УДК 615.038
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2015.v17.i3.5044

Г. В. Діденко[1], Г. С. Лісовенко[1], В. М. Базась[3], Н. Л. Черемшенко[1], І. М. Воєйкова[1], О. О. Круць[1,2], Г. П. Потебня[1]
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМЕНІ Р. Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ[1], КИЇВ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА[2]
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМЕНІ П. Л. ШУПИКА[3], КИЇВ

МОДИФІКАЦІЯ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ НА КСЕНОГЕННІ ЕМБРІОНАЛЬНІ ПРОТЕЇНИ АД'ЮВАНТАМИ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Методами імуноферментного аналізу та імуноблоту досліджено сироватки крові мишей лінії BALB/c, імунізованих ембріональними протеїнами курки в комбінації з ад'ювантами мікробного походження. Аналіз рівня накопичення антитіл до цих протеїнів та вивчення антитілозалежної цитотоксичності лімфоцитів відносно клітин модельних пухлин дозволяють зробити висновок, що використання ад'ювантів мікробного походження – протеїновмісних метаболітів культуральної рідини (18,5 і 70 кДа) та ліпідної фракції клітин B. subtilis B-7025; пептидоглікану клітин S. aureus сприяє вірогідному підсиленню імунної відповіді на фетальні антигени. Результати дослідження є підґрунтям для конструювання ксеногенної протипухлинної вакцини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **ембріональні протеїни, ад'юванти, імунна відповідь, протипухлинна вакцина.**

ВСТУП. Подолання імунологічної толерантності до пухлиноасоційованих антигенів (ПАА) є ключовим завданням імунотерапії пухлинної хвороби [1, 2]. Одним із підходів до його виконання є розробка та застосування ксеногенних протипухлинних вакцин (ПВ), які містять пухлинні антигени організмів іншого виду [3]. Показано, що саме використання чужорідних аналогів ПАА здатне викликати імунну відповідь проти власних ендогенних протеїнів [4, 5]. Більш того, структурні відмінності ксеногенних ПАА від їх людських аналогів сприяють індукції специфічних протипухлинних реакцій не тільки на ранніх, але й на пізніх стадіях захворювання, коли організм хворого перебуває під імуносупресивним впливом пухлини та власної імунної системи. Тому, порівняно з гомологічними аналогами, ксеногенні ПВ можуть стати ефективнішими як для профілактики розвитку рецидивів та метастазів, так і для генерації процесів, що призводять до руйнування розвинутої пухлини [2, 6, 7].

Експресія ембріональних антигенів супроводжує процес трансформації нормальної клітини в злоякісну [8, 9], тому їх використання як "універсальних" специфічних імуногенів відкриває нові можливості в конструюванні ксеногенних ПВ [10, 11]. У попередній роботі ми показали, що ПВ, виготовлені на основі антигенів ембріональних тканин різного гістогенезу людини та глікопротеїду *B. subtilis B-7025*, проявляли протипухлинну активність у мишей із саркомою 37 [12]. Одержано високомолекулярні ембріональні протеїни курки (ЕПК), які мають певну гомологію з поверхневими протеїнами клітин модельних пухлин [13] і в подальшому можуть бути використані як компоненти при конструюванні ксеногенних ПВ [14, 15].

Для підвищення імуногенності зазначених ЕПК та посилення специфічної імунної відповіді необхідно підібрати відповідний ефективний ад'ювант. Особливо перспективними на сьогодні є ад'юванти мікробного походження, які взаємодіють з Toll-подібними рецепторами клітин природного імунітету та запускають процес формування адаптивного імунітету, тому їх досить широко використовують для виготовлення ПВ [16, 17]. Крім того, ад'юванти, отримані з бактеріальних продуктів, здатні модифікувати ПАА, індукувати продукування широкого спектра цитокінів, що дозволяє суттєво зменшити дозу імуногена і частоту його введення [18].

Метою даної роботи було вивчити можливість підсилення імунної відповіді організму тварин на ксеногенні ембріональні протеїни за допомогою ад'ювантів різного походження.

© Г. В. Діденко, Г. С. Лісовенко, В. М. Базась, Н. Л. Черемшенко, І. М. Воєйкова, О. О. Круць, Г. П. Потебня, 2015.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти проводили на мишах лінії BALB/c, одержаних із розплідника віварію Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, сертифікованого згідно з вимогами, встановленими Міжнародною конвенцією. Дослідження проводили відповідно до загальноприйнятих міжнародних правил з біологічної етики та виконання робіт з експериментальними тваринами.

