Н.І. Федосова,
https://orcid.org/0009-0007-7228-5286
Н.Л. Черемшенко,
https://orcid.org/0009-0006-6291-8572
Т.В. Симчич,
https://orcid.org/0009-0005-9927-2798
С.В. Гоголь,
https://orcid.org/0000-0002-2453-3130
С.В. Матвеев,
https://orcid.org/0009-0001-1021-6169
І.М. Воєйкова,
https://orcid.org/0000-0001-6919-3953

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

DOI: https://doi.org/10.15407/oncology.2026.03.172

ВПЛИВ МІКРОБНИХ МЕТАБОЛІТІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ МАКРОФАГІВ ПУХЛИННОЇ ТКАНИНИ

Мета: *вивчення комбінованого впливу бактеріального лектину та представників штамів Lactobacillus і Bifidobacterium на поляризаційний стан макрофагів (Мф) пухлинної тканини в дослідженні in vivo.* ***Об'єкт і методи:*** *експериментальне дослідження проведене на мишах лінії Balb/c з перещепленою солідною аденокарциномою Ерліха. В якості бактеріальних препаратів використані ліофілізовані клітини B. animalis subsp. lactis BB-12 та L. rhamnosus GG а також лектин B. subtilis IMB B-7724. В динаміці росту пухлини визначали показники, які характеризують поляризаційний стан Мф: специфічна цитотоксична активність; рівні продукції NO та активність аргінази (Arg), вміст активних форм кисню (АФК), продукція цитокінів TNF-α, IL-10. Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням GraphPad Prism 8.0.1.* ***Результати:*** *під впливом бактеріального лектину спостерігали максимально виражену тривалу активацію Мф пухлинної тканини протягом всього терміну спостереження. Про що свідчить суттєве зростання на 28-му добу продукції NO на тлі зниження активності аргінази (збільшення індексу NO/Arg в 2,1 раза, $p < 0,05$), специфічної цитотоксичної активності (в 6,4 раза) та продукції TNF-α з одночасним пригніченням продукції IL-10 (рівні співвідношення TNF-α/IL-10 перевищували контрольний показник в 2,2 раза). Аналогічні зміни, хоча і виражені меншою мірою, спостерігали після введення L. rhamnosus. Найменший вплив на досліджувані показники мав B. animalis. Серед комбінованих схем введення бактеріальних препаратів найбільш виражений протипухлинний та прозапальний ефект характерний для комбінації L. rhamnosus та лектину B. subtilis IMB B-7724. Комбіноване введення B. animalis та лектину призводило до короткочасної активації прозапальних властивостей Мф на 14-ту добу з подальшим їх пригніченням на віддалених стадіях пухлинного процесу.* ***Висновок:*** *максимальний протипухлинний ефект, який супроводжувався превалюванням в пухлинній тканині Мф з функціональним фенотипом M1, був отриманий за умови застосування лектину B. subtilis IMB B-7724 як в монорежимі, так і в комбінації з L. rhamnosus GG.*

Ключові слова: *аденокарцинома Ерліха, протипухлинний імунітет, макрофаги, поляризація, B. animalis subsp. lactis BB-12, L. rhamnosus GG, лектин B. subtilis IMB B-7724.*

Пухлинне мікрооточення — складна структура, яка спрямована на підтримку росту і прогресування новоутворення. Особливе місце в мікрооточенні пухлини займають клітини імунної системи, зокрема пухлиноасоційовані макрофаги (ПАМ). Загалом макрофаги (Мф) є гетерогенною популяцією мононуклеарних клітин, основними функціями яких вважають забезпечення захисту від патогенів, репарацію пошкоджених тканин, підтримку гомеостазу організму. Завдяки плас-

Цитування: Федосова Н.І., Черемшенко Н.Л., Симчич Т.В., Гоголь С.В., С.В. Матвєєв, Воєйкова І.М. Вплив мікробних метаболітів на функціональну активність макрофагів пухлинної тканини. Онкологія. 2026. 28, № 3. С. 172–179. https://doi.org/10.15407/oncology.2026.03.172

© РН "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

тичності цих клітин, в залежності від отриманих сигналів мікрооточення, відбувається поляризація неактивованих Мф до М1 (прозапальні, протипухлинні властивості) або М2 типу (протизапальні, репаративні властивості). За фенотиповими характеристиками та функціональними властивостями ПАМ відносять до М2. Висока щільність та накопичення ПАМ в тканині пухлин різного гістогенезу (зокрема меланома, рак молочної залози, холангіокарцинома) достовірно корелюють із поганим клінічним прогнозом [1–3] Це обумовлено здатністю ПАМ ремоделювати позаклітинний матрикс, стимулювати пухлинний ангіогенез, сприяти інвазії пухлинних клітин, пригнічувати функції цитотоксичних Т-лімфоцитів, дозволяючи пухлині уникати імунного нагляду. В процесі росту пухлини в її мікрооточенні відбуваються складні перехресні взаємодії між ПАМ та іншими клітинами імунної системи ($CD8^+$ і $CD4^+$ лімфоцити, природні кілерні клітини (ПКК), Т-регуляторні лімфоцити) наслідком яких є зміни кількісного та якісного складу субпопуляцій імунних клітин та, відповідно, порушення балансу між протипухлинної імунною відповіддю та прогресуванням раку. Таким чином, ПАМ можна розглядати як важливу мішень для розробки нових підходів в імунотерапії раку [4–6].

