

Анализ изменения кишечной микробиоты у самок крыс Wistar на этапе индукции рака молочной железы N-метил-N-нитрозомочевиной

В.Н. Черкас¹, А.В. Кабаков¹, А.Ф. Повещенко¹, О.В. Казаков¹, А.А. Леляк², О.С. Козлова³

¹ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² ООО НПФ «Исследовательский центр»

630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, научно-производственная зона, корп. 200

³ Ветеринарная клиника «НоваВет»

117534, г. Москва, ул. Кировоградская, 44б, стр. 2

Резюме

Кишечная микробиота, обладая огромным метаболическим потенциалом, вносит существенный вклад в физиологические и патологические процессы человека и животных и в настоящее время рассматривается как важный фактор патогенеза онкологических заболеваний. Целью данного исследования является определение изменений количественного и качественного состава кишечной микробиоты у крыс Wistar при химической индукции рака молочной железы (РМЖ). **Материал и методы.** Работа выполнена на самках крыс Wistar ($n = 40$) в возрасте 3 мес., массой 200–210 г, с использованием культурального метода исследований фекальной микробиоты у интактных животных (группа 1) на 1-й, 14-й, 35-й день и у крыс с индукцией РМЖ (группа 2) на 1-й (до инъекции N-метил-N-нитрозомочевины), 14-й, 35-й день после введения N-метил-N-нитрозомочевины. **Результаты и их обсуждение.** У всех животных преобладали представители, характерные для нормобиоты кишечника теплокровных, а именно: *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli* с выраженными ферментативными свойствами, *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp. Помимо этого выявлены *Staphylococcus* spp., дрожжеподобные грибы рода *Candida* и плесени. Также обнаружена *E. coli* со сниженной ферментативной активностью. Установлено, что выделенные бактерии принадлежали к трем типам, четырем классам, пяти порядкам, шести семействам, шести родам домена бактерий. Также выделено два рода грибов, относящихся к порядку *Saccharomycetales*. Наиболее значимые и достоверные изменения в составе кишечной микробиоты отмечены у крыс с химически индуцированным РМЖ на 35-й день индукции опухоли: выявлено появление патогенной микрофлоры в кишечнике.

Ключевые слова: самки крыс Wistar, кишечная микробиота, индукция, N-метил-N-нитрозомочевина, дисбиоз, рак молочной железы, канцерогенез.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Черкас В.Н., e-mail: valeriya_korol@mail.ru

Для цитирования: Черкас В.Н., Кабаков А.В., Повещенко А.Ф., Казаков О.В., Леляк А.А., Козлова О.С. Анализ изменения кишечной микробиоты у самок крыс Wistar на этапе индукции рака молочной железы N-метил-N-нитрозомочевиной. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(4):119–125. doi: 10.18699/SSMJ20240413

Analysis of changes in intestinal microbiota in female Wistar rats at the stage of breast cancer induction by N-methyl-N-nitrosourea

V.N. Cherkas¹, A.V. Kabakov¹, A.F. Poveshchenko¹, O.V. Kazakov¹, A.A. Lelyak², O.S. Kozlova³

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakova st., 2

² NPF “Research Center”

630559, Novosibirsk region, Koltsovo, research and production zone, building 200

³ Veterinary Clinic “NovaVet”

117534, Moscow, Kirovogradskaya st., 44b, building 2

Abstract

The intestinal microbiota, having enormous metabolic potential, makes a significant contribution to the physiological and pathological processes of humans and animals and is currently considered as an important factor in the pathogenesis of cancer. The aim of this study is to determine changes in the quantitative and qualitative composition of the intestinal microbiota in Wistar rats during chemical induction of breast cancer (BC). **Material and methods.** The work was performed on female Wistar rats ($n = 40$) aged 3 months, weighing 200–210 g, using cultural methods for studying fecal microbiota in intact rats (1 group) on the 1st, 14th, 35th days and in rats with induction of breast cancer and in rats, whereby N-methyl-N-nitrosourea was administered to induce breast cancer (2 group) on the 1st (before injection of N-methyl-N-nitrosourea), 14th, 35th days after injection of N-methyl-N-nitrosourea. **Results and discussion.** In all experimental animals, representatives characteristic of the intestinal normobiota of warm-blooded animals predominated, namely: *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli* with pronounced enzymatic properties, *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp. In addition, *Staphylococcus* spp., yeast-like fungi of the genus *Candida* and mold. *Escherichia coli* with reduced enzymatic activity was also detected. It was established that the isolated bacteria belonged to 3 types, 4 classes, 5 orders, 6 families, 6 genera of the bacterial domain. Also, 2 genera of fungi belonging to the order Saccharomycetales were isolated. The most significant changes in the composition of the intestinal microbiota were noted in rats with chemically induced breast cancer on the 35th day tumor induction: the appearance of pathogenic microflora in the intestine was revealed.

