перебували в стандартних умовах віварію з природним режимом освітлення на повноцінному раціоні харчування. Утримання мишей та робота з ними здійснювались відповідно до стандартних міжнародних правил з біологічної етики та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [14].

В якості моделі пухлинного росту використана аденокарцинома Ерліха (АКЕ). Пухлинні клітини одержували з Банку клітинних ліній з тканин людини та тварин ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Для перешлеплення пухлин клітини АКЕ вводили внутрішньом'язево в стегно (5×10^5 клітин/мишу).

Бактеріальний лектин. Продуцентом лектину є спороутворюючі грампозитивні сапрофітні бактерії штаму *B. subtilis* IMB B-7724 (задепонований у колекції Інституту мікробіології та вірусології

ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ). Лектин отримували із культуральної рідини мікроорганізму [15] та зберігали у вигляді аморфного порошку при -20°C . Лектин стійкий до зміни рН середовища, має високу термостабільність, добре розчиняється у воді та буферних розчинах (зокрема, у фізіологічному розчині NaCl).

Штам бактерій. У роботі використовували ліофілізовані клітини *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 (Lek Pharmaceuticals, Любляна, Словенія).

Схема експерименту. Сформовано 4 групи експериментальних тварин: “Контроль пухлинного росту (КПР)” ($n = 13$) — неліковані миші з пухлинами; “Лектин” ($n = 13$) — миші з пухлинами, яким починаючи з 2-ї доби після трансплантації пухлинних клітин вводили лектин *B. subtilis* IMB B-7724 (п/ш, в дозі 1 мг/кг маси, через день, № 10); “*B. animalis*” ($n = 13$) — миші з пухлинами, яким починаючи з 2-ї доби після трансплантації пухлинних клітин вводили біфідобактерії (*per os*, по 7×10^5 КУО/мишу, через добу, № 10); “Лектин + *B. animalis*” ($n = 13$) — комбіноване введення біфідобактерій та бактеріального лектину мишам з АКЕ за описаними вище схемами.

Оцінка протипухлинного ефекту. Перебіг пухлинного процесу характеризували за стандартними показниками [16]: латентний період (доба) та частота (%) виникнення пухлин, розміри первинного пухлинного вузла (об’єм в мм^3) на різні доби росту пухлин, середня тривалість життя тварин з пухлинами.

Об’єм пухлини (V , мм^3) розраховували за формулою:

$$V = 4/3 \pi \times a \times b \times c,$$

де π — стала, що рівна 3,14; a , b , c — півосі еліпсоїду в мм.

Протипухлинний ефект оцінювали за розрахованими індексами гальмування росту пухлини (ІГРП) та збільшення тривалості життя (ІЗТЖ) тварин експериментальних груп по відношенню до відповідних показників тварин контрольної групи.

$$\text{ІГРП} = \frac{V_{\text{контр}} - V_{\text{досл}}}{V_{\text{контр}}} \times 100\%,$$

де $V_{\text{контр}}$ — середній об’єм пухлини в контрольній групі; $V_{\text{досл}}$ — середній об’єм пухлини в дослідній групі.

$$\text{ІЗТЖ} = \frac{\text{СТЖ}_{\text{дослід}} - \text{СТЖ}_{\text{контр}}}{\text{СТЖ}_{\text{контр}}} \times 100\%,$$

де $\text{СТЖ}_{\text{дослід}}$ — середня тривалість життя в дослідній групі; $\text{СТЖ}_{\text{контр}}$ — середня тривалість життя в контрольній групі.

Статистичну обробку результатів проводили за загально прийнятими методами варіаційної статистики з використанням GraphPad Prism 8.0.1 (Graphpad Software Inc., США). Вірогідність різниці між контрольними та дослідними групами оцінювали за t -критерієм Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними показниками при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів оцінки стандартних показників пухлинного росту показав, що введення експериментальним тваринам клітин *B. animalis*, лектину *B. subtilis* IMB B-7724 або їх комбіноване застосування не мало суттєвого впливу на частоту прищеплення та тривалість латентного періоду виникнення АКЕ. Пухлини виникали у всіх тварин на 5–8 добу після перещеплення пухлинних клітин незалежно від використаного бактеріального препарату (табл.).

