

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2012
УДК 57.021.616 – 006.6

Ад'ювантні та імуномодуляторні властивості екстракту цитоплазматичних мембран *S.aureus* у моно- та комбінованій терапії солідної і асцитної форм карциноми Ерліха

Л.М.Сківка, О.Г.Федорчук, О.В.Мазій, Н.М.Храновська

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім.Р.С.Кавецького НАН України, ДУ «Національний інститут раку»
Київ, Україна

З метою дослідження ад'ювантних та імуномодуляторних властивостей екстракту цитоплазматичних мембран (ЦПМ) *S.aureus* у складі моно- та комбінованої протипухлинної терапії нелінійним мишам перещеплювали асцитну і солідну форми карциноми Ерліха, після чого проводили шестиденні курси бактеріального полімеру, застосованого самостійно та у поєднанні з цитотоксичним протипухлинним препаратом NSC-631570. Ад'ювантні властивості оцінювали за динамікою пухлинного росту, імуномодуляторні — за кількісними і функціональними показниками циркулюючих фагоцитів, котрі визначали методом проточної цитофлуориметрії. Показано синергічну взаємодію між ЦПМ і протипухлинним цитотоксичним препаратом, яка мала наслідком підвищення терапевтичної лікування карциноми Ерліха і супроводжувалась позитивною імуномодуляцією.

Ключові слова: карцинома Ерліха, патоген-асоційовані молекулярні структури, NSC-631570.

ВСТУП

Екстракт цитоплазматичних мембран (ЦПМ) *S.aureus* належить до так званих патоген-асоційованих молекулярних структур або патернів (ПАМП). ПАМП — це високо консервативні структурні або секретовані молекулярні компоненти, властиві бактеріям, вірусам, грибам або паразитам, котрі не ма-

ють аналогів у клітинах хребетних тварин [1]. Вони взаємодіють з трьома основними групами патерн-розпізнавальних рецепторів на поверхні тваринних клітин: toll-like рецепторами, NOD-like рецепторами і (RIG-I)-like рецепторами [2]. Наслідком такої взаємодії є активація Th1-імунової відповіді [3]. Агоністи TLRs є одними з перспективних імуноад'ювантів, що застосовуються в терапії різних форм раку [4, 5]. Більшою терапевтичною ефективністю застосування ПАМП характеризується у випадку високо-імуногенних пухлин [6]. Однак останнім часом описані позитивні наслідки імунотерапії в лікуванні низько-імуногенних пухлин, котрі досягаються комбінуванням імунотерапевтичних та інших ад'ювантних чинників [7, 8].

Рак Ерліха — недиференційована, гіперпліодна, нерегресуюча, швидко проліферуюча карцинома з високим ступенем перещеплюваності (відсутність сингенної і навіть видової специфічності) і відсутністю пухлиноспецифічних антигенів [9]. Існування асцитної і солідної форм пухлини робить її зручною моделлю для дослідження поведінки ізольованих пухлинних клітин в асциті, з одного боку, і в оточенні пухлинної стромы у складі солідної пухлини — з іншого. Рак Ерліха характеризується високим ступенем злоякісності, зумовленим низьким ступенем диференціації пухлинних клітин, добре піддається хіміотерапії і погано піддається імунотерапії через низьку імуногенність пухлинних клітин [10].

Як показали численні дослідження на тваринних моделях, відновлення скомпрометованої імунологічної реактивності у тварин-пухлиноносіїв, викликаної низькою імуногенністю пухлинних клітин, здатне результуватись повною імуно-опосередкованою регресією пух-

лини [11-13]. Одним з основних механізмів низької імунногенності пухлинних клітин є порушення механізмів процесингу і презентації пухлинних антигенів, зумовлене розладом експресії МНС I молекул та компонентів протеасомного комплексу [14].

У попередніх дослідженнях нами було показано, що протипухлинний препарат NSC-631570 здатний відновлювати порушену експресію компонентів протеасомного комплексу у пухлинних клітинах [15]. NSC-631570 справляє селективну цитотоксичну дію по відношенню до пухлинних клітин, не пошкоджуючи нормальні клітини, у тому числі й клітини імунної системи [16]. Показана також здатність препарату модулювати функції клітин імунної системи *in vitro* та модифікувати імунологічну реактивність *in vivo* [17]. Дія NSC-631570 на клітини є NFκB-незалежною [18], в той час як сигнальні шляхи, що активуються бактеріальними полімерами, включають активацію саме цього транскрипційного фактора [19]. Поєднання у складі комбінованої терапії двох препаратів з імуномодуляторними властивостями, котрі активують різні сигнальні шляхи, надає можливість синергічного впливу на клітини імунної системи.

Зважаючи на вище сказане, метою роботи було дослідити ад'ювантні та імуномодуляторні властивості екстракту ЦПМ *S.aureus* у складі моно- та комбінованої терапії асцитної і солідної форм карциноми Ерліха.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на нелінійних мишах розведення віварію ННЦ «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка, самцях віком 2-3 місяці, вагою 20-24 г. Для моделювання асцитної форми карциноми Ерліха мишам внутрішньочеревно вводили 1 x 10⁶ клітин в об'ємі 0,3 мл. Для моделювання солідної форми пухлини пухлинні клітини вводили підшкірно в об'ємі 0,1 мл.

Курсове введення бактеріальних полімерів (екстракт ЦПМ *S.aureus*, люб'язно наданий професором В.К.Позуром) та препарату NSC-631570 (Nowicky Farma, Австрія) полягало у 6 щоденних ін'єкціях (ПАМП — внутрішньом'язово в дозі 1,5 мкг/г, NSC-631570 — внутрішньочеревно в дозі 25 мкг/г).

