

УДК 619:616.579.62

DOI: 10.53083/1996-4277-2025-251-9-51-61

А.Ф. Повещенко, Л.В. Медведева, В.Н. Черкас,
А.В. Кабаков, О.В. Казаков, А.А. Шипова,
Е.Ю. Кондратюк, Н.Р. Бодрова, Г.В. Васильев
A.F. Poveshchenko, L.V. Medvedeva, V.N. Cherkas,
A.V. Kabakov, O.V. Kazakov, A.A. Shipova,
E.Yu. Kondratyuk, N.R. Bodrova, G.V. Vasilev

СОСТАВ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА САМОК КРЫС ЛИНИИ WISTAR ПРИ ХИМИЧЕСКИ ИНДУЦИРОВАННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПРОВЕДЕНИИ РАЗНЫХ МЕТОДОВ ТЕРАПИИ

COMPOSITION OF THE INTESTINAL MICROBIOTA OF FEMALE WISTAR RATS WITH CHEMICALLY INDUCED BREAST CANCER AND UNDER VARIOUS THERAPIES

Ключевые слова: химически индуцированный рак молочной железы у крыс, *N*-метил-*N*-нитрозоуреа, секвенирование, ампликон, линия Wistar, микробиота, соотношение *Firmicutes*/(*Firmicutes*+*Bacteroidetes*), оперативное лечение, химиотерапия.

Рак молочной железы (РМЖ) является серьезной проблемой, требующей проведения ранней диагностики и своевременной успешной терапии. Увеличивается количество исследований, выявляющих связь между нарушениями микробиоты и возникновением/прогрессированием опухолей молочной железы. Микробиота кишечника признана своеобразным эндокринным органом и может рассматриваться как потенциальный диагностический онкомаркер. Целью работы стало проведение исследования и анализа изменений микробиоты кишечника методом секвенирования гена 16S рРНК у самок крыс линии Wistar с химически индуцированным РМЖ и последующим проведением химиотерапии, оперативного лечения и комбинации данных методов лечения. Исследования выполнены на половозрелых самках крыс линии Wistar. На начало эксперимента возраст составлял 3 мес., масса животных была 250-300 г. Для исследования было сформировано 5 групп животных. Образцы фекалий исследуемых групп крыс собирали для последующего проведения метагеномного анализа методом секвенирования гена 16S рРНК (прижизненно). Метод секвенирования 16S рРНК проводили с использованием MiSeq System (Illumina, USA) набором MiSeq Reagent Kit v2 (500-cycles) парноконцевыми чтениями 2x250 п.н. Исследование показало, что большинство выделенных бактерий в экспериментальных группах принадлежали к типам *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. В группе с РМЖ в составе кишечной микрофлоры отмечался дисбиоз за счет повышения уровня *Bacteroidetes* и численности бактерий типа *Actinobacteria*. После ХТ в группе РМЖ выявлено снижение уровня *Firmicutes* при повышении уровня *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*. После оператив-

ного лечения РМЖ выявлено увеличение *Verrucomicrobia*, обусловленное влиянием *Verrucomicrobia* на репарацию операционной раны. При химически индуцированном РМЖ, а также при разных методах лечения в кишечнике крыс выявлено снижение соотношения *Firmicutes*/(*Firmicutes*+*Bacteroidetes*) по сравнению с контрольной группой. Требуется дальнейшее проведение исследований для того, чтобы определить возможность использования изучаемого соотношения в качестве вспомогательного диагностического биомаркера РМЖ.

Keywords: chemically induced mammary cancer in rats, *N*-methyl-*N*-nitrosourea, sequencing, amplicon, Wistar line, microbiota, *Firmicutes* / (*Firmicutes*+*Bacteroidetes*) ratio, surgical treatment, chemotherapy.

Breast cancer (BC) is a serious problem that requires early diagnosis and timely successful therapy. An increasing number of studies reveal the relationship between microbiota disorders and the occurrence/progression of breast tumors. Intestinal microbiota is recognized as a kind of endocrine organ and may be considered as a potential diagnostic tumor marker. The research goal was to study and analyze changes in the intestinal microbiota by sequencing the 16S rRNA gene in female Wistar rats with chemically induced BC and subsequent chemotherapy, surgery, and a combination of these treatment methods. The studies were performed on mature female Wistar rats. At the beginning of the experiment, the Wistar female rats were 3 months old and weighed 250-300 g. Five groups of animals were formed for the study. Fecal samples from the studied groups of rats were collected for subsequent metagenomic analysis by sequencing the 16S rRNA gene (in vivo). The 16S rRNA sequencing method was performed using the MiSeq System (Illumina, USA) with the MiSeq Reagent Kit v2 (500-cycles) with paired-end reads of 2 × 250 bp. The study showed that most of the isolated bacteria in the experimental groups belonged to the Fir-

micutes and Bacteroidetes types. In the group with breast cancer, dysbiosis was found in the intestinal microflora due to increased level of Bacteroidetes and the number of Actinobacteria bacteria. After chemotherapy, decreased level of Firmicutes with increased levels of Bacteroidetes and Proteobacteria were found in the breast cancer group. After surgical treatment of breast cancer, increase of Verrucomicrobia was found due to

the effect of Verrucomicrobia on the reparation of the surgical wound. In chemically induced BC as well as under different treatment methods, decreased Firmicutes/(Firmicutes + Bacteroidetes) ratio was found in the intestines of rats compared to the control group. Further studies are required to determine the possibility of using the studied ratio as an auxiliary diagnostic biomarker for BC.

Повещенко Александр Федорович, д.м.н., профессор, НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал, ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru.

Медведева Лариса Вячеславовна, д.в.н., доцент, декан факультета ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: ivmagau@mail.ru.

