

РЕЗЮМЕ

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ВЛИЯНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ
ПРЕПАРАТОВ НА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫЕ
КЛЕТКИ ЛИМФОИДНОГО РЯДА**

*М.Б.Самбур, О.Ф. Мельников, Д.Д.Заболотная,
М.Д.Тимченко, Т.В.Сидоренко*

ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И.Коломийченко
АМН Украины», Киев

В опытах *in vivo* и *in vitro* показано, что новые отечественные пробиотики обладают иммуномодулирующей активностью, увеличивая количество FcR⁺-клеток крови иммунодефицитных крыс и стимулируя экспрессию мембранных антигенов CD2⁺, CD16⁺ и CD25⁺ на клетках небных миндалин и крови больных хроническим тонзиллитом.

SUMMARY

**EXPERIMENTAL STUDY OF PROBIOTIC
PREPARATIONS EFFECT ON IMMUNOCOMPETENT
LYMPHOID CELLS**

*M.B.Sambur, O.F.Melnikov, D.D.Zabolota,
M.D.Timchenko, T.V.Sidorenko*

Prof.O.S.Kolomiychenko Institute of Otolaryngology
Acad.Med.Sci. of Ukraine, Kyiv

Immunomodulating activity of new probiotic preparations has been studied in experiments *in vivo* and *in vitro*. The application of probiotics resulted in increasing of relative contents of blood FcR⁺-cells in rats with immunodeficiency and stimulation of CD2⁺, CD16⁺ and CD25⁺ membrane antigens expression on palatine tonsilloocytes and blood cells of patients with chronic tonsillitis.

УДК 612.017.1.579.861.2.

**ИНАКТИВИРОВАННЫЕ МИКРОБНЫЕ КЛЕТКИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
WOOD46 ТОРМОЗЯТ РОСТ ОПУХОЛИ И УСИЛИВАЮТ
ИНФИЛЬТРАЦИЮ ЛИМФОЦИТОВ ОПУХОЛЮ**

*ПУТНИКОВ А. В., ГАРМАНЧУК Л.В., СЕНЧИЛО Н. В., ФЕДОРЧУК А. Г.,
ЛУЗИНА О.Я., ФУРЗИКОВА Т. М.

УНЦ «Институт биологии» Киевского национального университета
имени Тараса Шевченка

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии
им.Р.Е.Кавецкого НАН Украины

Известно, что одной из причин развития и прогрессирования злокачественных новообразований является иммунологическая мимикрия опухолевых клеток [1]. В связи с этим, одним из направлений профилактики и терапии онкологических заболеваний являются методы направленные на повышение иммуногенности самой опухоли [2]. Учитывая факт, что бактериальные инфекции могут быть как активаторами роста опухоли так и индукторами противовоспалительных цитокинов и стимуляторами инфильтрации лимфоцитов опухолью, что способствует угнетению ее роста, микробные клетки и их компоненты стали одними из традиционных составляющих противоопухолевых вакцин [3, 4]. То есть препараты микробного происхождения не являются собственно противоопухолевыми препаратами, но, модулируя иммунный ответ, могут в комбинированном применении с классическими химиопрепаратами способствовать повышению эффективности противоопухолевого ответа. Не смотря на то что в онкологической практике успешно зарекомендовал себя целый ряд препаратов составляющими которых есть бактериальные субстанции [5, 6] терапевтический потенциал бактериальных клеток в лечении злокачественных новообразований по-

прежнему находится на стадии изучения и реализации.

Целью настоящей работы было исследование кинетики роста первичной опухоли при введении животным инактивированных микробных клеток *S. aureus Wood46* и выявление зависимости между степенью инфильтрации лимфоцитов опухолями, кинетикой ее роста и размерами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали экспериментальную модель перевивной карциномы легких Льюис. Для этого измельченную опухолевую ткань вводили животным внутримышечно в районе бедра в объеме 100 мкл физиологического раствора. Инактивированные (нагреванием при 800 С в течение 2 часов) микробные клетки *S. aureus Wood46* в концентрации $0,25 \cdot 10^9$ кл/мл [7] вводили на 7 сутки после перевивки опухоли (опытная группа, n=8). Определение размеров опухоли в контрольной и опытной группе проводили на 14, 19 и 26 сутки после перевивки измерением размеров опухоли в месте перевивки в сравнении с интактным бедром. Количество опухоль - инфильтрованных лимфоцитов из расчета на 1 г опухоли определяли после