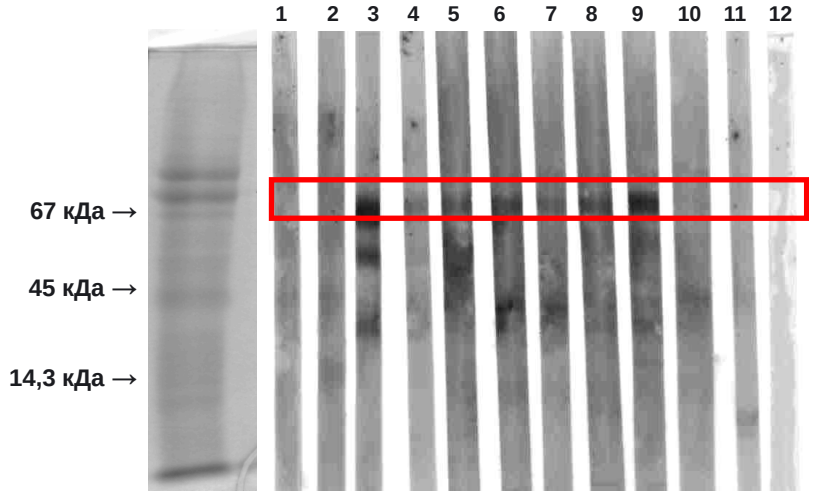
Об'єктом досліджень були протеїни, отримані з тканин курячого ембріона (7-ма доба гестації) методом ЕДТА-екстракції [19]. Імуногенність ЕПК попередньо підтверджено методом імуноферментного аналізу (ІФА) за рівнем реакції сироваток крові мишей з модельними пухлинами [13]. Тварин тричі (з інтервалом у 3 доби) імунізували ЕПК у монорежимі (з розрахунку 0,1 мг білка на одну ін'єкцію) або в комбінації з досліджуваними ад'ювантами. Як ад'юванти використовували: протеїновмісні метаболіти *Bacillus subtilis B-7025* з м. м. 18,5 та 70 кДа (ПМ-18,5; ПМ-70; 0,1 мг білка/ін'єкцію) [20], цитотоксичний лектин з культуральної рідини *B. subtilis B-7025* (ЦЛ; 0,16 мг/ін'єкцію) [21], суміш ліпідів клітин *B. subtilis B-7025* (0,06 мг/ін'єкцію) [22], мікробні клітини БЦЖ ($0{,}3\times10^8$ КУО/ін'єкцію) [23], пептидоглікан клітин *Staphylococcus aureus* Wood 46 (ПГ; 0,5 мг білка/ін'єкцію) [24], колоїдне срібло та суспензію Fe_3O_4 у 2 % розчині полідекстрану (0,06 мг/ін'єкцію) [25]. Одна з дослідних груп мишей у відповідний термін одержувала ЕДТА-екстракт протеїнів із клітин саркоми 37. Контрольним інтактним тваринам вводили фізіологічний розчин хлориду натрію.

Через 3 доби після завершення імунізації (10 діб після першого введення ЕПК) оцінювали такі імунологічні показники: рівень накопичення антитіл до ЕПК методами ІФА та імуноблот-аналізу [26]; рівень накопичення низько- і середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові [27]; цитотоксичну та антитілозалежну цитотоксичну активність лімфоцитів (ЦТА лімфоцитів і АЗЦА лімфоцитів) відносно пухлинних клітин-мішеней (саркома 37) в МТТ-тесті [14]. Для більш детального аналізу особливостей імунної відповіді на введення ЕПК оцінювали вплив аутологічних сироваток крові на ЦТА лімфоцитів за індексом потенціювання та рівень накопичення антитіл до білків клітин саркоми 37.

Результати експериментальних досліджень обробляли з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики при застосуванні пакетів комп'ютерної програми *Origin 7.5* [28].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати імуноблот-аналізу свідчать про те, що максимальний синтез антитіл та їх спектр на ЕПК (білок з м. м. близько 67 кДа) було зареєстровано у тварин, імунізованих ЕПК у комплексі з ПМ-18,5 *B. subtilis B-7025* (рис. 1).