Черкас Валерия Николаевна, к.в.н., доцент, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: valeriya_korol@mail.ru.

Кабаков Алексей Васильевич, к.м.н., науч. сотр., НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал, ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: Doctor03-85@ngs.ru.

Казаков Олег Васильевич, к.б.н., вед. науч. сотр., НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал, ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru.

Шипова Александра Андреевна, мл. науч. сотр., Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: aleksa120396@yandex.ru.

Кондратюк Екатерина Юрьевна, к.б.н., науч. сотр., НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал, ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: KondratyukEY@bionet.nsc.ru.

Бодрова Наталья Романовна, мл. науч. сотр., НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал, ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: bodrova-frolova@yandex.ru.

Васильев Геннадий Владимирович, к.б.н., вед. науч. сотр., ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, e-mail: genn@bionet.nsc.ru.

Poveshchenko Aleksandr Fedorovich, Dr. Med. Sci., Prof., Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - Branch, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru.

Medvedeva Larisa Vyacheslavovna, Dr. Vet. Sci., Assoc. Prof., Dean, Department of Veterinary Medicine, Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: ivmagau@mail.ru.

Cherkas Valeriya Nikolaevna, Cand. Vet. Sci., Assoc. Prof., Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: valeriya_korol@mail.ru.

Kabakov Aleksey Vasilevich, Cand. Med. Sci., Researcher, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - Branch, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: Doctor03-85@ngs.ru.

Kazakov Oleg Vasilevich, Cand. Bio. Sci., Leading Researcher, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - Branch, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru.

Shipova Aleksandra Andreevna, Junior Researcher, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: aleksa120396@yandex.ru.

Kondratyuk Ekaterina Yurevna, Cand. Bio. Sci., Researcher, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - Branch, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: KondratyukEY@bionet.nsc.ru.

Bodrova Natalya Romanovna, Junior Researcher, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - Branch, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: bodrova-frolova@yandex.ru.

Vasilev Gennadiy Vladimirovich, Cand. Bio. Sci., Leading Researcher, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: genn@bionet.nsc.ru.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) по-прежнему занимает ведущее место в мире по количеству случаев [1]. Ученые стремятся к новым стратегиям диагностики и лечения рака, выходящим за рамки традиционных методов.

Увеличивается количество исследований, которые выявляют связь между нарушениями микробиоты человека и возникновением/прогрессированием опухолей молочной железы, легких, меланомы, яичников, костей головного мозга и поджелудочной железы [2]. Исследования на животных также показали корреляцию между дисбактериозом и РМЖ, раком мочевого пузыря, лимфомы и меланомы [3-6].

Микробиота кишечника признана своеобразным эндокринным органом и может рассматриваться как потенциальный диагностический онкомаркер. В современном понимании механизмы, при помощи которых микробиота способствуют канцерогенезу, подразделяются на три категории: изменение баланса пролиферации и гибели клеток хозяина, управление функцией иммунной системы, влияние на метаболизм хозяина [7].

Основными бактериями, обнаруженными в кишечнике млекопитающих, являются *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, составляющие 90% кишечной микрофлоры, оставшаяся часть в основном приходится на *Proteobacteria* и *Actinobacteria* [8].

При этом следует отметить отсутствие исследований, в которых бы проводилось сравнение кишечной микробиоты при РМЖ с использованием традиционных видов лечения, что возможно в основном в экспериментальных исследованиях. Неизвестно, например, как изменяется кишечная микробиота в условиях химической индукции РМЖ и после проведения терапии разными методами. В работе проведен анализ изменений микробиоты кишечника методом секвенирования гена 16S рПНК у самок крыс линии Wistar с химически индуцированным РМЖ и последующим проведением химиотерапии, оперативного лечения и комбинации этих манипуляций.

Целью работы стало проведение исследования и анализа изменений микробиоты кишечника методом секвенирования гена 16S рПНК у самок крыс линии Wistar с химически индуцированным РМЖ и последующим проведением химиотерапии, оперативного лечения и комбинации данных методов лечения.

Объекты и методы

Исследования выполнены на половозрелых самках крыс линии Wistar (n=90) с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях, Хельсинской декларации ВМА (2013) и в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755). Исследование одобрено локальным этическим комитетом (Протокол № 180 от 28.04.2023 г.). На начало эксперимента возраст самок крыс Wistar составлял 3 мес., масса животных – 250-300 г.

Для исследования сформированы 5 групп животных:

1-я (контроль, n=6): интактные крысы;

2-я (РМЖ, n=7): крысы с раком молочной железы без лечения;

3-я (РМЖ+ХТ, n=8): животные, которым проводили химиотерапию в монорежиме;

4-я (РМЖ+О, n=10): крысы, которым проводилось только хирургическое удаление опухоли;

5-я (РМЖ+О+ХТ, n=9): крысы с РМЖ после проведения оперативного вмешательства по удалению опухоли и химиотерапии.

Индукцию РМЖ выполняли 5-кратным подкожным введением N-метил-N-нитрозомочевина (Sigma) с интервалом в 7 дней в область 2-й молочной железы справа.

Через 6 мес. от момента индукции в сформированных группах крыс проводили перечисленные выше схемы лечения. Оперативное лечение крыс проводилось под наркозом (40 мг/кг внутривенно нембутала; Sigma). Химиотерапевтическое лечение РМЖ проводили внут-

рибрюшинной инъекцией Доксорубицина суммарной дозой 30 мг/м².