ее гомогенизации и выделения лимфоцитов на градиенте фиколл-верографина при декапитации животных на 26 сутки после перевивки опухоли. Все работы с животными проводили в соответствии с правилами биоэтического комитета по работе с экспериментальными животными [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При исследовании кинетики роста первичной опухоли было выявлено ингибирование роста первичной опухоли во всех исследуемых временных интервалах в сравнении с контролем при иммунизации животных *S. aureus* Wood46 на 7 сутки после перевивки опухолевых клеток экспериментальным животным (рис. 1)

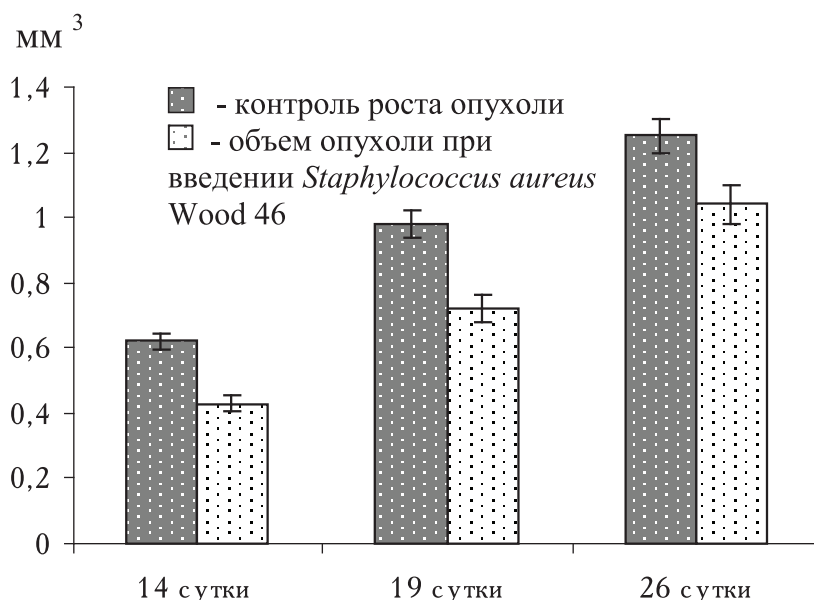


Рисунок 1. Объем первичной опухоли перевивной карциномы легких Льюс в динамике ее роста

Так, на 14 сутки после перевивки размер первичной опухоли в опытной группе составлял $0,64 \pm 0,04$ мм³, что было на 24% ($p < 0,01$) меньше, чем в группе без введения микробных клеток. Практически, аналогичный показатель (меньше на 27% ($p < 0,01$)) был зафиксирован и на 19 сутки после перевивки опухоли. На последнем этапе роста опухоли (26 сутки после перевивки) различие в размерах опухоли в контрольной и опытной группе было несколько ниже: $1,08 \pm 0,015$ мм³, в опытной группе против $1,28 \pm 0,008$ мм³, в контроле (разница составляла 17%, $p < 0,05$).

При определении степени инфильтрации лимфоцитов первичной опухолью после декапитации животных на 26 сутки после перевивки опухоли было выявлено, что вышеуказанный показатель в группе животных с введением инактивированных клеток *Staphylococcus aureus* Wood46 составлял $9,16 \pm 1,9 \times 10^3$ клеток/г опухолевой ткани, что было в 1,95 раза ($p < 0,01$) выше, чем у животных контрольной группы.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что введение инактивированных стафилококковых клеток животным с экспериментальной опухолью приводит к торможению ее роста.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Как известно, интенсивность и направленность иммунного ответа зависят от дозы антигена: высокие дозы индуцируют развитие толерантности, низкие дозы могут приводить к появлению игнорантных лимфоцитов и лишь оптимальная концентрация антигена способна активировать воспалительный иммунный ответ [9]. В предыдущих работах [7] нами была подобрана концентрация инактивированного *Staphylococcus aureus* Wood46 при которой проявление первичных признаков роста опухоли значительно затормаживалось. В данном случае продемонстрировано, что отобранная концентрация $0,25 \times 10^9$ кл/мл ингибирует рост самой опухоли во всех временных интервалах.