Враховуючи те, що макрофаги є одними з основних ефекторів неспецифічної імунної відповіді та відіграють ключову роль в розпізнаванні та елімінації бактерій, доцільним є дослідження можливості зміни їх поляризаційного стану за допомогою представників ендогенної мікробіоти (зокрема *Bifidobacterium* spp. і *Lactobacillus* spp.). На сьогодні вже показано, що представники деяких штамів біфідо- та лактобактерій здатні підвищувати ефективність сучасних методів імунотерапії: використання інгібіторів імунних контрольних точок, CpG-олігодезоксинуклеотидної терапії, адоптивного Т-клітинного переносу [7]. Зокрема, імуномодулюючими властивостями володіють окремі види та штами *Bifidobacterium*: *B. pseudolongum* стимулює Th1-залежну відповідь і збільшує ефективність інгібіторів імунних контрольних точок; під впливом метаболітів *B. breve* посилюється інфільтрація пухлинної тканини дендритними клітинами і лімфоцитами; штами *B. bifidum* та *B. fragilis* стимулюють продукцію прозапальних цитокінів IL-12 та IFN-γ макрофагами та ПКК, сприяють дозріванню дендритних клітин, залученню $CD8^+$-лімфоцитів, опосередковано індукують В-клітинну відповідь [8, 9].

Імуномодулюючі властивості мають також і представники різних штамів *Lactobacillus*: вплив метаболітів *L. plantarum* призводить до збільшення експресії рецепторів NCR на ПКК та їх активації; *L. rhamnosus* сприяє дозріванню та проліферації Т-лімфоцитів, знижує рівень продукції протизапальних цитокінів (IL-2, -4, -10); *L. reuteri* метаболізує триптофан у пухлинному мікрооточенні з утворенням індол-3-альдегідів, які покращують активність цитотоксичних $CD8^+$-лімфоцитів; *L. acidophilus* у комбінації з *B. bifidum* стимулює проліферацію й активацію Т-клітин, а виділений лактобактеріями D-лактат сприяє реполяризації М2 макрофагів в М1 [10, 11].

Поряд з бактеріальними клітинами, протипухлинною активністю володіють і продуковані ними речовини, зокрема лектини. На сьогодні досліджено властивості лектинів, що продукуються представниками роду *Bacillus*: *B. polymyxa* 102, *B. subtilis* 316M, *B. subtilis* 7025, *B. subtilis* IMB B-7724 та ін. Показано, що більшість позаклітинних лектинів різних штамів *Bacillus* spp. володіють рідкісною вуглеводною специфічністю до сіалових кислот або їхніх похідних. З огляду на те, що злоякісні клітини можуть експресувати значну кількість сіалових кислот на своїй поверхні, сіалоспецифічні лектини можна розглядати як потенційні протипухлинні агенти [12–14]. В експериментальних дослідженнях продемонстровано, що протипухлинна дія лектину *B. subtilis* IMB B-7724 значною мірою обумовлена його імуномодулюючою активністю: здатністю спрямовувати імунну відповідь в напрямку Th1, тривалий час підтримувати активність ПКК та поляризацію макрофагів М1 типу, тобто пригнічувати обумовлену ростом пухлини імуносупресію [15, 16].

Недостатньо дослідженими на сьогодні залишаються питання ефективності комбінованого застосування бактеріальних метаболітів та представників пробіотичних штамів з метою забезпечення ефективної протипухлинної відповіді шляхом запобігання системній імуносупресії, а також підвищення чутливості пухлини до імунотерапії.

Мета дослідження: вивчення комбінованого впливу бактеріального лектину та представників штамів *Lactobacillus* і *Bifidobacterium* на поляризаційний стан макрофагів пухлинної тканини в дослідженні *in vivo*.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальне дослідження проведено на мишах лінії Balb/c (самки, віком 2,0–2,5 міс., масою 19,0–22,0 г), одержані з розплідника віварію Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології (ІЕПОР) ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Тварини перебували у стандартних умовах віварію з природним режимом освітлення на повноцінному раціоні харчування. Перед залученням у дослідження тварини проходили попередній 10-добовий карантин. 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 ін-

ших наукових цілях (Parliament, European Council, European. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. 2010. EU Official Journal. L276.). Дозвіл на проведення досліджень затверджено Комісією з біоетики ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України (протокол № 5 від 06.05.2025 р.).

В якості *моделі пухлинного росту* використана солідна аденокарцинома Ерліха (АКЕ), яка є загальноприйнятою експериментальною моделлю раку молочної залози людини [17]. Для перещеплення пухлин суспензію клітин АКЕ вводили внутрішньом'язево в стегно правої задньої лапи по 5×10^5 клітин/мишу.