Выделение ДНК осуществляли с помощью набора Meta Fec для выделения метагеномной ДНК из образцов фекалий (Raissol Bio, РФ) в соответствии с рекомендованным производителем протоколом с модификацией. Перед лизисом 50 мг образца фекалий инкубировали 5 мин. в 50 мкл буфера с лизоцимом (15 мг/мл лизоцим, 10 mM буфер TE pH=8,0). Далее к образцу добавляли 400 мкл лизирующего буфера и 20 мкл Протеиназы К. Сорбция на магнитных частицах и промывка от загрязнений осуществлялись в соответствии с протоколом производителя. Элюцию проводили 50 мкл элюирующего буфера. ПЦР на район V4 проводили с использованием 1 мкл раствора ДНК, 200 мкМ праймеров V4-515F 5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3' и V4-806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' при следующих условиях ПЦР: 98°C 30 с, 25 циклов 98°C 10 с, 52°C 30 с, 72°C 60 с, 5 мин. 72°C. Полученные ампликоны выделяли сорбцией на магнитных частицах AmPure XP, 60 нг ампликона использовались для получения NGS-библиотек набором Кара Hyper Prep Kit с использованием двойных индексов KAPA UD1 Adapter Kit (Roche, USA), согласно инструкции производителя в варианте без селекции по длине. Качество и молярность полученных библиотек определяли на биоанализаторе BA2100 набором High Sensitivity DNA Kit (Agilent, USA). Секвенирование проведено на MiSeq System (Illumina, USA) набором MiSeq Reagent Kit v2 (500-cycles) парноконцевыми чтениями 2x250 п.н.

Из библиотек ампликонов удалены праймеры с использованием cutadapt (3.5), были оставлены прочтения со средним значением качества выше 18 и длиной более 200; шумоподавление выполнено при помощи QIIME 2 (2023.9).

При помощи классификатора, предобученного на базе данных GreenGenes с 99% OTU, выполнено соотнесение каждого ASV (amplicon sequencing variants) с таксономической единицей с использованием QIIME2, были посчитаны

различные метрики альфа-разнообразия (Shannon entropy, Pielou evenness, Simpson index, Chao 1 index). Критерий Wilcoxon использован для расчета попарных сравнений между группами с поправкой Benjamini-Hochberg на множественное тестирование. Данные были отфильтрованы по порогу значимости $eBH < 0,05$.

Метрики бета-разнообразия посчитаны при помощи библиотеки vegan (2.6-4) для R, на основе которых построены диаграммы методом анализа главных координат (PCoA). При помощи библиотеки ALDex2 (1.34.0) для R был проведен дифференциальный анализ численности микроорганизмов на максимально доступном таксономическом уровне для попарного сравнения разных видов лечения. Данные были отфильтрованы по порогу значимости $eBH < 0,05$. Для построения барплота данные по процентному содержанию каждого ASV в образцах сгруппированы до уровня класса.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.), меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой (Me), нижним (Q1) и верхним (Q3) квартилем, достоверность различий рассчитывали по *U* критерию Манна-Уитни при значениях $p < 0,05$. Статистическая значимость различий в соотношении *Firmicutes* / (*Firmicutes*+*Bacteroidetes*) рассчитана с помощью критерия Wilcoxon, поправка на множественные сравнения – методом Бонферрони.

Результаты исследований и их обсуждение

В результате секвенирования для каждого образца получены парные риды (медиана составила 169460 парных ридов на образец) длиной 250 пн. В результате их обработки было получено 2687 ASV со средней длиной 253 нуклеотида.

Преимущественно все ASV были таксономически охарактеризованы до максимально доступного уровня. Из ASV всего было сформировано 378 таксономически классифицированных кластера.

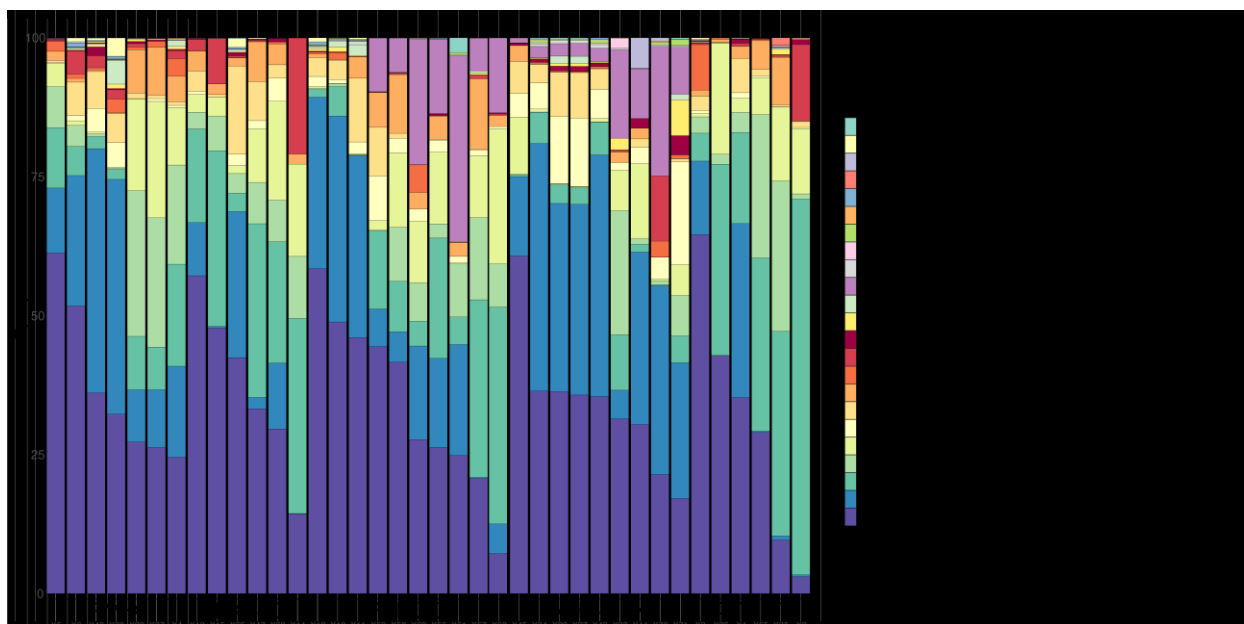


Рис. 1. Барплот численности разных классов микроорганизмов в образцах (по оси X – образец, по оси Y – проценты численности таксонов.