Менш представлений у спектрі, але виражений синтез антитіл до ЕПК спостерігали при використанні як ад'ювантів мікробних клітин БЦЖ, ПГ клітин *S. aureus*, суміші ліпідів клітин



Lane 1	Lane 2	Lane 3	Lane 4	Lane 5	Lane 6	Lane 7	Lane 8	Lane 9	Lane 10	Lane 11
Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd	Peak+BkGnd
109,11	135,40	224,44	147,78	171,50	189,33	161,17	183,33	212,33	120,15	89,00

Рис. 1. Імуноблот-аналіз проти ЕПК сироваток мишей, імунізованих:
1 – ЕПК; 2 – протеїнами з клітин саркоми 37; 3 – ЕПК із ПМ-18,5 *B. subtilis B-7025*; 4 – ЕПК із ПМ-70 *B. subtilis B-7025*; 5 – ЕПК із мікробними клітинами БЦЖ; 6 – ЕПК із ПГ клітин *S. aureus*; 7 – ЕПК із сумішшю ліпідів клітин *B. subtilis B-7025*; 8 – ЕПК із колоїдним сріблом; 9 – ЕПК із оксидом заліза; 10 – ЕПК із ЦЛ з культуральної рідини *B. subtilis B-7025*; 11 – інтактні тварини; 12 – контроль кон'югату.

B. subtilis B-7025, ПМ-70 *B. subtilis B-7025*, колоїдного срібла та суспензії Fe_3O_4 у 2 % розчині полідекстрану.

Подібні результати було одержано і при оцінюванні накопичення антитіл до ЕПК методом ІФА (табл.). Показано, що у групах тварин, яким як ад'юванти до ЕПК вводили ПМ-18,5, ПМ-70 *B. subtilis B-7025* та ПГ клітин *S. aureus*, титри антитіл вірогідно перевищували ($p<0,05$) відповідні показники мишей, яким вводили ЕПК без ад'юванту. В мишей, імунізованих ЕПК із мікробними клітинами БЦЖ або ЦЛ *B. subtilis B-7025*, навпаки, рівень антитіл до ЕПК був зниженим.

При дослідженні накопичення середньомолекулярних ЦІК у сироватці крові встановлено, що у всіх дослідних групах їх рівень був вірогідно ($p\leq0,05$) більшим порівняно з інтактним контролем. Але тільки в мишей, імунізованих ЕПК із ЦЛ *B. subtilis B-7025* або з оксидом заліза, рівень ЦІК достовірно перевищував аналогічний показник тварин, які одержували ЕПК без ад'юванту. Серед відмінностей між дослідними групами за рівнем низькомолекулярних ЦІК слід відзначити підвищені показники у тварин, імунізованих ЕПК з ліпідами *B. subtilis B-7025* або колоїдним сріблом.

Таким чином, серед усіх досліджених ад'ювантів до ЕПК за сукупністю ознак найбільш перспективними є ПМ-18,5 і ПМ-70 *B. subtilis B-7025* та ПГ клітин *S. aureus*, які суттєво поліпшують синтез антитіл до ЕПК і при цьому не індукують утворення неповноцінних (моновалентних) антитіл, роль яких в імунній відповіді розцінюють як негативну [29]. Цікаво, що в мишей, імунізованих білками, одержаними аналогічним способом із клітин саркоми 37, за даними ІФА, титр антитіл до ЕПК поступався відповідним показникам тих, що одержували ЕПК ($0,1<p<0,05$), але вірогідно перевищував рівень антитіл в інтактних тварин ((0,196±0,005) та (0,104±0,008) опт. од., $p<0,05$). При цьому рівень накопичення низько- і середньомолекулярних ЦІК у мишей, імунізованих ЕПК та білками пухлинних клітин, суттєво не відрізнявся.