Key words: female Wistar rats, intestinal microbiota, induction, N-methyl-N-nitrosourea, dysbiosis, breast cancer, carcinogenesis.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Cherkas V.N., e-mail: valeriya_korol@mail.ru

Citation: Cherkas V.N., Kabakov A.V., Poveshchenko A.F., Kazakov O.V., Lelyak A.A., Kozlova O.S. Analysis of changes in intestinal microbiota in female Wistar rats at the stage of breast cancer induction by N-methyl-N-nitrosourea. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(4):119–125. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240413

Введение

С современных позиций микробиоту желудочно-кишечного тракта рассматривают как самостоятельный «орган», который регулирует множество метаболических процессов в организме хозяина и по своей значимости не уступает любому другому жизненно важному органу [1]. За последние несколько десятилетий исследования микрофлоры приобрели особую актуальность, пристальное внимание сегодня уделяется связи между микробиотой и целым рядом патологий человека, включая злокачественные новообразования, в том числе рак молочной железы (РМЖ) [2]. Учитывая современные знания о роли микробного ландшафта в развитии канцерогенеза, актуальным является исследование микробиоты при РМЖ – одного из самых распространенных видов злокачественных новообразований в мире [3]. РМЖ представляет собой многофакторное заболевание с разнообразными генетическими и эпигенетическими детерминантами, являющимися этиологическими факторами и факторами патогенеза [4, 5]. В настоящее время микробиоту организма-хозяина стали рассматривать в качестве фактора, способного запускать механизмы канцерогенеза [6, 7].

Однако до конца не ясно, является ли микробиота хозяина основной причиной РМЖ или спо-

собствует его развитию. В своем исследовании мы используем модель химически индуцированного РМЖ на самках крыс Wistar для изучения возможного влияния состояния кишечной микробиоты на развитие РМЖ. Ее можно рассматривать как потенциальный диагностический онкобиомаркер, с одной стороны, и патогенетический фактор, на который будет направлена терапия и профилактика РМЖ, с другой стороны.

Целью данного исследования является определение изменений количественного и качественного состава кишечной микробиоты у крыс Wistar при химической индукции рака молочной железы.

Материал и методы

Все экспериментальные исследования проводились в соответствии с принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях, директивами Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей, Хельсинкской декларацией, «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», а также с разрешения локального этического комитета НИИ клинической и экспериментальной

лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (протокол заседания № 180 от 28.04.2023).

Изучение параметров микробной колонизации толстой кишки проводили у самок крыс Wistar ($n = 40$) в возрасте 3 мес., массой 200–210 г, содержащихся в виварии Института цитологии и генетики СО РАН. Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях вивария, с неограниченным доступом к пище и воде, при регулируемой температуре воздуха в помещении, с искусственной сменой освещенности: 12 ч – свет, 12 ч – темнота. РМЖ индуцировали N-метил-N-нитрозомочевинной (МНМ) (Sigma-Aldrich, США) по методике А.Р. Чочиева и соавт. [8]. Вещество вводили пятикратно с интервалом 7 дней подкожно в область одной и той же молочной железы с правой стороны (2-я молочная железа) у основания правой лапы в дозе 2,5 мг на крысу в объеме 0,2 мл (общая доза – 12,5 мг).