ASV, чья численность суммарно по всем образцам была менее 1%, сгруппированы в «Other <1%»)

Как видно из рисунка 1, внутригрупповые различия таксономического состава микробиомов образцов довольно сильные. Однако можно проследить кластеризацию отдельных групп по бета-разнообразию. Это видно из графика PCoA, построенного по индексу Jaccard, который отражает наличие/отсутствие ASV в образцах, и из графика PCoA, построенного по индексу Sørensen, который отражает количественные различия между образцами (рис. 2, 3).

Хорошо кластеризуется 5-я группа (РМЖ+О+ХТ). На уровне класса внутри данной группы среди микроорганизмов в образцах в основном преобладают (везде далее рассмотрены таксоны, к которым отнесено более 20% ASV на образец) *Clostridia* (тип *Firmicutes*) и *Bacteroidia* (тип *Bacteroidetes*). Многочисленным также является класс *Verrucomicrobiae* (тип *Verrucomicrobia*) и *Erysipelotrichi* (тип *Firmicutes*).

Неплохо кластеризуются образцы 4-й группы (РМЖ+О). Один из таксонов, преобладающих во всех образцах, является *Clostridia* (тип *Firmicutes*) и вторым преобладающим классом бактерий является *Bacteroidia* (тип *Bacteroidetes*). Также преобладает *Verrucomicrobiae* (тип *Verrucomicrobia*) и *Actinobacteria* (тип *Actinobacteria*).

В образцах 2-й группы (РМЖ) выделяли класс *Clostridia* (тип *Firmicutes*), *Bacteroidia* (тип *Bacteroidetes*), *Erysipelotrichi* (тип *Firmicutes*) и *Actinobacteria* (тип *Actinobacteria*).

В 3-й группе (РМЖ+ХТ) присутствовали *Clostridia* (тип *Firmicutes*), *Bacteroidia* (тип *Bacteroidetes*), *Bacilli* (тип *Firmicutes*), *Gammaproteobacteria* (тип *Proteobacteria*).

В группе 1 (контроль) преобладали 3 класса из типа *Firmicutes*: *Bacilli*, *Clostridia* и *Erysipelotrichi*. и класс *Bacteroidia* (тип *Bacteroidetes*).

Таким образом, на графике барплот показано, что у группы контроля, при индукции опухоли и выполнении различных методов терапии РМЖ у крыс кишечная микробиота в основном принадлежала к типам *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, которые являются основными доминантами, идентифицированными во всех группах, на долю которых приходится более 80%. Медиана основных выделенных классов бактерий представлена в таблице 1.

Как показано на рисунке 2, при исследовании сравнения экспериментальных групп были выявлены различия по 27 ASV между группами РМЖ и РМЖ+О+ХТ. При этом выявлены различия по 22 ASV между группами РМЖ+ХТ и РМЖ+О+ХТ. Между контрольной группой и груп-

пой РМЖ+О+ХТ были выявлены различия по 21 ASV. Различия по 9 ASV были выявлены между группами РМЖ+О+ХТ и РМЖ+О. По 4 ASV различия встречались между группами РМЖ+О и РМЖ. Также по 4 ASV наблюдались отличия между группами РМЖ+ХТ и РМЖ+О. 2 достоверно различающихся ASV между группой контроля и группой РМЖ+О.

На рисунке 5 можно видеть значения разных индексов альфа-разнообразия сообществ. Есть некоторая тенденция к уменьшению разнообразия внутри образцов (альфа-разнообразии) при различных воздействиях (терапиях), относительно 2-й группы (РМЖ). При этом в образцах группы контроля альфа-разнообразие самое

скудное. Однако попарные сравнения значений метрик альфа-разнообразия групп с использованием критерия Wilcoxon не обнаружили достоверных различий между группами по индексам Pielou и Simpson. По индексу Chao_1 достоверные различия ($eBH < 0.05$) были между группами РМЖ+О+ХТ и РМЖ ($eBH = 0.002$), а также между группами РМЖ+О+ХТ и РМЖ+ХТ ($eBH = 0.014$). По индексу Shannon достоверные различия были между группами РМЖ+О+ХТ и РМЖ ($eBH = 0.003$). В связи с гетерогенностью образцов группы интактных животных достоверных отличий от других экспериментальных групп не обнаружено по метрикам альфа-разнообразия.