Імуноферментний аналіз сироваток крові імунізованих мишей проти протеїнів саркоми 37 (рис. 2) показав, що результати введення ЕПК зовсім не поступалися таким при використанні для імунізації гомологічного пухлинного антигена (протеїнів із клітин саркоми 37), що підтвердило наявність певної гомології ЕПК із поверхневими протеїнами клітин модельної пухлини. Але додавання до ЕПК майже всіх досліджуваних ад'ювантів (крім суміші ліпідів клітин *B. subtilis B-7025*) викликало вірогідне зменшення титру антитіл до протеїнів із клітин саркоми 37. Це було характерним як для ад'ювантів бактеріального походження, так і для колоїдного срібла та оксиду заліза. Особливо різке зменшення досліджуваного показника зареєстровано в мишей, які одержували ЕПК разом із мікробними клітинами БЦЖ.

Подібні закономірності було відзначено і при аналізі протипухлинної клітинної імунної відповіді. Так, при оцінюванні результатів тесту з визначення ЦТА лімфоцитів відносно пухлинних клітин-мішеней (рис. 3) можна констатувати, що введення ЕПК у комплексі з протеїновмісними метаболітами *B. subtilis B-7025* (18,5 та 70 кДа) вірогідно знижувало ($p\leq0,05$) цитотоксичність лімфоцитів (цитотоксичний індекс становив

Таблиця – **Імуноферментний аналіз сироваток крові з ЕПК у мишей, імунізованих ЕПК із різними ад'ювантами**

Група	Характеристика групи	ІФА, опт. од. (титр сироватки 1:20)	ЦІК (середньомолекулярні), опт. од.	ЦІК (низькомолекулярні), опт. од.
1	Ембріональні протеїни курки (ЕПК)	0,221±0,015*	0,156±0,033*	0,390±0,042*
2	Протеїни з клітин саркоми 37	0,196±0,005*	0,193±0,065*	0,439±0,002*, **
3	ЕПК з ПМ *B. subtilis B-7025* (м. м. 18,5 кДа)	0,333±0,025*, **	0,143±0,034*	0,387±0,029*
4	ЕПК з ПМ *B. subtilis B-7025* (м. м. 70 кДа)	0,327±0,009*, **	0,145±0,021*	0,455±0,024*
5	ЕПК з мікробними клітинами БЦЖ	0,171±0,017*, **	0,211±0,037*	0,529±0,102*
6	ЕПК з ПГ клітин *S. aureus*	0,331±0,07*, **	0,187±0,033*	0,463±0,012*
7	ЕПК із сумішшю ліпідів клітин *B. subtilis B-7025*	0,210±0,027*	0,231±0,068*	0,491±0,016*, **
8	ЕПК з колоїдним сріблом	0,247±0,006*	0,188±0,005*	0,475±0,004*, **
9	ЕПК з оксидом заліза	0,229±0,014*	0,296±0,025*, **	0,371±0,013*
10	ЕПК з ЦЛ *B. subtilis B-7025*	0,183±0,010*, **	0,234±0,008*, **	0,367±0,052*
11	Інтактний контроль	0,104±0,008	0,032±0,002	0,131±0,010

Примітка. * – $p<0,05$ порівняно з інтактним контролем; ** – $p<0,05$ порівняно з показником мишей 1-ї групи, які одержували ЕПК у монорежимі.

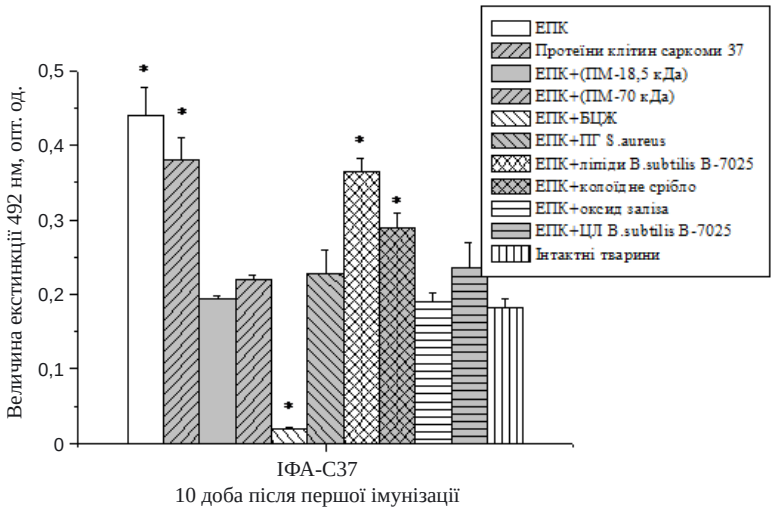


Рис. 2. Імуноферментний аналіз сироваток крові проти протеїнів саркоми 37 у мишей, імунізованих ЕПК із різними ад'ювантами (* – p≤0,05 порівняно з інтактними тваринами).