Для исследования были сформированы следующие группы: 1-я – интактные животные ($n = 20$); 2-я – группа крыс, которым вводили МНМ для индукции РМЖ ($n = 20$). У интактных крыс забор кала для исследования микрофлоры толстого кишечника выполняли в 1-й, 14-й и 35-й день параллельно с группой индукции РМЖ, у животных которой забор фекалий проводили в 1-й день (до инъекции МНМ), на 14-й и 35-й день после введения МНМ. Пробу для исследования брали из последней порции фекалий. Взятый кал помещали в стерильный транспортный контейнер и в течение двух часов доставляли в специализированную микробиологическую лабораторию «Научно-производственный центр» (р.п. Кольцово, Новосибирская область), где готовили навески массой 100 мг, которые помещали в стерильный 0,9%-й раствор хлорида натрия в соотношении 1:10. Из этой суспензии готовили последовательные 10-кратные разведения до концентрации 10^{-8} . Из полученных разведений материал высевали на питательные среды.

Показатели для оценки особенностей микробиоты кишечника для испытаний были выбраны согласно рекомендациям Отраслевого стандарта 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [9]. Для культивирования лактобактерий (*Lactobacillus* spp.) использовали плотную среду МРС («Биокомпас-С», РФ), бифидобактерий – Бифидум-среду (Оболенск, РФ), энтеробактерий – агар Эндо (Himedia, Индия) и тест-подложки Rida®Count Coliformi (R-Riopharm, Германия). Культивирование стафилококков (*Staphylococcus* spp., *St. aureus*) осуществляли на желточно-солевом агаре и тест-подложках Rida®Count (R-Riopharm),

дрожжеподобных грибов и плесени – на тест-подложках Rida®Count Yeast&Mold и среде Сабу-ро (R-Riopharm) в соответствии с инструкциями производителя. Результаты принимались в расчет по числу выросших колоний с определением культуральных, морфологических (микроскопия) и тинкториальных свойств (окраска по Граму) после истечения сроков инкубации.

Количество выделенных микроорганизмов рассчитывали по формуле:

$$\text{КОЕ/г} = K \times 10 \times n,$$

где K – количество выросших колоний; n – разведение суспензии; 10 – коэффициент пересчета на 1 см³ суспензии при посеве 0,1 см³. Полученный результат переводили в десятичный логарифм числа колониеобразующих единиц в 1 г исследуемого материала ($\log_{10}$ КОЕ/г).

Данные представлены в виде средней арифметической величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$), а также медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me [Q1; Q3]). Для межгруппового сравнения использовали U-критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании считали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Во время наблюдения за внешним видом, активностью, аппетитом и характером фекалий экспериментальных животных характерных признаков расстройства пищеварительного тракта в виде беспокойства, апатии, снижения аппетита, метеоризма, изменения цвета, запаха, консистенции фекалий, наличия примеси в них слизи/крови нами не отмечено. Родовая принадлежность, частота встречаемости и количественный уровень микроорганизмов, выделенных из образцов фекалий крыс, представлены в таблице. У всех животных преобладали представители, характерные для нормобиоты кишечника теплокровных, а именно: *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli* с выраженными ферментативными свойствами, *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp. Помимо этого выявлены *Staphylococcus* spp., дрожжеподобные грибы рода *Candida* и плесени. Также обнаружена *E. coli* со сниженной ферментативной активностью. Таким образом, установлено, что у всех крыс доминирующие по количеству и частоте встречаемости бактерии принадлежали к типам Actinobacteria (род *Bifidoibacterium*), Firmicutes (род *Enterococcus*) и Proteobacteria (род *Escherichia*), типичным представителям микробиоты желудочно-кишечного тракта крыс [10].

В фекалиях, полученных от интактных крыс, не наблюдали изменений содержания типичных

Видовая принадлежность культивируемых бактерий кишечной микрофлоры, выделенных от крыс-самок Wistar в интактной группе и при химически индуцированном РМЖ, $\log_{10}$ КОЕ/г

Species of cultivated bacteria of intestinal microflora isolated from female Wistar rats in the intact group and in chemically induced breast cancer, $\log_{10}$ CFU/g