Проте подальша динаміка росту АКЕ у тварин різних груп була відмінною. Як видно з представлених на рис. 1 даних, введення мишам з аденокарциномою лектину *B. subtilis* IMB B-7724 (як окремо, так і в комбінації з *B. animalis*) призводило до суттєвого гальмування пухлинного росту. Зокрема, на 28-му добу середній розмір пухлинного вузла у мишей, яким вводили бактеріальний лектин окремо, був меншим ($p < 0,05$) за показники контрольної групи у 2,2 раза; у мишей, яким вводили лектин у комбінації з *B. animalis* — в 1,9 раза. У групі мишей, яким вводили лише *B. animalis* уповільнення росту пухлини було менш вираженим: середній розмір пухлини на 28-му добу був меншим ($p < 0,05$) за показник групи “КПР”

Таблиця

Показники росту АКЕ у мишей лінії Balb/c дослідних та контрольної груп

Показник	Лектин	Лектин + <i>B. animalis</i>	<i>B. animalis</i>	КПР
Частота прищеплення пухлин, %	93,3 ± 6,2 13/13	93,3 ± 6,2 13/13	93,3 ± 6,2 13/13	93,3 ± 6,2 13/13
Латентний період виходу пухлин, діб	6,7 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,2 ± 0,3	5,8 ± 0,2
Розмір (мм^3) первинного пухлинного вузла на 28-му добу	2613,3 ± 211,5 ¹	3044,6 ± 321,1 ¹	4049,1 ± 406,4 ^{1,2}	5802,1 ± 289,2
Середня тривалість життя, діб	46,0 ± 1,5 ¹	38,0 ± 2,4 ^{1,2}	36,0 ± 2,2 ^{1,2}	29,0 ± 0,8

Примітки: ¹ — $p < 0,05$ порівняно з показником групи “КПР”; ² — $p < 0,05$ порівняно з показником групи “Лектин”.

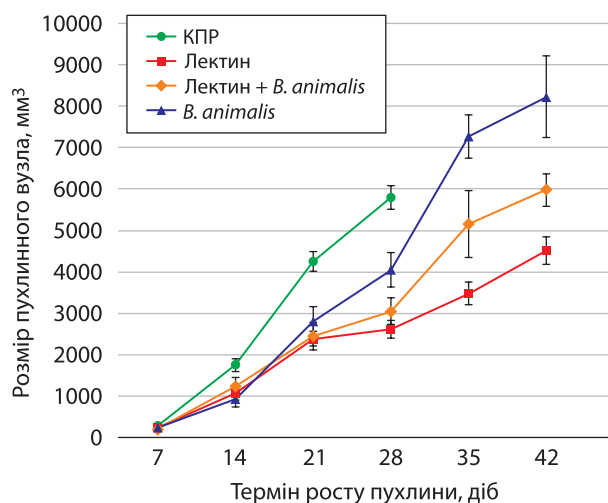


Рис. 1. Вплив *B. animalis* та позаклітинного лектину *B. subtilis* IMB B-7724 (окремо та в їх комбінації) на динаміку росту первинних пухлин у мишей з аденокарциномою Ерліха

в 1,4 раза та складав 4049,1 мм³ проти 5802,1 мм³ у контролі пухлинного росту (див. табл., рис. 1).

Іншим інформативним показником характеристики протипухлинної ефективності нових засобів терапії в доклінічних дослідженнях є тривалість життя дослідних тварин. Як видно з табл. 1, застосування всіх досліджуваних бактеріальних препаратів призводило до статистично достовірного збільшення середньої тривалості життя (СТЖ) тварин з пухлинами. Проте, найбільший ефект був отриманий у групах тварин, яким вводили лектин *B. subtilis* IMB B-7724 окремо або в комбінації з *B. animalis*. Показник СТЖ в цих групах перевищував ($p < 0,05$) такий у контрольній групі в 1,6 та 1,3 раза відповідно. Максимальний термін тривалості життя в групі “КПР” після переселення пухлинних клітин складав 30 діб, у групі “Лектин” — 50 діб, у групі “Лектин + *B. animalis*” — 45 діб, у групі “*B. animalis*” — 41 доба (рис. 2).