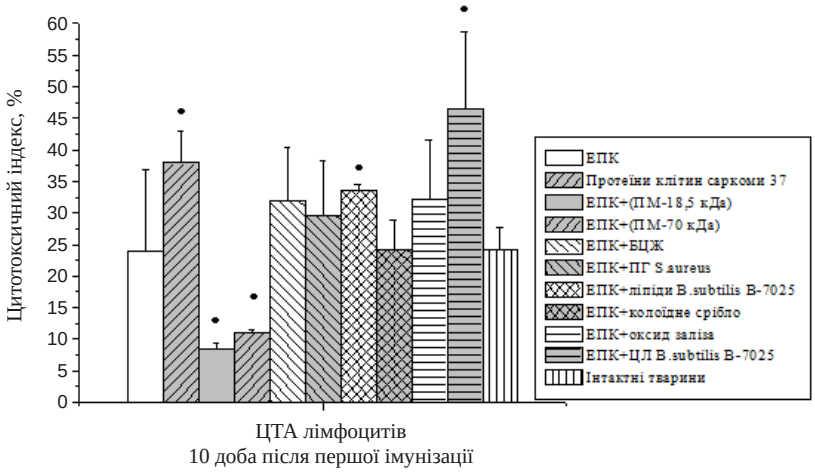


Рис. 3. Цитотоксична активність лімфоцитів у мишей, імунізованих ЕПК із різними ад'ювантами.

(8,45±0,88) і (11,14±0,31) % проти (34,19±4,41) % в інтактному контролі), тоді як використання більшості інших ад'ювантів не приводило до вірогідних змін ЦТА лімфоцитів. Лише в мишей, імунізованих ЕПК із ЦЛ *B. subtilis B-7025*, спостерігали тенденцію (0,1<p<0,05) до підвищення ЦТА лімфоцитів порівняно з показником групи тварин, які одержували ЕПК без ад'юванту.

На відміну від цього при дослідженні АЗЦА лімфоцитів (рис. 4) було встановлено, що лише у групах тварин, які отримували ЕПК та ЕПК із пептидогліканом *S. aureus*, цитотоксична активність була меншою за показники інтактного контролю (цитотоксичний індекс становив (25,35±5,47) % (p≤0,05) та (41,80±3,02) % відповідно проти (51,99±5,10) % в інтактному контролі). У всіх інших експериментальних групах спостерігали тенденцію до підвищення АЗЦА лімфоцитів (0,1<p<0,05). Особливо це стосувалось мишей, імунізованих ЕПК разом із ПМ (18,5 кДа) та ЦЛ *B. subtilis B-7025*, БЦЖ, колоїдним сріблом та оксидом заліза.

Порівняння АЗЦА лімфоцитів при введенні разом з ЕПК практично всіх застосованих ад'ювантів з аналогічним показником тварин, які одержували ЕПК без ад'юванту, свідчить про вірогідне зростання досліджуваного показника (p≤0,05). Більш того, при використанні з ЕПК майже всіх ад'ювантів мікробного походження (крім ПГ клітин *S. aureus*), а також колоїдного срібла та оксиду заліза відповідні показники АЗЦА лімфоцитів перевищували результати введення пухлинних антигенів.

Для більш детального аналізу особливостей імунної відповіді на введення ембріональних та пухлинних антигенів оцінювали вплив аутологічних сироваток крові мишей на цитотоксичність