Выделяемый таксон	Интактные крысы	Число обнаружений, n (%)	14-й день индукции РМЖ	Число обнаружений, n (%)	35-й день индукции РМЖ	Число обнаружений, n (%)
1	2	3	4	5	6	7
Тип Actinobacteria						
Класс Actinobacteria						
Порядок Bifidobacteriales, семейство Bifidobacteriaceae, род <i>Bifidoibacterium</i>	$8,9 \pm 0,2$ 9,0 [8,0; 9,0]	20 (100)	$9,0 \pm 0,0$ 9,0 [9,0; 9,0]	20 (100)	$8,9 \pm 0,2$ 9,0 [8,0; 9,0]	20 (100)
Тип Firmicutes						
Класс Bacilli						
Порядок Lactobacillales, семейство Lactobacillaceae, род <i>Lactobacillus</i>	$5,0 \pm 0,0$ 5,0 [5,0; 5,0]	20 (100)	$5,0 \pm 0,0$ 5,0 [5,0; 5,0]	20 (100)	$5,0 \pm 0,0$ 5,0 [5,0; 5,0]	20 (100)
Класс Bacilli						
Порядок Lactobacillales, семейство Enterococcaceae, род <i>Enterococcus</i>	$7,8 \pm 0,2$ 8,0 [7,0; 8,0]	20 (100)	$8,0 \pm 0,0$ 8,0 [8,0; 8,0]	20 (100)	$8,0 \pm 0,0$ 8,0 [8,0; 8,0]	20 (100)
Порядок Bacillales, семейство Staphylococcaceae, род <i>Staphylococcus</i>						
Вид <i>S. aureus</i>	0	—	0	—	$6,0 \pm 0,2^{* \#}$ 6,1 [5,7; 6,4]	12 (60)
Вид <i>S. saprophyticus</i>	0	—	0	—	$6,5 \pm 0,2^{* \#}$ 6,3 [5,7; 6,9]	20 (100)
Класс Clostridia						
Порядок Clostridiales, семейство Clostridiaceae, род <i>Clostridium</i>	$5,0 \pm 0,0$ 5,0 [5,0; 5,0]	20 (100)	$4,9 \pm 0,4$ 5,0 [3,0; 5,0]	20 (100)	$5,0 \pm 0,0$ 5,0 [5,0; 5,0]	20 (100)
Тип Proteobacteria						
Класс Gammaproteobacteria						
Порядок Enterobacteriales, семейство Enterobacteriaceae, род <i>Escherichia</i>						
Вид <i>E. coli</i> , типичная	$6,4 \pm 0,2$ 6,2 [5,6; 6,8]	20 (100)	$7,6 \pm 0,8$ 5,5 [4,0; 8,2]	20 (100)	$7,1 \pm 0,3$ 6,8 [5,8; 7,5]	20 (100)
Вид <i>E. coli</i> , гемолитическая	0	—	0	—	0	—
Вид <i>E. coli</i> , лактозонегативная	$4,0 \pm 0,0$ 4,0 [4,0; 4,0]	20 (100)	$4,0 \pm 0,0$ 4,0 [4,0; 4,0]	20 (100)	$6,3 \pm 0,6$ 4,0 [4,0; 7,0]	20 (100)
Другие условно-патогенные энтеробактерии	$3,0 \pm 0,0$ 3,0 [3,0; 3,0]	20 (100)	$3,0 \pm 0,0$ 3,0 [3,0; 3,0]	20 (100)	$5,3 \pm 0,6$ 3,0 [3,0; 6,0]	20 (100), в т.ч. пробы; <i>Proteus vulgaris</i> 10^6 КОЕ/г
Неферментирующие бактерии	$3,0 \pm 0,0$ 3,0 [3,0; 3,0]	20 (100)	$3,0 \pm 0,0$ 3,0 [3,0; 3,0]	20 (100)	$3,0 \pm 0,0$ 3,0 [3,0; 3,0]	20 (100)

1	2	3	4	5	6	7
Тип Ascomycota						
Класс Saccharomycetes						
Порядок Saccharomycetales, семейство Debaryomycetaceae, род <i>Candida</i>	3,0 ± 0,0 3,0 [3,0; 3,0]	20 (100)	3,0 ± 0,0 3,0 [3,0; 3,0]	20 (100)	3,8 ± 0,2 4,0 [3,0; 4,0]	20 (100)
Плесневые грибы	3,9 ± 0,4 4,0 [2,0; 4,0]	20 (100)	4,0 ± 0,0 4,0 [4,0; 4,0]	20 (100)	3,7 ± 0,2 3,0 [3,0; 4,0]	20 (100)

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – интактных крыс, # – индуцированных крыс на 14-й день после введения МНМ.