Штами бактерій. В якості бактеріальних препаратів з пробіотичною дією використані ліофілізовані клітини *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 (Lek Pharmaceuticals, Любляна, Словенія) та *L. rhamnosus* GG (Probiotical S.p.A., Швейцарія). Препарати вводили *per os*, по 7×10^5 КУО/мишу на введення, щоденно, протягом 28 діб.

Бактеріальний лектин отримували із культуральної рідини *B. subtilis* IMB B-7724 як описано [14]. Лектин вводили підшкірно в дозі 1 мг/кг маси на введення, 10 введень.

Введення всіх препаратів починали на другий день після перещеплення клітин АКЕ.

Схема дослідження. Експериментальні тварини (n = 60) були розподілені на 6 груп: "Контроль пухлинного росту, КПР" — миші з АКЕ, яким вводили 0,9% розчин NaCl (n = 10); "Лектин" — миші з АКЕ, яким вводили бактеріальний лектин (n = 10); "*B. animalis*" — миші з АКЕ, яким вводили *B. animalis* (n = 10); "*B. animalis* + лектин" — комбіноване введення бактеріального лектину та *B. animalis* мишам з АКЕ (n = 10); "*L. rhamnosus*" — миші з АКЕ, яким вводили *L. rhamnosus* (n = 10); "*L. rhamnosus* + лектин" — комбіноване введення бактеріального лектину та *L. rhamnosus* мишам з АКЕ (n = 10).

На 14- та 28-му доби росту пухлини визначали показники функціональної активності Мф: специфічна цитотоксична активність (ЦТА); рівні продукції NO та активність аргінази (Arg), вміст активних форм кисню (АФК), фагоцитарна активність, продукція цитокінів TNF-α, IL-10. Перебіг пухлинного процесу оцінювали за стандартними параметрами: латентний період (діб), частота виникнення пухлин (%), розміри пухлинного вузла (об'єм у мм^3). Використані в дослідженні методики (отримання Мф з пухлинної тканини та визначення їх фунціональних властивостей) докладно описані в нашій попередній публікації [18]. Рівень цитокінів вимірювали в супернатантах мононуклеарів пухлинної тканини. Фракцію мононуклеарів отримували в градієнті щільності фікол-урографіну (ρ =1,077 г/см^3) ("Biowest", США), підраховували кількість життєздатних клітин та доводили їх концентрацію до 1×10^7 клітин/мл. Суспензію переносили в центрифужні пробірки, інкубували протягом 18 год при 37°C, 5% CO_2, 100% вологості. По завершенню терміну інкубації пробірки центрифугували (1,5 тис. об/хв протягом 10 хв), надосад відбирали, заморожували та зберігали при −200°C. Рівні продукції цитокінів оцінювали за допомогою комерційних тест-систем BD OptEIA Set Mouse TFN-α та BD OptEIA Set Mouse IL-10 (BD Biosciences, США) згідно інструкції.

Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими 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

Як показало наше дослідження, застосування бактеріальних препаратів не впливало на частоту прищеплення та латентний період виходу пухлин. Пухлини виникали у всіх тварин контрольної і дослідних груп на 8–10 доби після перещеплення. Проте динаміка пухлинного росту у тварин різних груп суттєво відрізнялась (*рис. 1*). У мишей, яким вводили окремо *B. animalis* та *L. rhamnosus*, протягом всього періоду спостереження середній розмір пухлин практично не відрізнявся від такого у тварин групи "КПР". Статистично достовірне гальмування росту АКЕ відмічали у мишей групи "Лектин": на 28-му добу розмір первинного пухлинного вузла був в 2,7 раза меншим, ніж в контрольній групі (відповідно 1577,7 ± 295,6 мм^3 та 4211,0 ± 363,3 мм^3, $p < 0,05$), індекс гальмування росту пухлин 62,5%. Комбіноване введення *B. animalis* та *L. rhamnosus* з лектином призводило до менш вираженого гальмування росту АКЕ: на 28-му добу середній розмір пухлин становив відповідно 2212,3 ± 468,1 та 1893,5 ± 125,9 мм^3 ($p < 0,05$ порівняно з показником групи "КПР"); індекси гальмування росту пухлин для складали 47,5 та 55,3% відповідно. Тобто, протипухлинний

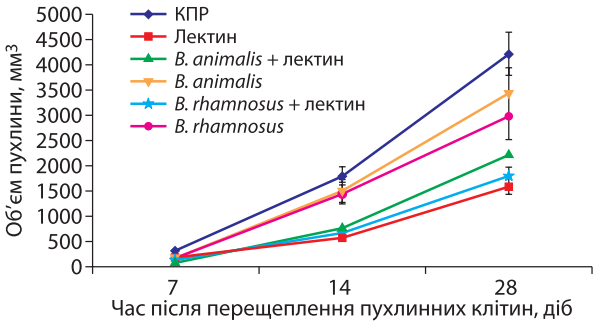


Рис. 1. Вплив *B. animalis*, *L. rhamnosus* та бактеріального лектину на динаміку росту первинної пухлини

ефект препаратів відмічали лише в групах тварин, яким вводили лектин *B. subtilis* IMB B-7724 як окремо, так і в комбінації з *B. animalis* та *L. rhamnosus*.