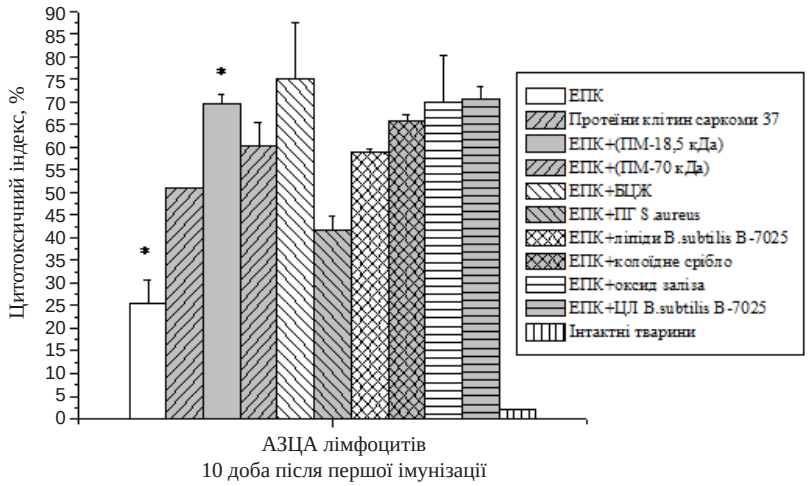


Рис. 4. Антитілозалежна цитотоксична активність лімфоцитів у мишей, імунізованих ЕПК із різними ад'ювантами.

лімфоцитів за індексом потенціювання. Було виявлено чітку закономірність – значне зростання потенціюючого впливу аутологічних сироваток крові на цитотоксичність лімфоцитів у мишей, які отримували ЕПК з ад'ювантами.

Найбільший індекс потенціювання (+724,97 %) спостерігали при дослідженні впливу сироваток крові мишей, імунізованих ЕПК із ПМ *B. subtilis B-7025* (18,5 кДа). Але й при імунізації тварин ЕПК із ПМ *B. subtilis B-7025* (70 кДа) потенціюючий вплив сироваток крові сягав значної величини – +440,66 % ($p<0,05$). Подібного ефекту не зареєстровано ні при використанні протеїнів гомологічної пухлини (+34,26 %), ні при окремому введенні ЕПК (+6,11 %). Враховуючи вищевикладене, для конструювання ПВ на основі протеїнових фракцій ксеногенних ембріональних тканин було обрано саме ці ад'юванти.

ВИСНОВКИ. 1. Імунна відповідь на ксеногенні фетальні антигени може бути суттєво підсилена за допомогою ад'ювантів мікробного походження, найбільш ефективними з яких виявились протеїновмісні метаболіти *B. subtilis B-7025 з* молекулярною масою 18,5 і 70 кДа та пептидоглікан *S. aureus*.

2. Одним з основних механізмів дії ембріональних протеїнів курки з відповідними ад'ювантами є індукція протипухлинних антитілозалежних реакцій лімфоцитів – аутологічна сироватка крові вакцинованих тварин вірогідно підвищує (на 50–100 %) цитотоксичність клітин-ефекторів.

3. Результати дослідження є підґрунтям для застосування відібраних ад'ювантів мікробного походження при конструюванні ксеногенної протипухлинної вакцини на основі курячих ембріональних протеїнів як "універсальних" імуногенів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Recent advances in cancer vaccines: an overview / K. Itoh, A. Yamada, T. Mine, M. Noguchi // Jpn. J. Clin. Oncol. – 2009. – **39** (2). – P. 73–80.

2. Srinivasan R. Tumor antigens for cancer immunotherapy: therapeutic potential of xenogeneic DNA vaccines / R. Srinivasan, J. D. Wolchok // J. Transl. Med. – 2004. – **2** (1). – P. 12.

3. Potebnya G. P. Xenogenic cancer vaccines / G. P. Potebnya, T. V. Symchych, G. S. Lisovenko // Exp. Oncol. – 2010. – **32** (2). – P. 61–65.

4. Polyclonal antibodies to xenogeneic endothelial cells induce apoptosis and block support of tumor growth in mice / F. A. Scappaticci, A. Contreras, C. A. Boswell [et al.] // Vaccine. – 2003. – **21**. – P. 2667–2677.

5. Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center / P. J. Bergman, M. A. Camps-Palau, J. A. McKnight [et al.] // Vaccine. – 2006. – **24** (21). – P. 4582–4585.

6. Иммунологические и клинические аспекты применения ксеновакцинотерапии в лечении мела-

номы / В. И. Селедцов, М. А. Фельде, Д. М. Самарин [и др.] // Рос. онкол. журн. – 2006. – **4**. – P. 23–28.

7. Xenovaccinotherapy for colorectal cancer // V. I. Seledtsov, N. A. Niza, M. A. Felde [et al.] // Biomed. Pharmacother. – 2007. – **61** (2–3). – P. 125–130.