Одним из возможных механизмов тормозящим рост первичной опухоли, может быть увеличение показателя инфильтрированной опухолевой тканью лимфоцитов при введении бактериальных клеток. По данным литературы, компоненты микробных клеток могут влиять на степень инфильтрации лимфоцитов опухолью, что может свидетельствовать об ее фенотипе и эффективности используемой терапии [10]. Нами было подтверждено, что с введением инактивированных клеток *Staphylococcus*

aureus Wood46 ступені інфільтрації лимфоцитів була в 1,95 раза вище, чем у животних контрольної групи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bubenik J. MHC class I down-regulation: tumour escape from immune surveillance? (review). *Int J Oncol.* 2004 Aug;25(2):487-91.
2. Yang L, Carbone DP. Tumor-host immune interactions and dendritic cell dysfunction. *Adv Cancer Res.* 2004; 92:13-27.
3. Shimizu M, Matsuzawa A, Takeda Y. A novel method for modification of tumor cells with bacterial superantigen with a heterobifunctional cross-linking agent in immunotherapy of cancer. *Mol Biotechnol.* 2003 Sep;25(1):89-94.
4. Miller JS. The biology of natural killer cells in cancer, infection and pregnancy. *Exp Haematol.* 2001;29:1157-1168
5. Terman DS. Protein A and staphylococcal products in neoplastic disease. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1985;4(2):103-24
6. Quan WD Jr, Palackdharry CS. Common cancers--immunotherapy and multidisciplinary therapy: Parts III and IV. *Dis Mon.* 1997 Nov;43(11):745-808.
7. Сківка Л.М., Путніков А.В., Слободяник Г.І., Позур В.В., Позур В.К. Вплив інактивованого *Staphylococcus aureus* на ріст карциноми Л'юїс у мишей // X з'їзд ТМУ (Одеса, вересень, 2004р.): Тез доп. – Одеса: 2004. – С.167-168
8. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington, D.C.: National Academy of Press, 1996. – 140 p.
9. Miller JS. The biology of natural killer cells in cancer, infection and pregnancy. *Exp Haematol.* 2001;29:1157-1168.
10. Macchettil A.H., Cosiski Maran H. R., Silvall J. S. et al. Tumor-infiltrating CD4+ T lymphocytes in early breast cancer reflect lymph node involvement// *Clinics*, 2006, vol.61 no.3: 112-118
11. Reome JB, Hylind JC, Dutton RW, Dobrzanski MJ. Type 1 and type 2 tumor infiltrating effector cell subpopulations in progressive breast cancer // *Clin Immunol.* 2004;111:69-81.

РЕЗЮМЕ

ИНАКТИВИРОВАННЫЕ МИКРОБНЫЕ КЛЕТКИ STAPHYLOCOCCUS AUREUS WOOD46 ТОРМОЗЯТ РОСТ ОПУХОЛИ И УСИЛИВАЮТ ИНФИЛЬТРАЦИЮ ЛИМФОЦИТОВ ОПУХОЛЮ

Путников А. В., Гарманчук Л. В., Сенчило Н. В., Федорчук А. Г., *Лузина О. Я., Фурзикова Т. М.

УНЦ «Институт биологии» (биологический факультет) Киевского национального университета имени Тараса Шевченка

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины

Мета роботи полягала у дослідженні кінетики росту первинної пухлини при введенні дослідним тваринам інактивованих мікробних клітин *S. aureus Wood46* та виявленні залежності між ступенем інфільтрації лимфоцитів пухлинами, кінетикою її росту та розмірами.

Використовували експериментальну модель перещепленої карциноми легенів Льюїс.

Отримані результати вказують на те, що введення інактивованих стафілококових клітин тваринам з експериментальною пухлиною призводить до гальмування її росту. Одним з можливих механізмів, які гальмують ріст первинної пухлини, може бути зростання показника інфільтрованих пухлинною тканиною лимфоцитів при введенні бактеріальних клітин.

SUMMARY

INACTIVATED MICROBIAL CELLS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS WOOD46 IMPEDE TUMOR GROWTH AND INCREASE ITS LYMPHOCYTE INFILTRATION RATES.

Putnikov A. V., Harmanchuk L. V., Senchylo N. V., Fedorchuk A. H., *Luzina O. Ia., Furzikova T. M.

Biology Department, Taras Shevchenko National University of Kyiv

*R. I. Kavetskyi Institute of Experimental Pathology, Oncology, and Radiobiology, NAS of Ukraine

The goal of the present work was to study the kinetics of primary tumor growth after the studied animals are given an injection of inactivated microbial cells of *S. aureus Wood46*, as well as to reveal possible relationship between the rate of infiltration of lymphocytes by the tumor, its growth kinetics and size.

We used the experimental model of revaccinated Lewis lung carcinoma.

The results suggest that administering animals suffering the experimental tumor an injection of inactivated staphylococcal cells leads to tumor growth inhibition. Among possible mechanisms impeding primary tumor growth, the increase in infiltration of lymphocytes by the tumor tissue as a result of bacterial cell injection is a plausible candidate.