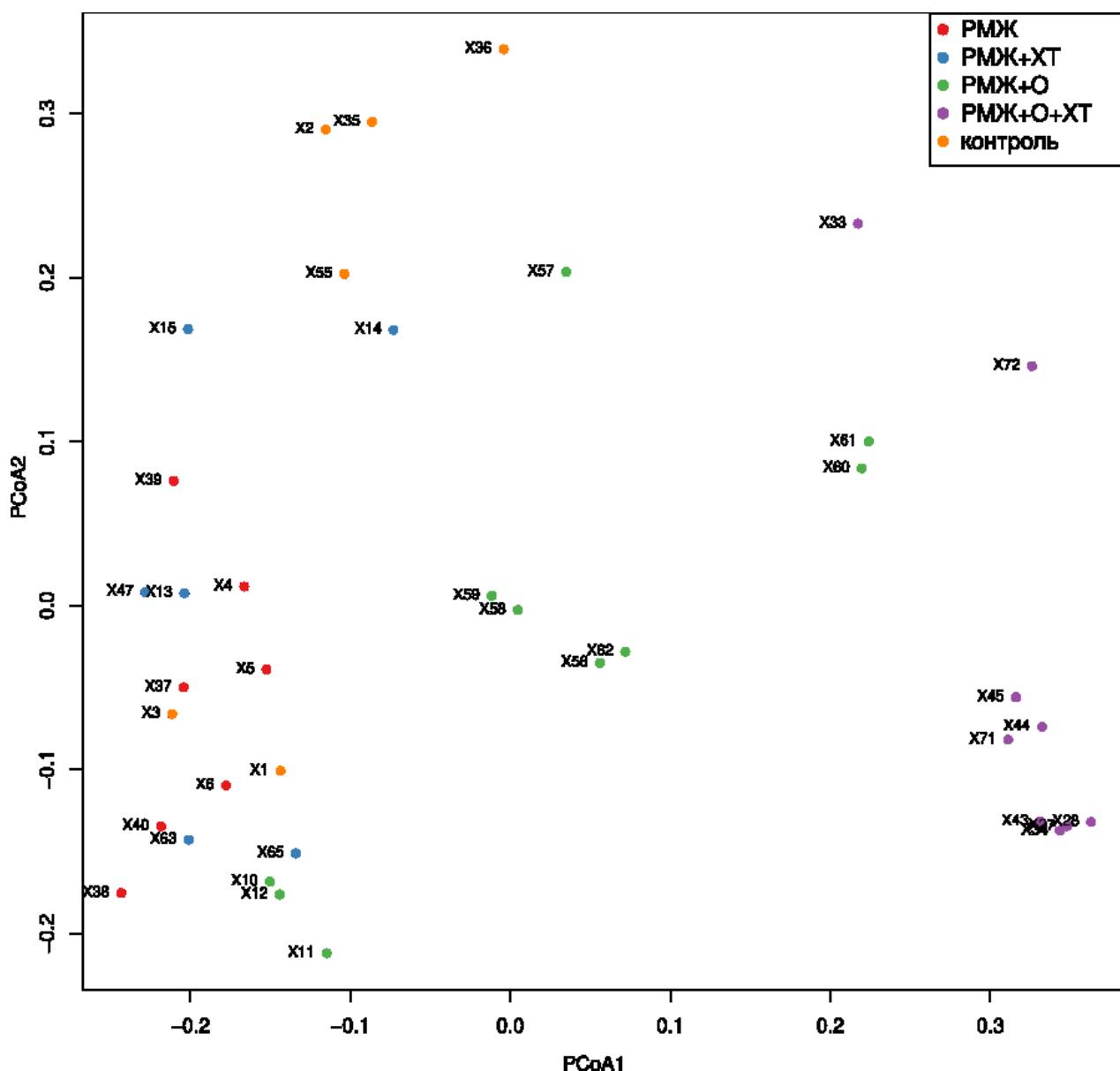


Рис. 2. PCoA, построенный по индексу Jaccard. Цветами обозначены образцы из разных групп лечения