Враховуючи продемонстровану в наших попередніх дослідженнях здатність лектину *B. subtilis* IMB B-7724 до реполяризації макрофагів [15, 16], в динаміці було проведене визначення ряду імунологічних показників, що характеризують функціональні властивості ПАМ.

В групі тварин з АКЕ, яким не вводили бактеріальні препарати, відмічали прогресуюче зниження активності макрофагів за всіма досліджуваними показниками (*табл. 1*). Про поглиблення імуносупресивного стану на 28-му добу росту пухлини свідчить, зокрема, суттєве ($p < 0,05$) зниження рівнів продукції NO (в 1,1 раза), специфічної цитотоксичної активності (в 4,5 раза), вмісту TNF-α (в 1,2 раза), зміщення балансу NO/Arg у бік аргіназного шляху метаболізму L-аргініну (див. *табл. 1*). Такі зміни вказують на превалювання в популяції Мф пухлинної тканини клітин з фенотипом М2, що володіють пропухлинними властивостями.

Таблиця 1

Функціональна активність макрофагів пухлинної тканини у тварин контрольної групи на різних етапах росту АКЕ

Показник	Доба пухлинного росту	
	14	28
Рівні продукції NO, $NO^{2-}/10^6$ клітин	58,0 ± 0,8	52,4 ± 1,5*
Активність Arg, од./10^6 клітин	2,16 ± 0,21	2,82 ± 0,09
Співвідношення NO/Arg, ум.од	26,9 ± 0,4	22,1 ± 1,7*
Цитотоксична активність, %	26,9 ± 2,3	6,0 ± 0,7*
Рівні АФК, ум.од.	9693,3 ± 1013,6	8944,3 ± 956,7
TNF-α, пг/мл	925,9 ± 15,6	800,2 ± 81,3
IL-10, пг/мл	835,1 ± 30,4	991,7 ± 70,0
TNF-α / IL-10, ум. од.	1,11 ± 0,09	0,81 ± 0,11

Примітка: * $p < 0,05$ порівняно з показником попереднього терміну дослідження.

Застосування в монорежимі *B. animalis*, *L. rhamnosus* та лектину *B. subtilis* IMB B-7724 супроводжувалось змінами показників функціональної активності ПАМ. Максимально виражену тривалу активацію Мф протягом всього терміну спостереження відмічали під впливом бактеріального лектину (*рис. 2*). Так, порівняно з показниками нелікованих тварин на 14-ту добу росту пухлини зростала здатність до продукції NO (в 2 рази, $p < 0,05$) на тлі значного зниження аргіназної активності (в 1,8 раза, $p < 0,05$) та специфічна цитотоксична активність ПАМ. На 28-му добу росту пухлини під впливом лектину *B. subtilis* IMB B-7724 відбувалося суттєве зростання продукції оксиду азоту на тлі подальшого зниження активності аргінази (збільшення індексу NO/Arg в 2,1 раза, $p < 0,05$), що свідчить про домінування NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну над аргіназним та є характерною ознакою поляризації Мф до цитоксичного/прозапального М1-фенотипу. Такий напрямок поляризації ПАМ підтверджують дані щодо статистично достовірного ($p < 0,05$) збільшення порівняно з показниками групи "КПР" специфічної цитотоксичної активності (в 6,4 раза) та продукції TNF-α з одночасним пригніченням продукції IL-10 (рівні співвідношення TNF-α/IL-10 перевищували контрольний показник в 2,2 раза). Тобто, продемонстрований протипухлинний ефект (див. *рис. 1*), певною мірою, може бути обумовлений тривалим збереженням прозапального фенотипу ПАМ на тлі росту первинного пухлинного вузла.

Аналогічні зміни, хоча і виражені меншою мірою, спостерігали в групі тварин, які отримували

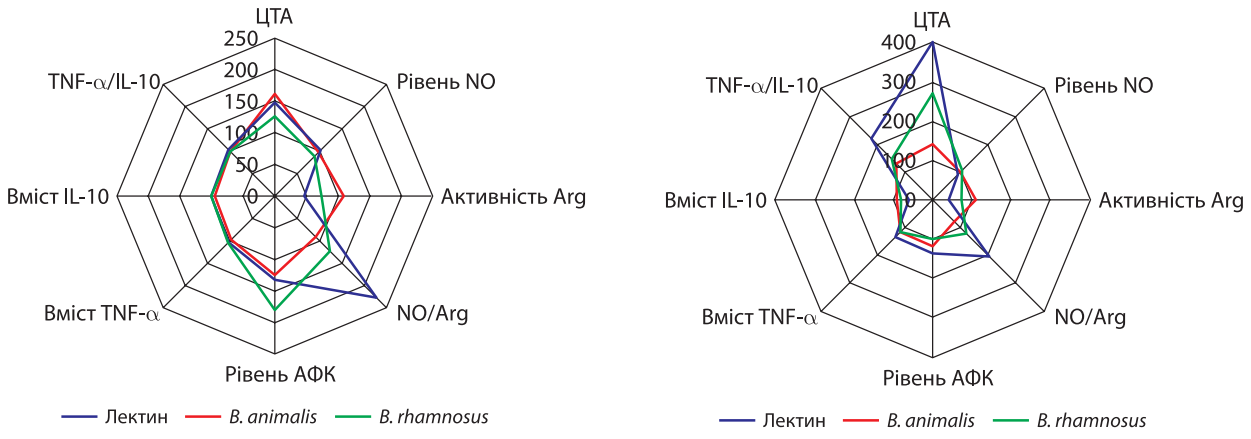


Рис. 2. Вплив *B. animalis*, *L. rhamnosus* та лектину *B. subtilis* IMB B-7724 на показники функціональної активності ПАМ на 14-ту та 28-му доби росту аденокарциноми Ерліха. Параметри наведено у відсотках відносно показників групи "АКЕ", рівні яких прийнято за 100%