представителей микробиоты желудочно-кишечного тракта на 1-й, 14-й и 35-й день исследования (см. таблицу). Средняя концентрация *E. coli* типичных составила $25,8 \times 10^5$ КОЕ/г, *E. coli* лактозонегативных – менее 10^5 КОЕ/г. Уровень лактобифидобактерий, клостридий и дрожжеподобных грибов рода *Candida* находился в допустимых пределах: от $< 10^4$ КОЕ/г для грибов рода *Candida* до 10^9 КОЕ/г для бифидобактерий. Стоит отметить, что *S. aureus* и *S. saprophyticus* не высеивались.

Микрофлора толстого отдела кишечника во 2-й группе крыс в 1-й день (до инъекции МНМ) была такой же, как у интактных животных. К 14-му дню индукции РМЖ в полученных образцах кала отмечено увеличение концентрации типичных *E. coli* (в 16,5 раза больше у интактных крыс). Несмотря на то что *E. coli* является типичным представителем микрофлоры кишечника крыс, наблюдаемое увеличение, предположительно, свидетельствует о начальном этапе развития дисбиоза, который в последующем может привести к хроническому воспалительному ответу – одному из механизмов канцерогенеза. Наиболее значимые изменения в составе кишечной микробиоты отмечены у животных на 35-й день индукции опухоли. Выявлено появление патогенной микрофлоры ($p < 0,05$), в частности, в 60 % случаев – *S. aureus* ($9,4 \times 10^5$ КОЕ/г), в 100 % – *S. saprophyticus* (29×10^5 КОЕ/г) (см. таблицу). Отмечено сохранение типичной *E. coli* на высоком уровне ($125,6 \times 10^5$ КОЕ/г) и возрастание содержания лактозонегативной *E. coli* (до $19,3 \times 10^5$ КОЕ/г; в 1,5 раза больше, чем в группе интактных крыс и у животных на 14-й день индукции РМЖ). У нескольких крыс на 35-й день индукции РМЖ обнаружено наличие в фекалиях условно-патогенной энтеробактерии *Proteus vulgaris* в значимой концентрации.

Показано, что контаминирование слизистой оболочки кишечника энтеробактериями, среди

которых преобладают протей и лактозонегативные эшерихии, приводит к ухудшению ее состояния, а именно к нарушению слизистого слоя, воспалению и дистрофии [11]. Появление к 35-му дню индукции РМЖ фекальной микробиоты, ранее не выделяемой у крыс интактной группы и у опытных животных, на 14-й день после индукции РМЖ может свидетельствовать о потенциальной роли вышеперечисленных бактерий в качестве кишечных патогенов, обуславливающих развитие дисбиоза.

Заключение

Установлено, что выделенные бактерии принадлежали к трем типам, четырем классам, пяти порядкам, шести семействам, шести родам домена бактерий. Также выделено два рода грибов, относящихся к порядку Saccharomycetales. Тот факт, что выделенные у крыс первой и второй групп бактерии в большинстве своем принадлежали к типам Actinobacteria, Firmicutes и Proteobacteria, согласуется с литературными данными, в которых указанные бактерии являются типичными представителями микробиоты желудочно-кишечного тракта крыс, близкой по своему составу к микробиоте кишечника человека [10].