8. Винницкий В. Б. Онкогерминативная гипотеза опухолевого роста / В. Б. Винницкий // Эксперим. онкол. – 1989. – **11** (6). – С. 59–66.

9. Terada T. Expression of oncogene products, anti-oncogene products and oncofetal antigens in intraductal papillary-mucinous neoplasm of the pancreas / T. Terada, T. Ohta, Y. Nakanuma // Histopathology. – 1996. – **29** (4). – P. 355–361.

10. Developing chick embryos express a protein which shares homology with the nuclear pore complex protein Nup88 present in human tumors // J. Schneider, R. Linares, F. Martinez-Arribas [et al.] // Int. J. Dev. Biol. – 2004. – **48**. – P. 339–342.

11. Corocleanu M. A possible “universal” cancer vaccine that might cause an immune response against emerging cancer cells that originate from any tissue / M. Corocleanu // Med. Hypoth. – 2008. – **70**. – P. 381–383.

12. Протипухлинна активність вакцин, виготовлених на основі ембріональних тканин та бактеріального глікопротеїду / Г. П. Потебня, Г. В. Діденко, О. С. Дворщенко [та ін.] // Доп. НАНУ. – 2006. – **4**. – С. 172–177.

13. Експериментальні підходи до розробки діагностичної тест-системи із застосуванням ембріональних антигенів / Т. В. Симчич, О. М. Караман, І. М. Воєйкова [та ін.] // Наук. зап. НаУКМА. – 2010. – **106**. – С. 29–32.

14. Моделювання ксеногенних клітинних систем на твердих фазах з використанням пухлиноасоційованих та ембріональних антигенів і їх застосування в протипухлинній терапії / О. С. Дворщенко, Г. В. Діденко, О. І. Чередарчук [та ін.] // Доп. НАНУ. – 2007. – **12**. – С. 155–161.

15. Противоопухолевая эффективность применения вакцин на основе куриных эмбриональных белков в эксперименте / А. П. Кузьменко, Г. В. Диденко, Е. Г. Шпак [и др.] // Зб. наук. праць КМАПО. – 2011. – Вип. 20 (1). – С. 430–437.

16. Heat labile enterotoxin of E. coli: a potential adjuvant for transcutaneous cancer immunotherapy / J. Pitcovski, Z. Bazak, E. Wasserman [et al.] // Vaccine. – 2006. – **24** (5). – P. 636–643.

17. Иммуностимулирующая CpG ДНК: перспективы клинического применения в онкологии / С. В. Олишевский, В. В. Козак, Ю. В. Яниш [и др.] // Онкология. – 2006. – **8** (2). – С. 209–217.

18. Enhanced efficacy and reduced toxicity of multifactorial adjuvants compared with unitary adjuvants as cancer vaccines / C. L. Ahonen, A. Wasiuk, S. Fuse [et al.] // Blood. – 2008. – **111** (6). – P. 3116–3125.

19. Identification of transferrin as one of multiple EDTA-extractable extracellular proteins involved early chick heart morphogenesis / K. Isokawa, M. Rezaee, A. Wunsch [et al.] // J. Cell. Biochem. – 1994. – **54**. – P. 207–218.

20. Діденко Г. В. Розробка протипухлинних аутовакцин на основі білоквмісних метаболітів B. subtilis B-7025 та їх вплив на окремі реакції протипухлинного імунітету (експериментальні дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Г. В. Діденко. – К. : Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, 2008. – 19 с.

21. Пат. 59472 Україна. Спосіб одержання речовини з протипухлинною активністю / Потебня Г. П., Танасієнко О. А., Черемшенко Н. Л., Лісовенко Г. С., Чехун В. Ф. – Опубл. 15.09.03, Бюл. № 9.

22. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. H. Sloane // J. Biol. Chemistry. – 1957. – **226**. – P. 497–509.

23. Пат. на корисну модель 17825 Україна. Спосіб одержання імуногену з мікобактерій туберкульозу / Позур В. К., Сківка Л. М., Шпак Є. Г., Власенко В. В., Швець Ю. В., Грищенко Л. М., Турчанко Л. В. – Опубл. 16.10.06, Бюл. № 10.

24. Позур В. В. Вплив аутовакцини на основі пептидоглікану Staphylococcus aureus Wood 46 на динаміку росту експериментальних пухлин у мишей / В. В. Позур, Л. М. Сківка, Г. П. Потебня // Доп. НАНУ. – 2008. – **12**. – С. 145–149.