L. rhamnosus. Застосування *B. animalis* мало найменший вплив на досліджувані показники функціонального стану Мф (див. *рис. 2*).

Серед комбінованих схем введення бактеріальних препаратів найбільш виражений протипухлинний та прозапальний ефект характерний для комбінації *L. rhamnosus* та лектину *B. subtilis* ІМВ В-7724. У тварин цієї групи на 28-му добу росту пухлини порівняно з показниками нелікованих тварин відмічали збільшення в 2 рази рівня співвідношення NO/Arg (більшою мірою за рахунок значного пригнічення активності аргінази — в 2,6 раза, $p < 0,05$), активацію специфічної цитотоксичної активності (в 5,9 раза, $p < 0,05$) та зсув продукції цитокінів в напрямку прозапального спектру (рівень співвідношення TNF-α/IL-10 перевищував показник групи "КПР" в 1,8 раза, $p < 0,05$). Тобто, поляризація ПАМ у тварин цієї групи також відбувалась в напрямку Мф М1 з протипухлинними властивостями, що сприяло гальмуванню росту первинного пухлинного вузла (див. *рис. 1*).

В той же час, застосування комбінації *B. animalis* та лектин *B. subtilis* ІМВ В-7724 призводило до короткочасної активації прозапальних властивостей ПАМ (на 14-ту добу) з подальшим їх пригніченням на віддалених стадіях пухлинного процесу. На 28-му добу росту пухлини ПАМ набували функціональних ознак пропухлинного М2 фенотипу, як і в групах "КПР" та "*B. animalis*" (див. *рис. 3*). Привертає увагу суттєве збільшення продукції АФК при застосуванні *B. animalis* в комбінації з лектином. На 14-ту добу росту АКЕ відмічали значне транзиторне зростання вмісту АФК: порівняно з показниками групи "КПР" в 2,1 раза, групи "Лектин" — в 1,6 раза, групи "*L. rhamnosus* + лектин" в 1,7 раза, $p < 0,05$), що свідчить про підсилення активації киснезалежних механізмів цитотоксичної активності Мф у відповідь на дію мікробних агентів. На 28-му добу вміст АФК суттєво зменшується, що вказує на зниження інтенсивності гострої запальної реакції та перехід у фазу адаптації та стабілізації. Останнє є необхідним для підтримання клітинного гомеостазу, враховуючи, що надлишок АФК на віддалених стадіях запального процесу може свідчити про розвиток окисного стресу або виснаження клітинних систем [19, 20]. Проте, описана динаміка продукції АФК свідчить також про зміну поляризації ПАМ від прозапального М1 (на 14-ту добу) до протизапального М2 фенотипу (на 28-му добу), що корелює з менш вираженим протипухлинним впливом даної комбінації мікробних препаратів.

Тобто, корегування протипухлинної імунної відповіді за допомогою бактеріальних препаратів та мікробних метаболітів є достатньо перспективним напрямком імунотерапії в онкології, але ефективність їх застосування значною мірою залежить від функціональної сумісності препаратів, використаних для комбінованої терапії. Отримані дані продемонстрували, що максимальний протипухлинний ефект, який супроводжувався превалюванням в популяції ПАМ клітин з функціональним фенотипом М1, був отриманий за умови застосування лектину *B. subtilis* ІМВ В-7724 як в монорежимі, так і в комбінації з іншими бактеріальними препаратами. Введення лектину в монорежимі або сумісно з *L. rhamnosus* призводило до стійкої тривалої активації Мф, забезпечувало підтримку специфічної цитотоксичної активності та продукції цитокінів прозапального спектру. В той же час, сумісне введення бактеріального лектину та *B. animalis* мало більш слабку протипухлинну ефективність на тлі поступової реполяризації ПАМ від М1 до пропухлинного М2 типу.