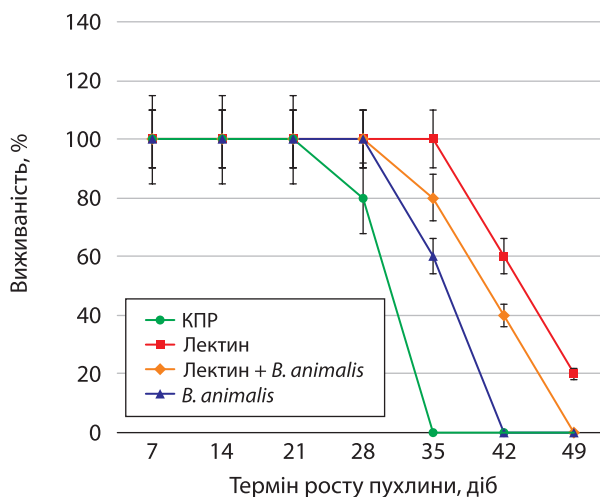


Рис. 2. Вплив *B. animalis* та позаклітинного лектину *B. subtilis* IMB B-7724 (окремо та в їх комбінації) на показники виживаності мишей з аденокарциномою Ерліха

Загальноприйнятими критеріями для оцінки ефективності речовин з протипухлинною активністю при проведенні експериментальних досліджень є розрахункові показники, що характеризують зміни швидкості росту первинної пухлини та тривалості життя тварин з пухлинами порівняно з аналогічними показниками контрольної групи. Протипухлинний ефект досліджуваної речовини вважають вірогідним при перевищенні відповідного показника нелікованих тварин понад 50,0% [16]. На рис. 3 наведені показники ІГРП та ІЗТЖ для мишей, які отримували *B. animalis* та позаклітинний метаболіт (лектин) *B. subtilis* IMB B-7724 окремо або в їх комбінації. Пригнічення росту первинної пухлини (за показником ІГРП) за умови комбінованого застосування лектину та *B. animalis* відбувалося на 50,5%, окремо лектину *B. subtilis* IMB B-7724 — на 55,0%, окремо *B. animalis* — на 33,5%. Тривалість життя тварин з пухлинами збіль-

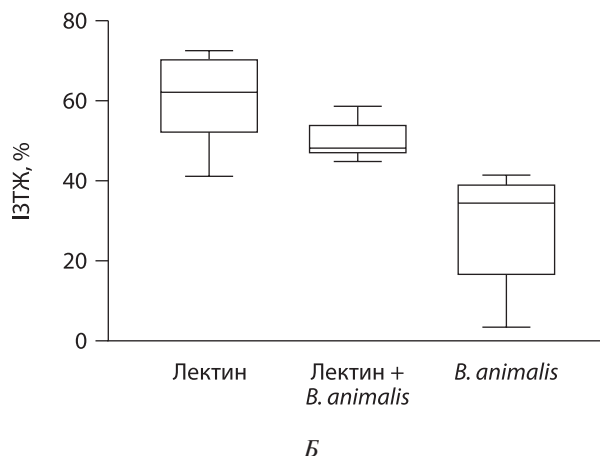
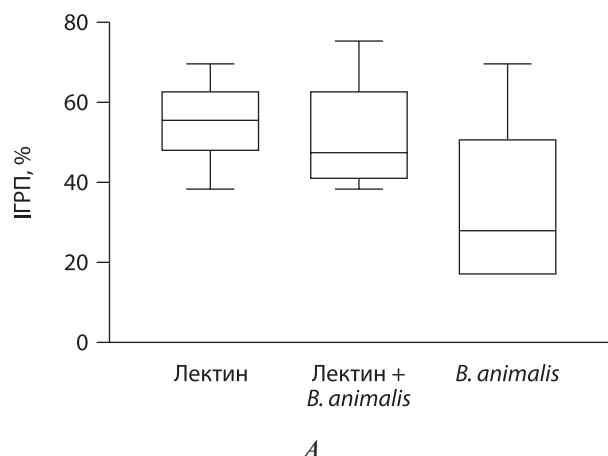