Количественный и качественный состав кишечной микробиоты у крыс при индуцировании РМЖ химическим канцерогеном (МНМ) изменялся достоверно с возрастанием концентрации патогенных микроорганизмов к 35-му дню индукции РМЖ, что свидетельствует о формирующемся дисбиозе кишечника, что является предрасполагающим фактором возникновения хронического воспаления – основополагающего звена, способствующего развитию опухолей в различных органах, включая молочную железу [12–14]. Химическая индукция РМЖ запускает механизмы изменения кишечной микробиоты, которые дополнительно могут способствовать дальнейшему развитию рака за счет возникшего

дисбиоза и последующего воспаления. Таким образом, формируется порочный круг «рак – дисбиоз» вследствие нарушения эндэкологии кишечника, которое может сыграть роль пускового фактора в развитии и прогрессировании канцерогенеза, вызывая хроническое воспаление, усугубляющее, в свою очередь, дисбиоз кишечника, и тем самым замыкая порочный круг. Так, исследование А.М. McKee et al. показывает, что изменение микробиоты кишечника с возникновением дисбактериоза потенцирует рост опухоли молочной железы [15]. В других исследованиях показано, что дисбиоз, вызванный введением антибиотиков, может приводить к метастатическому распространению РМЖ [12, 16, 17].

Таким образом, микробиота кишечника в настоящее время рассматривается как важный фактор патогенеза онкологических заболеваний. Данную информацию подтверждают ранее проведенные исследования, в которых авторы демонстрируют, что нарушение комменсального гомеостаза приводит к циркуляции опухолевых клеток и последующему распространению в лимфатические узлы, дренирующие опухоль [12]. Учитывая современные знания о роли микробиоты в развитии канцерогенеза, дальнейшие исследования по возможному участию микробиоты кишечника в развитии РМЖ являются актуальными.

Список литературы / References

1. Ивашкин В.Т., Медведев О.С., Полуэктова Е.А., Кудряцева А.В., Бахтогаримов И.Р., Карчевская А.Е. Прямые и косвенные методы изучения микробиоты человека. *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2022;32(2):19–34. doi: 10.22416/1382-4376-2022-32-2-19-34
1. Ivashkin V.T., Medvedev O.S., Polujektova E.A., Kudrjatseva A.V., Bakhtogarmov I.R., Karchevskaja A.E. Direct and indirect methods for studying human microbiota. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2022;32(2):19–34. [In Russian]. doi: 10.22416/1382-4376-2022-32-2-19-34
2. Nandi D., Parida S., Sharma D. The gut microbiota in breast cancer development and treatment: The good, the bad, and the useful! *Gut Microbes.* 2023;15(1):2221452. doi: 10.1080/19490976.2023.2221452
3. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71(3):209–249. doi: 10.3322/caac.21660
4. Papakonstantinou A., Nuciforo P., Borrell M., Zamora E., Pimentel I., Saura C., Oliveira M. The co-
4. nundrum of breast cancer and microbiome – A comprehensive review of the current evidence. *Cancer Treat. Rev.* 2022;111:102470. doi: 10.1016/j.ctrv.2022.102470
5. Zhang J., Xia Y., Sun J. Breast and gut microbiome in health and cancer. *Genes Dis.* 2020;8(5):581–589. doi: 10.1016/j.gendis.2020.08.002
6. Álvarez-Mercado A.I., del Valle Cano A., Fernández M.F., Fontana L. Gut microbiota and breast cancer: the dual role of microbes. *Cancers (Basel).* 2023;15(2):443. doi: 10.3390/cancers15020443
7. Zhao K., Hu Y. Microbiome harbored within tumors: a new chance to revisit our understanding of cancer pathogenesis and treatment. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2020;5(1):136. doi: 10.1038/s41392-020-00244-1
8. Чочиева А.Р., Болиева Л.З. Изучение химио-профилактической активности порошка брокколи на возникновение опухолей молочной железы, индуцированных у крыс МНМ. *Вестн. нов. мед. технол.* 2010;17(3):172–173.
8. Chochieva A.R., Bolieva L.Z. Studying chemical and prophylactic activity of broccoli powder on occurrence of tumours of mammary gland induced at rats. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies.* 2010;17(3):172–173. [In Russian].
9. ОСТ 91500.11.0004-2003. Отраслевой стандарт. «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200119089>
9. OST 91500.11.0004-2003. Industry standard. «Patient management protocol. Intestinal dysbiosis». Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200119089> [In Russian].
10. Flemer B., Gaci N., Borrel G., Sanderson I.R., Chaudhary P.P., Tottey W., O'Toole P.W., Brugère J.F. Fecal microbiota variation across the lifespan of the healthy laboratory rat. *Gut Microbes.* 2017;8(5):428–439. doi: 10.1080/19490976.2017.1334033
11. Кучумова С.Ю., Полуэктова Е.А., Шептулин А.А., Ивашкин В.Т. Физиологическое значение кишечной микрофлоры. *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2011;21(5):17–27.
11. Kuchumova S.Ju., Polujektova E.A., Sheptulin A.A., Ivashkin V.T. Physiological significance of intestinal microflora. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2011;21(5):17–27. [In Russian].
12. Buchta Rosean C., Bostic R.R., Ferey J.C.M., Feng T.Y., Azar F.N., Tung K.S., Dozmorov M.G., Smirnova E., Bos P.D., Rutkowski M.R. Preexisting commensal dysbiosis is a host-intrinsic regulator of tissue inflammation and tumor cell dissemination in hormone receptor-positive breast cancer. *Cancer Res.* 2019;79(14):3662–3675. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3464