Враховуючи представлені нами раніше дані щодо фізико-хімічних властивостей лектину *B. subtilis* ІМВ В-7724 [14], можна припустити, що однією з причин отриманого в цьому дослідженні ефекту може бути його виражена сіалоспецифічність. Відомо, що гіперсіалування поверхні

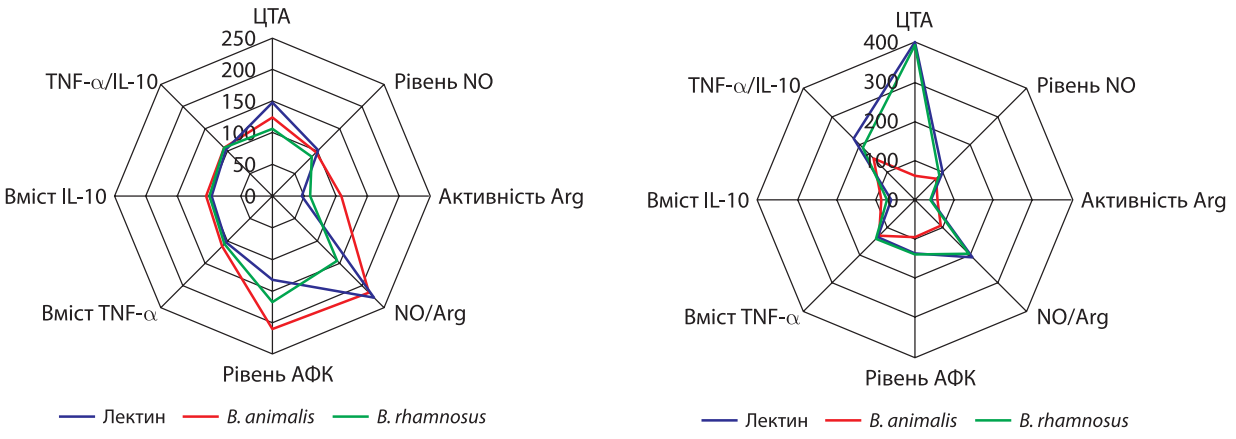


Рис. 3. Вплив комбінованого введення *B. animalis*, *L. rhamnosus* та лектину *B. subtilis* ІМВ В-7724 на показники функціональної активності ПАМ на 14-ту та 28-му доби росту аденокарциноми Ерліха. Параметри наведено у відсотках відносно показників групи "АКЕ", рівні яких прийнято за 100%

пухлинних клітин є однією з стратегій уникання імунної відповіді, обумовленою як безпосереднім блокуванням процесів взаємодії рецепторів і лігандів на поверхні пухлинних та імунних клітин, так і пригніченням активації імунної системи через зв`язок з гальмівними рецепторами Siglec (зокрема Siglec-3, -7, -9, -10) на поверхні дендритних клітин та ПАМ. В останньому випадку запускається внутрішньоклітинний інгібіторний каскад, що пригнічує сигналінг від Toll-like рецепторів, блокує фагоцитарну активність, сприяє дифенціюванню Мф в пропухлинні М2 клітини [21–24]. Застосування сіалоспецифічного бактеріального лектину призводить до порушення обумовленого Siglec рецепторами гальмування протипухлинної макрофагальної відповіді, забезпечуючи тривалу поляризацію ПАМ до прозапального цитотоксичного М1 фенотипу навіть на тлі пухлинного росту. З цієї точки зору, різний ступінь вираженості протипухлинного ефекту комбінованих схем препаратів може бути обумовлений відмінностями у структурі клітинної стінки, вуглеводному профілі та молекулярних паттернах лакто- та біфідобактерій. Комбінація *L. rhamnosus* з лектином за протипухлинною ефективністю практично не відрізняється від такої при використанні його в монорежимі. Враховуючи відомості, що більшість пробіотичних лактобактерій не містить сіалових кислот (в склад їх клітинної стінки входять пептидоглікан, тейхоєві кислоти, нейтральні полісахариди) між *L. rhamnosus* та сіалоспецифічним лектином не виникає конкурентного зв`язування чи нейтралізації [25]. В цьому випадку можна говорити про синергічну дію мікробних компонентів: лектин впливає на Мф через вісь “сіалова кислота — Siglec рецептори”, перечислені структурні компоненти клітинної стінки лактобактерій ініціюють каскад імунних реакцій, зокрема посилюючи процес запалення (активація продукції IL-1, -6, TNF-α) або активуючи регуляторні шляхи завдяки індукції синтезу IL-10, активації Treg лімфоцитів [26, 27]. Зазначена подвійна дія призводить до стійкої активації Мф М1, забезпечує їх резистентність до супресорного впливу пухлини протягом усього терміну спостереження без передчасного виснаження.

На противагу цьому, комбіноване застосування бактеріального лектину та *B. animalis*, які містять власні специфічні екзополісахаридні та сіальовані структурні компоненти клітинної стінки і здатні адсорбувати сіалові кислоти [28], не супроводжується тривалою активацією макрофагальної відповіді та не запобігає поляризації Мф М2. Можливими причинами такої дії є швидка нейтралізація або виснаження вільної фракції сіалоспецифічного лектину, а також формування стійкої імуносупресії через рецептори Siglec з одночасною індукцією регуляторних ланок імунітету (активація супресорних Treg-лімфоцитів, посилення синтезу IL-4, -10) [29].

Таким чином, спрямована на реполяризацію клітин макрофагальної ланки корекція імунного мікрооточення пухлини за допомогою сіалоспецифічного лектину та бактеріальних препаратів може виявитись перспективним напрямком імунотерапії. Проте, ефективність комбінованого застосування даних препаратів залежить від відсутності конкурентного зв`язування компонентів та здатності підтримувати збалансований прозапальний баланс без виснаження імунної відповіді протягом тривалого часу.