Рис. 3. Протипухлинна ефективність *B. animalis* та позаклітинного лектину *B. subtilis* IMB B-7724 (окремо та в їх комбінації) за показниками ІГРП (А) та ІЗТЖ (Б) у мишей з аденокарциномою Ерліха

шувалась відповідно на 50,0; 61,4 та 29,3%. Тобто більш виражений ефект спостерігали за умови застосування лектину *B. subtilis* IMB B-7724 в різних режимах, ефективність окремого введення *B. animalis* була значно меншою.

Таким чином, на моделі аденокарциноми Ерліха продемонстрований значний протипухлинний ефект лектину *B. subtilis* IMB B-7724 та його комбінованого застосування з *B. animalis*, що виявлялось у гальмуванні росту первинної пухлини та збільшенні тривалості життя тварин з пухлинами. За умов застосування окремо *B. animalis* такого ефекту не спостерігали.

Отримані результати підтверджуються даними наукової літератури та проведених нами раніше досліджень щодо властивостей бактерій родини *Bacillus*. Зокрема в експериментах *in vitro* була продемонстрована цитотоксична активність вторинних позаклітинних метаболітів *Bacillus coagulans* по відношенню до клітин раку молочної залози MCF7. Вторинні метаболіти, продуковані бактерією, індукували апоптоз у клітинах лінії MCF7, про що свідчило зростання експресії генів *bax*, *caspase 3* та *caspase 9* при одночасному зниженні експресії гена *bcl2*. По відношенню до нормальних клітин лінії HFF цитотоксичний ефект був незначним [17].

У попередніх наших роботах описані результати експериментальних досліджень щодо протипухлинної дії лектину іншого представника родини — *B. subtilis* IMB B-7724 [18, 19]. Як відомо, імуномодулюючі та протипухлинні властивості лектинів обумовлені їх здатністю до високоспецифічного зв'язування із відповідними рецепторами на плазматичних мембранах клітин-мішеней. Механізми протипухлинної активності лектинів різного походження пов'язують як з прямою цитотоксичною дією на пухлинні клітини, так і з опосередкованим впливом внаслідок модулювання імунних реакцій. Зокрема, у дослідженнях *in vitro* та *in vivo* нами було показано, що бактеріальний лектин *B. subtilis* IMB B-7724 проявляє імуномодулюючу (щодо клітин лімфоцитарного та макрофагального ряду) та протипухлинну (по відношенню до пухлинних клітин різного гістогенезу) дію.

Поряд з цим, відомо, що біфідобактерії мають численні терапевтичні властивості (антиоксидантні, проапоптотичні, антипроліферативні), які можуть обумовлювати їх протипухлинну дію. Проте, найбільша кількість повідомлень свідчить про ефективність використання біфідобактерій для зменшення побічних наслідків хіміо- або імунотерапії пухлин [20, 21].

На сьогодні взаємозв'язок між механізмами дії біфідобактерій та біотерапевтичних засобів, а також їх сумісний вплив на організм людини, розглядають як один із важливих факторів, що забезпечує ефективність імунотерапії раку. Тому, гли-

боке розуміння механізмів дії біфідобактерій при модуляції імунної відповіді, здатність імунотерапії пухлин змінювати склад мікробіоти, створюючи двонаправлені взаємодії [22], ідентифікація штамів бактерій, пов'язаних із імуностимулюючими та імуносупресивними властивостями, створить теоретичне підґрунтя для розробки нових підходів до лікування онкологічних хворих.

ВИСНОВКИ

1. На моделі АКЕ продемонстрований значний протипухлинний ефект лектину *B. subtilis* IMB B-7724 та його комбінації з *B. animalis*, що виявлялось у гальмуванні росту первинної пухлини та збільшенні тривалості життя тварин з пухлинами. Ефективність окремого введення *B. animalis* була значно меншою.