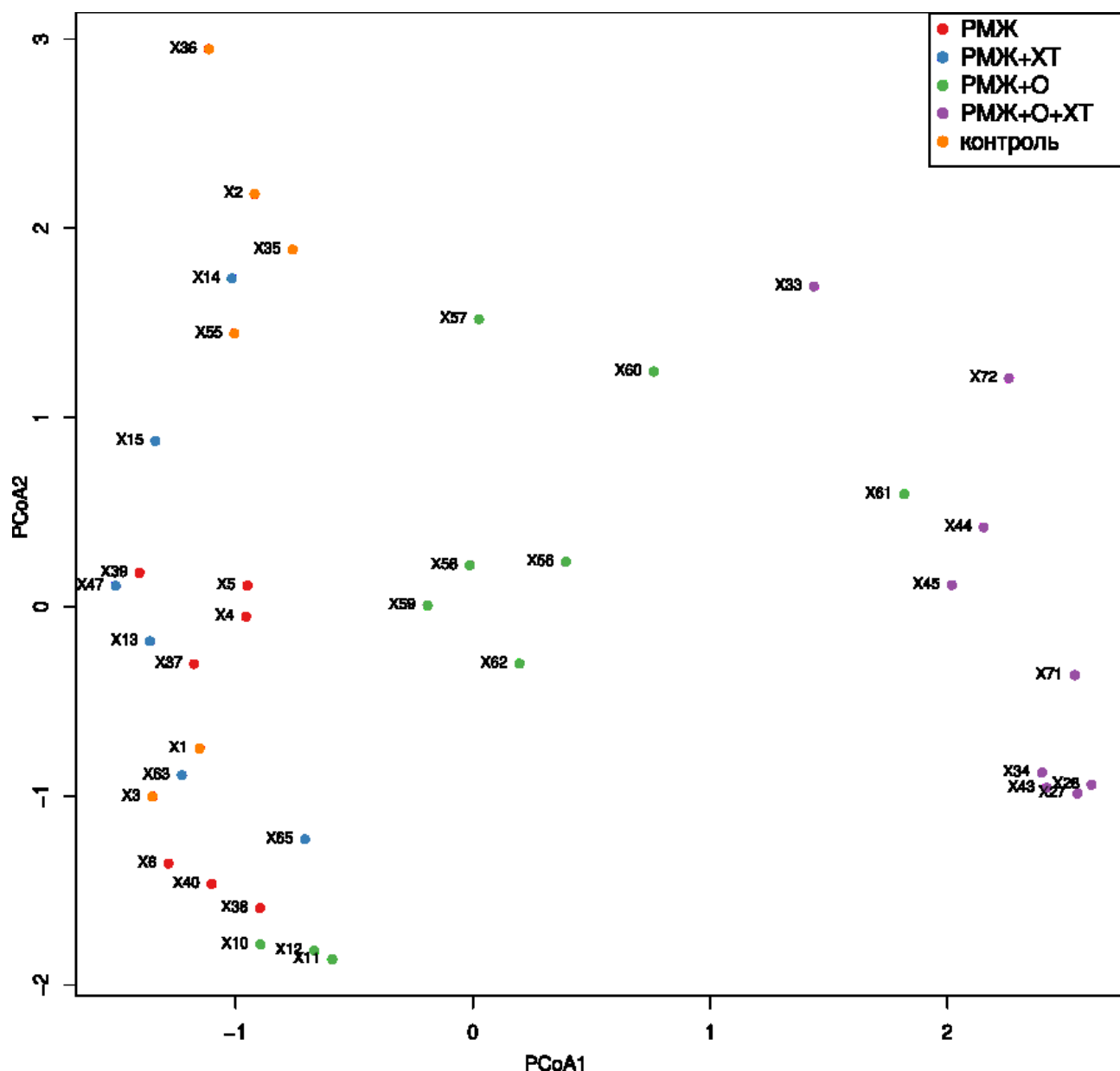


Рис. 3. PCoA, построенный по индексу Сао. Цветами обозначены образцы из разных групп лечения

Соотношение *Firmicutes/Bacteroidetes* может использоваться как фактор риска развития рака молочной железы [9].

Как следует из данных таблицы 2, в группе с **PMЖ** соотношение *Firmicutes* к *Firmicutes+Bacteroidetes* снизилось на 21% по отношению к группе контроля. В группе **PMЖ+ХТ** соотношение *Firmicutes* к *Firmicutes+Bacteroidetes* с группой контроля не имеет достоверных отличий, а с группой **PMЖ** увеличилось на 18%. В группе **PMЖ+О** соотношение *Firmicutes* к *Firmicutes+Bacteroidetes* снизилось на 18%, относительно контрольной группы. У крыс группы **PMЖ+О+ХТ**

исследуемое значение снизилось на 47%, по сравнению с группой контроля.

Заключение

Впервые в рамках одного исследования была проведена оценка состава кишечной микробиоты крыс при проведении разных методов терапии рака молочной железы. Установлено, что большинство выделенных бактерий принадлежали к типам *Firmicutes* и *Bacteroidetes*.

Выявленные микробиологические различия между кишечной микробиотой у крыс даже внутри одной группы свидетельствуют в пользу выбора более персонализированного подхода к

микробиологическому анализу микробиоты при лечении РМЖ.

При исследовании микробиоты кишечника крыс Wistar обнаружено снижение соотношения *Firmicutes* / (*Firmicutes*+*Bacteroidetes*) у крыс с раком молочной железы и при разных методах лечения РМЖ по сравнению с крысами контрольной группы.

В группе с РМЖ без лечения в составе кишечной микрофлоры развивался дисбиоз за счет повышения уровня *Bacteroidetes* и численности бактерий типа *Actinobacteria*. После ХТ в группе РМЖ выявлено снижение уровня *Firmicutes* при повышении уровней *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*. Повышение уровня *Proteobacteria* на фоне снижения *Firmicutes* и повышения *Bacteroidetes* свидетельствует о продолжающемся дисбиозе и общей причине – воспалении. После оперативного лечения РМЖ в образ-

цах фекалий крыс выявлено увеличение *Verrucomicrobia*, обусловленное влиянием *Verrucomicrobia* на репарацию операционной раны.

Проведенное нами исследование демонстрирует, что химически индуцированное развитие рака молочной железы может влиять на баланс микробиоты кишечника у крыс, что, в свою очередь, приводит к дисбиозу кишечной микробиоты, который может усугублять рост опухоли.

Изменение состава микробиоты кишечника сейчас рассматривается как важный фактор патогенеза онкологических заболеваний. Требуется проведение дополнительных исследований микробиоты кишечника и соотношения *Firmicutes*/(*Firmicutes*+*Bacteroidetes*) у людей и животных, больных РМЖ, для определения возможности дальнейшего использования указанного соотношения в качестве одного из ранних диагностических биомаркеров РМЖ.

Таблица 1

Основные выделенные таксоны кишечной микробиоты в исследуемых группах крыс
(Ме (Q1-Q3); усл. ед.)

Название группы	Выделенные таксоны (более 20% ASV на образец)	Медиана выделенных классов бактерий
1-я группа (контроль, n=6)	класс <i>Clostridia</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	32 (14.45, 40.93)
	класс <i>Bacteroidia</i> (тип <i>Bacteroidetes</i>)	0.5 (0.25, 10.1)
	класс <i>Bacilli</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	32.8 (20.09, 36.2)
	класс <i>Erysipelotrichi</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	3.2 (2.08, 20.22)
2-я группа (РМЖ, n=7)	класс <i>Clostridia</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	32.2 (26.77, 43.91)
	класс <i>Bacteroidia</i> (тип <i>Bacteroidetes</i>)	16.36 (11.05, 32.85)
	класс <i>Erysipelotrichi</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	7.4 (2.12, 20.55)
	класс <i>Actinobacteria</i> (тип <i>Actinobacteria</i>)	4.2 (0.58, 13.43)
3-я группа (РМЖ+ХТ, n=8)	класс <i>Clostridia</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	37.8 (30.51, 40.93)
	класс <i>Bacteroidia</i> (тип <i>Bacteroidetes</i>)	5.8 (0.73, 11.28)
	класс <i>Bacilli</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	26.5 (18.09, 31.5)
	класс <i>Gammaproteobacteria</i> (тип <i>Proteobacteria</i>)	1.14 (0.18, 6.55)
4-я группа (РМЖ+О, n=10)	класс <i>Clostridia</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	34.6 (25.2, 45.64)
	класс <i>Bacteroidia</i> (тип <i>Bacteroidetes</i>)	16.4 (5.79, 28.13)
	класс <i>Bacilli</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	7.1 (4.58, 19.74)
	класс <i>Verrucomicrobiae</i> (тип <i>Verrucomicrobia</i>)	7.9 (1.47, 13.43)
	класс <i>Actinobacteria</i> (тип <i>Actinobacteria</i>)	6.3 (0.23, 12.46)
5-я группа (РМЖ+О+ХТ, n=9)	класс <i>Clostridia</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	35.4 (30.42, 36.31)
	класс <i>Bacteroidia</i> (тип <i>Bacteroidetes</i>)	33.8 (24.41, 34.32)
	класс <i>Verrucomicrobiae</i> (тип <i>Verrucomicrobia</i>)	2.4 (2.23, 8.94)
	класс <i>Erysipelotrichi</i> (тип <i>Firmicutes</i>)	0.19 (0.17, 0.99)