ВИСНОВКИ

1. Максимальний протипухлинний ефект відмічали при застосуванні лектину в монорежимі: індекс гальмування росту пухлин становив 62,5%. Комбіноване введення *B. animalis* та *L. rhamnosus* з лектином призводило до менш вираженого пригнічення росту АКЕ: індекси гальмування росту пухлин для складали 47,5 та 55,3% відповідно.
2. Застосування лектину в монорежимі та його комбінації з L. rhamnosus супроводжувалось М1 поляризацією ПАМ протягом всього періоду дослідження.
3. Застосування *B. animalis* та його комбінація з лектином не виявляло активуючого впливу на ПАМ: за функціональними властивостями Мф належали до М2 типу.

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

1. **Fujimura T, Aiba S.** Significance of immunosuppressive cells as a target for immunotherapies in melanoma and non-melanoma skin cancers. Biomolecules 2020; **10** (8): 1087. https://doi.org/10.3390/biom10081087.
2. **Chen F, Sheng J, Li X, *et al.*** Tumor-associated macrophages: orchestrators of cholangiocarcinoma progression. Front Immunol 2024; **15**: 1451474. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1451474.
3. **Stavrou M, Constantinidou A.** Tumor associated macrophages in breast cancer progression: implications and clinical relevance. Front Immunol 2024; **15**: 1441820. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1441820.
4. **Chen S, Saeed AF, Liu Q, *et al.*** Macrophages in immunoregulation and therapeutics. Sig Transduct Target Ther 2023; **8**: 207. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01452-1.
5. **Guo S, Chen X, Guo C, Wang W.** Tumour-associated macrophages heterogeneity drives resistance to clinical therapy. Expert Rev Mol Med 2022; **24**: e17. https://doi.org/10.1017/erm.2022.8.
6. **Chu X, Tian Y, Lv C.** Decoding the spatiotemporal heterogeneity of tumor-associated macrophages. Mol Cancer 2024; **23** (1): 150. https://doi.org/10.1186/s12943-024-02064-1.

7. **Si W, Liang H, Bugno J, *et al.*** *Lactobacillus rhamnosus* GG induces cGAS/STING-dependent type I interferon and improves response to immune checkpoint blockade. Gut 2022; **71** (3): 521–33. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323426.
8. **Pei B, Peng S, Huang C, Zhou F.** Bifidobacterium modulation of tumor immunotherapy and its mechanism. Cancer immunol immunother 2024; **73** (5): 94. https://doi.org/10.1007/s00262-024-03665-x.
9. **Lei W, Zhou K, Lei Y, *et al.*** Gut microbiota shapes cancer immunotherapy responses. NPJ Biofilms Microbiomes 2025; **11** (1): 143. https://doi.org/10.1038/s41522-025-00786-8.
10. **Lu Y, Yuan X, Wang M, *et al.*** (2022). Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies. J Hematol Oncol 2022; **15** (1): 47. https://doi.org/10.1186/s13045-022-01273-9
11. **Abou Baker DH.** Lactobacillus in cancer therapy: A critical mechanistic review. J Agriculture Food Res 2025; **23**: 102256. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.102256.
12. **Podgorsky VS, Kovalenko EA, Karpova IS, *et al.*** Extracellular lectins of saprophytic strains of bacteria of the genus *Bacillus* (review). Applied Biochem Microbiol 2014; **50** (3): 256–63.
13. **Potebnya GP, Tanasienko OA, Lisovenko GS, Savtsova ZD.** Use of cytotoxic lectins of bacterial origin in immunotherapy of experimental tumors. In: Structure and Biological Activity of Bacterial Biopolymers. VK Pozur, editor. K: Vydpolygr Center "Kyiv University"; 2003. p. 235–304. Ukrainian.
14. **Fedosova NI, Cheremshenko NL, Hetman KI, *et al.*** Physicochemical and cytotoxicity properties of *Bacillus subtilis* IMB B-7724 extracellular lectin. Mikrobiol Z 2021; **83** (1): 39–48. https://doi.org/10.15407/microbiolj83.01.039.
15. **Chumak A, Fedosova N, Shcherbina V, *et al.*** Influence of bacterial lectin on key regulatory links of functional activity of macrophages of mice with Ehrlich carcinoma. Exp Oncol 2021; **43** (3): 197–203. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-43-no-3.16537.
16. **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. https://doi.org/10.21303/2504-5695.2021.001878.
17. **Radulski DR, Stipp MC, Galindo CM, Acco A.** Features and applications of Ehrlich tumor model in cancer studies: a literature review. Transl Breast Cancer Res 2023; **4**: 22. https://doi.org/10.21037/tbcr-23-32.
18. **Symchych TV, Fedosova NI, Chumak AV, *et al.*** Functions of tumor-associated macrophages and macrophages residing in remote anatomical niches in Ehrlich carcinoma bearing mice. Exp Oncol 2020; **42** (3): 3. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-3.14928.
19. **Tan HY, Wang N, Li S, *et al.*** The Reactive oxygen species in macrophage polarization: Reflecting its dual role in progression and treatment of human diseases. Oxid Med Cell Longev 2016; **2016**: 2795090. https://doi.org/10.1155/2016/2795090.
20. **Nathan C, Cunningham-Bussel A.** Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. Nat Rev Immunol 2013; **13** (5): 349-61. https://doi.org/10.1038/nri3423.
21. **Zhou X, Chi K, Zhang C, *et al.*** Sialylation: A cloak for tumors to trick the immune system in the microenvironment. Biology 2023; **12** (6): 832. https://doi.org/10.3390/biology12060832.
22. van Vliet SJ, van Kooyk Y. Sialic acids in cancer biology and immunity-recent advancements. J Biol Chem 2025; **301** (10): 110641. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2025.110641.
23. **Lustig M, Hahn C, Leangen Herigstad M, *et al.*** Sialylation inhibition improves macrophage mediated tumor cell phagocytosis of breast cancer cells triggered by therapeutic antibodies of different isotypes. Front Oncol 2024; **14**: 1488668. https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1488668.
24. **Khalaji A, Yancheshmeh FB, Farham F, *et al.*** Don't eat me/eat me signals as a novel strategy in cancer immunotherapy. Heliyon 2023; **9** (10): e20507. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20507.
25. **Chapot-Chartier MP, Kulakauskas S.** Cell wall structure and function in lactic acid bacteria. Microb Cell Fact 2014; **13** (Suppl 1): S9. https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S9.
26. **Ji HF, Li M, Han X, *et al.*** Lactobacilli-mediated regulation of the microbial-immune axis: A review of key mechanisms, influencing factors, and application prospects. Foods 2025; **14** (10): 1763. https://doi.org/10.3390/foods14101763.
27. **Furnari S, Ciantia R, Garozzo A, *et al.*** Lactobacilli-derived microbe-associated molecular patterns (MAMPs) in host immune modulation. Biomolecules 2025; **15** (11): 1609. https://doi.org/10.3390/biom15111609.
28. **Sadeghi M, Haghshenas B, Nami Y.** Bifidobacterium exopolysaccharides: new insights into engineering strategies, physicochemical functions, and immunomodulatory effects on host health. Front Microbiol 2024; **15**: 1396308. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1396308.
29. **Gavzy SJ, Kensiski A, Lee ZL, *et al.*** Bifidobacterium mechanisms of immune modulation and tolerance. Gut Microbes 2023; **15** (2): 2291164. https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2291164.