2. Гальмування росту первинної пухлини за умови комбінованого застосування лектину та *B. animalis* складало 50,5%, окремо лектину *B. subtilis* IMB B-7724 — 55,0%, окремо *B. animalis* — 33,5%. Тривалість життя тварин з пухлинами збільшувалась відповідно на 50,0; 61,4 та 29,3%.

Робота виконана в рамках НДР “Вивчення впливу представників лактобактерій, біфідобактерій та умовно-патогенних представників мікробіоти людини на особливості реалізації механізмів метаболічних порушень при пухлинному процесі” (№ держреєстрації 0121U113840).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Noor A, Naveed AK, Jibran SM, Ruqaiyyah S. The role of gut microbiome in cancer genesis and cancer prevention. *Health Sciences Review* 2022; **2**: 100010. <https://doi.org/10.1016/j.hsr.2021.100010>.
- Devi TB, Devadas K, George M, et al. Low *Bifidobacterium* abundance in the lower gut microbiota is associated with helicobacter pylori-related gastric ulcer and gastric cancer. *Front Microbiol* 2021; **12**: 631140. doi: 10.3389/fmicb.2021.631140.
- Chen H, Jiang X, Zhu F, et al. Characteristics of the oral and gastric microbiome in patients with early-stage intramucosal esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Microbiol* 2024; **24** (1): 88. doi: 10.1186/s12866-024-03233-4.
- Ma J, Li J, Jin C, et al. Association of gut microbiome and primary liver cancer: A two-sample Mendelian randomization and case-control study. *Liver Int* 2023; **43** (1): 221–33. doi: 10.1111/liv.15466.
- Tuominen H, Rautava J. Oral microbiota and cancer development. *Pathobiology* 2021; **88** (2): 116–26. doi: 10.1159/000510979.
- Shvets YuV, Lykhova OO, Chekhun VF. Human microbiota and breast cancer. *Exp Oncol* 2022; **44** (2): 95–106. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-2.17855.
- Bernardo G, Le Noci V, Di Modica M, et al. The emerging role of the microbiota in breast cancer progression. *Cells* 2023; **12** (15): 1945. doi: 10.3390/cells12151945.
- Shvets YuV, Lukianova NYu, Chekhun VF. Human microbiota and effectiveness of cancer chemotherapy. *Exp Oncol* 2020; **42** (2): 82–93. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-2.14611.

9. Sharma D, Gajjar D, Seshadri S. Understanding the role of gut microfloral bifidobacterium in cancer and its potential therapeutic applications. *Microbiome Research Reports* 2024; **3** (1): 3. <http://dx.doi.org/10.20517/mrr.2023.51>.
10. Pei B, Peng S, Huang C, *et al.* *Bifidobacterium* modulation of tumor immunotherapy and its mechanism. *Cancer Immunol Immunother* 2024; **73**: 94 <https://doi.org/10.1007/s00262-024-03665-x>.
11. Procaccianti G, Roggiani S, Conti G, *et al.* Bifidobacterium in anticancer immunochemotherapy: friend or foe? *Microbiome Res Rep* 2023; **2** (3): 24. doi: 10.20517/mrr.2023.23.
12. Ferdous UT, Shishir MA, Khan SN, Hoq MM. *Bacillus* spp.: Attractive sources of anti-cancer and anti-proliferative biomolecules. *Microbial Bioactives* 2018; **1** (1): 033–045. doi: 10.25163/microbbioacts.11005B0408130818.
13. Aimaier R, Li H, Cao W, *et al.* The secondary metabolites of *Bacillus subtilis* strain z15 induce apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2023. doi: 10.1007/s12602-023-10181-4.
14. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes ETS 123. Protection of Vertebrate Animals, 18.III.1986. 48. <https://norecopa.no/media/2iydns5h/ets-123-original.pdf>.
15. Podgorsky VS. The method for the obtainmen of bacterial lectin, specific to sialic acids. (Pat. № 1791 UA). Publ. 23.01.1991. (in Ukrainian).
16. Stefanov OV. Doklinichni doslidzhennya likarskykh zasobiv [Preclinical studies of drugs]. Kyiv: Avitsena; 2001 (in Ukrainian).
17. Dolati M, Tafvizi F, Salehipour M, *et al.* Inhibitory effects of probiotic *Bacillus coagulans* against MCF7 breast cancer cells. *Iran J Microbiol* 2021; **13** (6): 839–47. doi: 10.18502/ijm.v13i6.8089.
18. Chumak A, Shcherbina V, Fedosova N, Chekhun V. Polarization of macrophages of mice under the influence of lectin from *Bacillus Subtilis* IMB B-7724 EUREKA: Life Sciences 2021; (3): 3–10. doi: 10.21303/2504-5695.2021.001878.
19. Chumak AV, Fedosova NI, Cheremshenko NL, *et al.* The evaluation of anti-tumor properties of *B. subtilis* IMV B-7724 lectin in studies in vivo. *Oncology* 2022; **24** (1): 31–6. doi: 10.32471/oncology.2663-7928.t-24-1-2022-g.10306.
20. Akbaba M, Gokmen GG, Kışla D, Nalbantsoy A. *In vivo* investigation of supportive immunotherapeutic combination of *Bifidobacterium infantis* 35624 and doxorubicin in murine breast cancer. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2023; **15** (4): 880–8. doi: 10.1007/s12602-021-09899-w.
21. Matson V, Chervin CS, Gajewski TF. Cancer and the microbiome-influence of the commensal microbiota on cancer, immune responses, and immunotherapy. *Gastroenterology* 2021; **160** (2): 600–13. doi: 10.1053/j.gastro.2020.11.041.
22. Bo Pei, Shixuan Peng, Chuying Huang, Fuxiang Zhou. *Bifidobacterium* modulation of tumor immunotherapy and its mechanism. *Cancer Immunol Immunother* 2024; **73**: 94. <https://doi.org/10.1007/s00262-024-03665-x>.