Рис. 4. Статистическое сравнение численности микроорганизмов кишечной микробиоты крыс Wistar между группами: контрольная (интактные), при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ), после РМЖ с ХТ (РМЖ+ХТ), после оперативного лечения РМЖ (РМЖ+О), после оперативного лечения РМЖ и химиотерапии (РМЖ+О+ХТ): бирюзовый цвет – количество микроорганизмов между группами достоверно отличается; малиновый цвет – количество микроорганизмов между группами отличается недостоверно

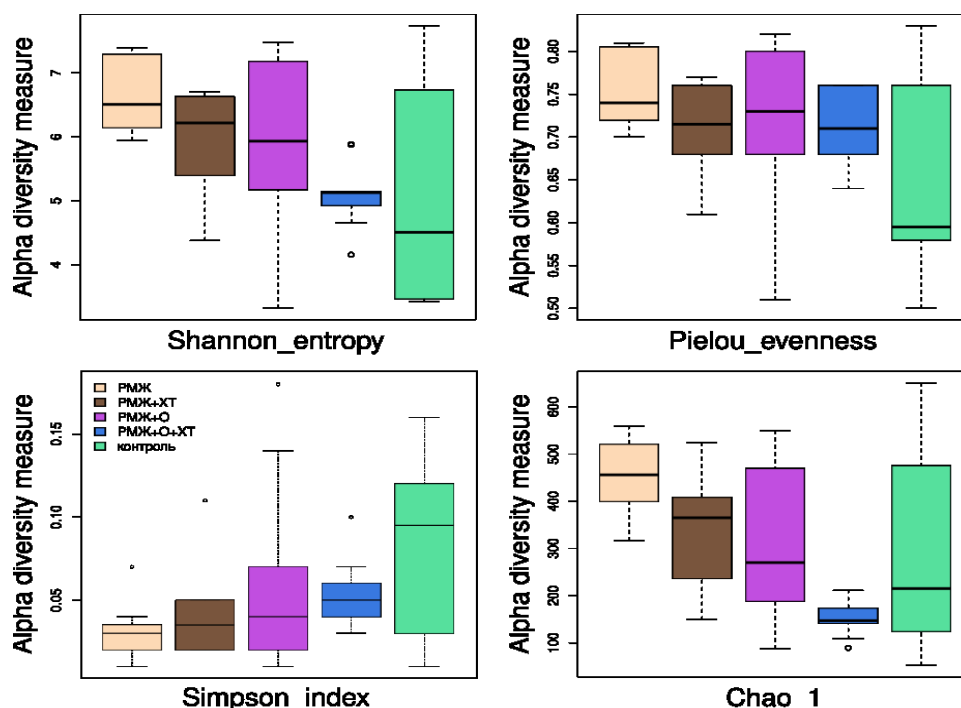


Рис. 5. Анализ альфа-разнообразия кишечной микробиоты крыс Wistar в норме контрольные (интактные), при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ), после РМЖ с ХТ (РМЖ+ХТ), после оперативного лечения РМЖ (РМЖ+О), после оперативного лечения РМЖ и химиотерапии (РМЖ+О+ХТ). По оси X – группа, по оси Y – значение метрики альфа-разнообразия: энтропия Шеннона, индекс Пielу, индекс Симпсона, индекс Чhao-1. Ящик обозначает межквартильный размах значения индекса альфа-разнообразия (25-й и 75-й процентиля), горизонтальная линия внутри ящика – медиана, усы – диапазон значений без учёта выбросов (обозначены точками) за пределами нормального разброса

**Результаты анализа соотношения *Firmicutes*/(*Firmicutes*+*Bacteroidetes*)
кишечной микробиоты крыс Wistar в норме контрольные (интактные),
при химически индуцированном раке молочной железы (РМЖ), после РМЖ с ХТ (РМЖ+ХТ),
после оперативного лечения РМЖ (РМЖ+О),
после оперативного лечения РМЖ и химиотерапии (РМЖ+О+ХТ) (Ме (Q1-Q3); усл. ед.)**

Группа	<i>Firmicutes</i> /(<i>Firmicutes</i> + <i>Bacteroidetes</i>)
Контрольная (интактная) группа	0.99 (0.88, 0.99)
РМЖ	0.79 (0.59, 0.85)
РМЖ+ХТ	0.93 (0.84, 0.99)
РМЖ+О	0.72 (0.66, 0.9)
РМЖ+О+ХТ	0.53 (0.48, 0.54)