13. Bahirae A., Ebrahimi R., Halabian R., Aghabozorgi A.S., Amani J. The role of inflammation and its related microRNAs in breast cancer: A narrative review. *J. Cell. Physiol.* 2019;234(11):19480–19493. doi: 10.1002/jcp.28742
14. Csendes D., Gutlapalli S.D., Prakash K., Swarnakari K.M., Bai M., Manoharan M.P., Raja R., Jamil A., Desai A., Desai D.M., Khan S. Gastrointestinal microbiota and breast cancer chemotherapy interactions: a systematic review. *Cureus.* 2022;14(11):e31648. doi: 10.7759/cureus.31648
15. McKee A.M., Kirkup B.M., Madgwick M., Fowler W.J., Price C.A., Dreger S.A., Ansorge R., Makin K.A., Caim S., Le Gall G., ... Robinson S.D. Antibiotic-induced disturbances of the gut microbiota result in accelerated breast tumor growth. *iScience.* 2021;24(9):103012. doi: 10.1016/j.isci.2021.103012
16. Ransohoff J.D., Ritter V., Purington N., Andrade K., Han S., Liu M., Liang S.Y., John E.M., Gomez S.L., Telli M.L., ... Kurian A.W. Antimicrobial exposure is associated with decreased survival in triple-negative breast cancer. *Nat. Commun.* 2023;14(1):2053. doi: 10.1038/s41467-023-37636-0
17. Dutta R.K., Abu Y.F., Tao J., Chupikova I., Oleas J., Singh P.K., Vitari N.A., Qureshi R., Ramakrishnan S., Roy S. Altered gut microbiome drives heightened pain sensitivity in a murine model of metastatic triple-negative breast cancer. *Am. J. Cancer Res.* 2024;14(1):274–299.

Сведения об авторах:

Черкас Валерия Николаевна, к.в.н., ORCID: 0000-0002-0380-9273, e-mail: valeriya_korol@mail.ru
Кабаков Алексей Васильевич, к.м.н., ORCID: 0000-0002-4741-6674, e-mail: Doctor03-85@ngs.ru
Повешенко Александр Федорович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-4433-7110, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru
Казаков Олег Васильевич, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3947-4038, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru
Леляк Анастасия Александровна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-6822-8015, e-mail: leliak2@yandex.ru
Козлова Ольга Сергеевна, ORCID: 0000-0002-3191-7597, e-mail: loi-2005@yandex.ru

Information about authors:

Valeria N. Cherkas, candidate of veterinary sciences, ORCID: 0000-0002-0380-9273, e-mail: valeriya_korol@mail.ru
Aleksey V. Kabakov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4741-6674, e-mail: Doctor03-85@ngs.ru
Aleksandr F. Poveshchenko, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-4433-7110, e-mail: poveshchenkoa200@mail.ru
Oleg V. Kazakov, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3947-4038, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru
Anastasia A. Lelyak, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-6822-8015, e-mail: leliak2@yandex.ru
Olga S. Kozlova, ORCID: 0000-0002-3191-7597, e-mail: loi-2005@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.01.2024
После доработки 06.03.2024
Принята к публикации 07.06.2024

Received 31.01.2024
Revision received 06.03.2024
Accepted 07.06.2024