ANTITUMOR EFFECTIVENESS OF THE COMBINED APPLICATION OF BACTERIA OF THE GENUS *BIFIDOBACTERIUM* AND *B. SUBTILIS* IMV B-7724 LECTIN

N.I. Fedosova, N.L. Cheremshenko, A.V. Chumak,
V.G. Tikhonov, K.D. Tarnopolska, I.M. Voyeykova
R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

Summary. *Aim:* to investigate of the antitumor effectiveness of the combined use of bacteria of the genus *Bifidobacterium* and the extracellular metabolite (lectin) of *B. subtilis* IMV B-7724. **Object and methods:** studies were performed on Balb/c mice ($n = 52$). Ehrlich adenocarcinoma was used as an experimental model. Starting from the 2nd day after the transplantation of tumor cells, the animals of the experimental groups were injected with lectin *B. subtilis* IMV B-7724 (s/c, 1 mg/kg of body weight, No. 10), *B. animalis* (per os, 7×10^5 CFU/mouse, No. 10) or used their combination. The frequency of transplantation (%), the latent period of tumor emergence, the volume of tumors (mm³), and the life expectancy of animals were evaluated. Statistical processing of the results was carried out according to generally accepted methods of variational statistics. **Results:** administration of *B. subtilis* IMB B-7724 lectin (both alone and

in combination with *B. animalis*) to mice with Ehrlich adenocarcinoma resulted in a significant inhibition of tumor growth. The tumor growth inhibition index was 55.0 and 50.5%, respectively. the animals of these groups were also characterized by a statistically significant increase in life expectancy compared to the control group: by 61.4 and 50.0%, respectively. The use of *B. animalis* alone did not have such a pronounced effect. **Conclusion:** on the Ehrlich adenocarcinoma model, a pronounced antitumor effect (inhibition of primary tumor growth, increase in life expectancy), both with the combined use of *B. animalis* and *B. subtilis* IMV B-7724 lectin, and with the separate administration of the bacterial lectin was demonstrated. The use of *B. animalis* alone did not affect the dynamics of tumor growth and the life expectancy of animals.

Keywords: Ehrlich adenocarcinoma, *Bifidobacterium animalis*, *B. subtilis* IMB B-7724 lectin, antitumor effect.

Адреса для листування:

Федосова Н.І.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: immunomod@ukr.net

Одержано: 21.06.2024