Библиографический список

1. Cancer Statistics (2024). Cancer. Available at: <https://cancerstatisticscenter.cancer.org/#/> (дата обращения 15.06.2025). – Текст: электронный.
2. Yang, Q., Wang, B., Zheng, Q., et al. (2023). A Review of Gut Microbiota-Derived Metabolites in Tumor Progression and Cancer Therapy. *Advanced Science* (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany), 10(15), e2207366. <https://doi.org/10.1002/advs.202207366>.
3. Zheng, H. H., Du, C. T., Yu, C., et al. (2022). The Relationship of Tumor Microbiome and Oral Bacteria and Intestinal Dysbiosis in Canine Mammary Tumor. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10928. <https://doi.org/10.3390/ijms231810928>.
4. Wu, C., Wei, X., Huang, Z., et al. (2024). Urinary microbiome dysbiosis is associated with an inflammatory environment and perturbed fatty acids metabolism in the pathogenesis of bladder cancer. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 628. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05446-7>.
5. Breczko, W. J., Bubak, J., & Miszczak, M. (2024). The Importance of Intestinal Microbiota and Dysbiosis in the Context of the Development of Intestinal Lymphoma in Dogs and Cats. *Cancers*, 16(12), 2255. <https://doi.org/10.3390/cancers16122255>.
6. Mekadim, C., Skalnikova, H. K., Cizkova, J., et al. (2022). Dysbiosis of skin microbiome and gut microbiome in melanoma progression. *BMC*

Microbiology, 22(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02458-5>.

7. Кишечная микробиота и канцерогенез: актуальные аспекты // А. Ф. Повещенко, В. Н. Черкас, А. В. Кабаков, О. В. Казаков. – Текст: электронный // Микробиология, эпидемиология и иммунология. – 2023. – № 100 (3). – С. 247-260. – URL: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-356>.

8. Doocey, C. M., Finn, K., Murphy, C. & Guinane, C. M. (2022). The impact of the human microbiome in tumorigenesis, cancer progression, and biotherapeutic development. *BMC Microbiology*, 22(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02465-6>.

9. An, J., Kwon, H., & Kim, Y. J. (2023). The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio as a Risk Factor of Breast Cancer. *Journal of Clinical Medicine*, 12(6), 2216. <https://doi.org/10.3390/jcm12062216>.

References

1. Cancer Statistics (2024). Cancer. Available at: <https://cancerstatisticscenter.cancer.org/#/> (data obrashcheniia 15.06.2025).
2. Yang, Q., Wang, B., Zheng, Q., et al. (2023). A Review of Gut Microbiota-Derived Metabolites in Tumor Progression and Cancer Therapy. *Advanced Science* (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany), 10(15), e2207366. <https://doi.org/10.1002/advs.202207366>.
3. Zheng, H. H., Du, C. T., Yu, C., et al. (2022). The Relationship of Tumor Microbiome and Oral Bacteria and Intestinal Dysbiosis in Canine

Mammary Tumor. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10928. <https://doi.org/10.3390/ijms231810928>.

4. Wu, C., Wei, X., Huang, Z., et al. (2024). Urinary microbiome dysbiosis is associated with an inflammatory environment and perturbed fatty acids metabolism in the pathogenesis of bladder cancer. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 628. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05446-7>.

5. Breczko, W. J., Bubak, J., & Miszczak, M. (2024). The Importance of Intestinal Microbiota and Dysbiosis in the Context of the Development of Intestinal Lymphoma in Dogs and Cats. *Cancers*, 16(12), 2255. <https://doi.org/10.3390/cancers16122255>.

6. Mekadim, C., Skalnikova, H. K., Cizkova, J., et al. (2022). Dysbiosis of skin microbiome and gut microbiome in melanoma progression. *BMC*

Microbiology, 22(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02458-5>.

7. Poveshchenko A.F. Kischechnaia mikrobiota i kantserogenez: aktualnye aspekty / A. F. Poveshchenko, V. N. Cherkas, A. V. Kabakov, O. V. Kazakov // Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. – 2023. – T. 100, No. 3. – S. 247-260. – DOI 10.36233/0372-9311-356.

8. Doocey, C. M., Finn, K., Murphy, C. & Guinane, C. M. (2022). The impact of the human microbiome in tumorigenesis, cancer progression, and biotherapeutic development. *BMC Microbiology*, 22(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02465-6>.

9. An, J., Kwon, H., & Kim, Y. J. (2023). The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio as a Risk Factor of Breast Cancer. *Journal of Clinical Medicine*, 12(6), 2216. <https://doi.org/10.3390/jcm12062216>.



УДК 619:616.981.49:636.5

DOI: 10.53083/1996-4277-2025-251-9-61-71

Н.Д. Тычинин, Я.Б. Древко,
С.В. Козлов, О.С. Ларионова
N.D. Tychinin, Ya.B. Drevko,
S.V. Kozlov, O.S. Larionova

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗЕ ЦЫПЛЯТ

PREVENTIVE AND THERAPEUTIC EFFICACY OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN CHICKEN SALMONELLOSIS

Ключевые слова: антимикробные пептиды, иммунизация, личинки, *Hermetia illucens*, *Salmonella Enteritidis*, эффективность, сальмонеллез, цыплята.

Посвящено изучению возможности профилактики и лечения сальмонеллеза цыплят при экспериментальном заражении микроорганизмами штамма *S. Enteritidis*. Актуальность работы заключалась в важности поиска новых способов профилактики и лечения сальмонеллезной инфекции у цыплят, вызванной антибиотикорезистентным штаммом сальмонелл. В эксперименте использована антимикробная композиция пептидов, полученная в результате

иммунизации личинок черной львинки *H. illucens*. Иммунизацию личинок *Hermetia illucens* 5-го возраста проводили инаktivированной культурой *S. Enteritidis*, обладающей множественной устойчивостью более чем к 3 фармакологическим группам антибиотиков. Для изучения профилактического и терапевтического действия использовали 20%-ный раствор антимикробной композиции пептидов, а также в одной из групп изучали сочетанное действие антимикробных пептидов и энрофлоксацина. Выявлено, что профилактическая эффективность использования композиции антимикробных пептидов (АМП) перорально цыплятам в течение 7 дней до заражения составила 93,3%. Наибольший терапевтический эффект