EFFECT OF MICROBIAL METABOLITES ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF TUMOR TISSUE MACROPHAGES

N.I. Fedosova, N.L. Cheremshenko, T.V. Symchych, S.V. Gogol, S.V. Matveyev, I.M. Voyeykova

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. ***Aim:*** *to study the combined effect of a bacterial lectin and representatives of Lactobacillus and Bifidobacterium strains on the polarization state of tumor associated macrophages (TAMs) in vivo.* ***Object and Methods:*** *an experimental study was performed on Balb/c mice with transplanted solid Ehrlich adenocarcinoma. Lyophilized cells of B. animalis subsp. lactis BB-12 and L. rhamnosus GG, and the B. subtilis IMB B-7724 lectin were used as bacterial preparations. The parameters characterizing the TAMs polarization state were determined during tumor growth dynamics: specific cytotoxic activity; NO production levels and arginase (Arg) activity; content of reactive oxygen species (ROS); and the production of TNFα and IL-10. Statistical processing of*

the results was carried out using conventional methods of variation statistics with GraphPad Prism 8.0.1 software. ***Results:*** *under the influence of the bacterial lectin, the most pronounced and prolonged activation of TAMs was observed throughout the entire observation period. This was evidenced by a significant increase in NO production on day 28 against the background of a decrease in arginase activity (with the NO/Arg ratio levels increasing by 2.1 times, $p < 0.05$), enhanced specific cytotoxic activity, and increased TNF-α production with simultaneous suppression of IL-10 production (the TNF-α/IL-10 ratio exceeded the control value by 2.2 times). Similar changes, albeit to a lesser extent, were observed after the administration of L. rhamnosus; B. animalis had the least effect on the parameters studied. Among the combined administration regimens of the bacterial preparations, the most pronounced antitumor and pro-inflammatory effect was characteristic of the combination of L. rhamnosus and the B. subtilis IMB B-7724 lectin. The combined administration of B. animalis and the lectin led to a short-term activation of the pro-inflammatory properties of TAMs on day 14, followed by their suppression at lated stages of the tumor process.* ***Conclusion:*** *the maximum antitumor effect, accompanied by the prevalence of TAMs with an M1 functional phenotype in the tumor tissue, was obtained when using the B. subtilis IMB B-7724 lectin both as a monotherapy and in combination with the L. rhamnosus GG.*

Keywords: Ehrlich adenocarcinoma, antitumor immunity, macrophages, polarization, *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12, *L. rhamnosus* GG, *B. subtilis* IMB B-7724 lectin.

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: dn2003@ukr.net

Одержано: 31.07.2026
Рекомендовано до друку: 04.09.26
Підписано до друку: 02.11.2026