25. Синтез нанокомпозитів магнетит/гідроксоапатит та дослідження їх властивостей / П. П. Горбик, В. Н. Міщенко, А. Л. Петрановська [та ін.] // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – 2009. – **6** (4). – С. 1273–1281.

26. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / В. Г. Передерий, А. М. Земсков, Н. Г. Бычкова, В. М. Земсков. – К. : Здоров’я, 1995. – 211 с.

27. Фролов В. М. Ефективність аналізу циклоферину у хворих з тяжким перебігом епідемічного паротиту / В. М. Фролов, І. В. Лоскутова // Проблеми епідеміології, діагностики, клініки, лікування та профілактики інфекційних хвороб. – К. : Наукова думка, 2002. – С. 414–417.

28. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1980. – 290 с.

29. Костржевская Е. Г. Циркулирующие IgG-содержащие комплексы при злокачественном росте / Е. Г. Костржевская // Эксперим. онкол. – 1986. – **8** (3). – С. 10–17.

Г. В. Диденко[1], Г. С. Лисовенко[1], В. М. Базась[3], Н. Л. Черемшенко[1], И. М. Воейкова[1], О. О. Круць[1,2], Г. П. Потебня[1]
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ И РАДИОБИОЛОГИИ ИМЕНИ Р. Е. КАВЕЦКОГО НАН УКРАИНЫ[1], КИЕВ
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО[2]
НАЦИОНАЛЬНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ИМЕНИ П. Л. ШУПИКА[3], КИЕВ

МОДИФИКАЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА НА КСЕНОГЕННЫЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ПРОТЕИНЫ АДЬЮВАНТАМИ МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Резюме

Методами иммуноферментного анализа и иммуноблотта исследовано сыворотки крови мышей линии BALB/c, иммунизированных эмбриональными протеинами курицы в комбинации с адъювантами микробного происхождения. Анализ уровня накопления антител к этим протеинам и изучение антителозависимой цитотоксичности лимфоцитов по отношению к клеткам модельных опухолей разрешают сделать вывод, что использование адъювантов микробного происхождения – протеиносодержащих метаболитов культуральной жидкости (18,5 и 70 кДа) и липидной фракции клеток B. subtilis B-7025; пептидогликана клеток S. aureus способствует достоверному усилению иммунного ответа на фетальные антигены. Результаты исследования являются основой для конструирования ксеногенной противоопухолевой вакцины.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **эмбриональные протеины, адъюванты, иммунный ответ, противоопухолевая вакцина.**

H. V. Didenko[1], H. S. Lisovenko[1], V. M. Bazas[3], N. L. Cheremshenko[1], I. M. Voyeykova[1], O. O. Krutz[1,2], H. P. Potebnya[1]
R. YE. KAVETSKYI INSTITUTE OF EXPERIMENTAL PATHOLOGY, ONCOLONGY AND RADIOBIOLOGY OF NAS OF UKRAINE[1], KYIV
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY[2]
P. L. SHUPYK NATIONAL MEDICAL ACADEMY OF POSTGRADUATE EDUCATION[3], KYIV

MODIFICATION OF IMMUNE RESPONSE TO XENOGENEIC EMBRYONIC PROTEINS BY ADJUVANTS OF MICROBIAL ORIGIN

Summary

Blood serum of BALB/c mice immunized with chicken embryonic proteins (CEP) in combination with adjuvants of microbial origin has been investigated by methods of enzyme immunoassay and immunoblotting. The analysis of accumulation of antibodies to CEP and the study of antibody-dependent cytotoxicity of lymphocytes against the tumor cells of the model suggest that the use of adjuvants of microbial origin, such as protein-containing metabolites of culture fluid (18.5 and 70 kDa) and lipid fraction of B. subtilis B-7025 cells; S. aureus cell-wall peptidoglycan, contributes to credible strengthening of immune response to fetal antigens. The results of the study are the basis for creating xenogenic cancer vaccine.

KEY WORDS: **embryonic proteins, adjuvants, immune response, cancer vaccine.**

Отримано 30.04.15

Адреса для листування: *Г. В. Діденко, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна, e-mail: gennadij_d@ukr.net.*