Динаміку росту солідних пухлин контролювали за середньою тривалістю життя тварин (СТЖ). Термін закінчення дослідження цього показника був лімітований тривалістю життя

тварин в групі і розмірами пухлини. Індекс модуляції середньої тривалості життя (ІМ СТЖ) розраховували за формулою: ІМ СТЖ = (дослід — контроль) / контроль * 100%. Розміри первинної пухлини, оцінювали за середнім її об'ємом, обчислювали за формулою:

$$V = \frac{1}{6} \pi \left(\frac{d_1 + d_2}{2} \right)^3,$$

де d_1 d_2 — взаємноперпендикулярні перетини.

Протипухлинний ефект характеризували за індексом гальмування пухлинного росту, який розраховували за формулою: ІГПР = $\left(\frac{V_k - V_e}{V_k} \right) * 100\%$, де V_k і V_e — середній об'єм пухлини контрольних і дослідних тварин-пухлиноносіїв відповідно.

Динаміку росту асцитної пухлини контролювали за приростом ваги дослідних тварин, загальною кількістю пухлинних клітин та кількістю живих пухлинних клітин в асцитній рідині. Для виділення клітин асциту дослідним і контрольним тваринам-пухлиноносійм вводили 2-3 мл стерильного PBS внутрішньочеревно, після чого збирали асцитну рідину з клітинами і нашаровували її на пластикові чашки Петрі. Нашаровану суміш клітин інкубували 2 год у CO₂-інкубаторі за 37°C для забезпечення адгезії до поверхні чашки прилипаючих клітин (макрофагів). Клітини, що не адгезували, видаляли м'яким промиванням PBS. Для обліку загальної кількості пухлинних клітин і відносної кількості живих клітин використовували фарбування суміші трипановим синім.

Відносну кількість, а також фагоцитарну активність мононуклеарних фагоцитів периферичної крові досліджували методом проточної цитофлуориметрії [20].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням методів варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин з асцитною формою карциноми Ерліха введення ПАМП не викликало статистично достовірних змін тривалості життя порівняно з аналогічним показником у контрольних пухлиноносіїв. Внутрішньочеревне введення препарату NSC-631570 справляло виразний негативний вплив на цей показник у дослідних тварин (рис.1). Середня тривалість життя у мишей цієї групи складала 9,2±0,9 доби, що майже в 1,5 рази менше за контрольний показник. По-

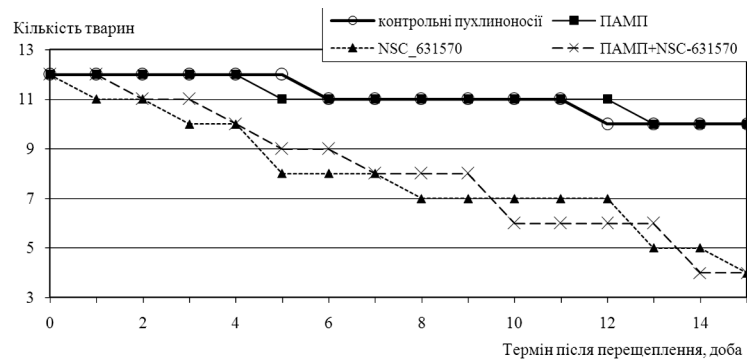


Рис. 1. Вплив екстракту цитоплазматичних мембран *S.aureus* у складі моно- та комбінованої терапії на тривалість життя мишей з асцитною формою карциноми Ерліха. У всіх групах n=12.

силена загибель тварин у дослідній групі спостерігалась із самого початку дослідження. Подібний результат спостерігався і у групі тварин, що отримали комбіновану терапію, до складу якої входив препарат NSC-631570.

Проведення усіх трьох терапевтичних курсів супроводжувалося незначним зростанням ваги дослідних тварин упродовж лікування, порівняно з контрольними пухлиноносіями (в середньому на 15%). Однак, оскільки приріст ваги тварини може відбуватись не лише за рахунок збільшення об'єму асциту, а й за рахунок гальмування пухлино-асоційованої кахексії, важливо було оцінити кількісні і популяційні показники асциту. Аналіз співвідношення клітинних фракцій в асцитній рідині проводили в динаміці: на 7 і 15 добу після трансплантації пухлинних клітин.

На момент закінчення терапевтичних курсів (7 доба) загальна кількість пухлинних клітин в асцитній рідині тварин, що отримали монотерапію NSC-631570 та комбіновану терапію,

не відрізнялась вірогідно від аналогічного показника у контрольних тварин-пухлиноносіїв (табл.1). Однак у тварин обох зазначених груп відносна кількість мертвих клітин перевищувала аналогічний показник у контролі на 31,9 і 24,4% відповідно.

Монотерапія ПАМП викликала посилення росту асцитної форми карциноми Ерліха: загальна кількість пухлинних клітин в асциті в 1,6 разів перевищувала аналогічний показник у контролі. Монотерапія NSC-632570 та комбінована терапія були асоційовані з підвищенням у складі асцитної рідини відносної кількості прилипаючих клітин, більш вираженого у випадку монотерапії цитотоксичним препаратом. Це є свідченням триваючого гострого запального процесу. Показники відносної кількості прилипаючих клітин в асциті у даній часовій точці характеризувалися значною індивідуальною варіабельністю, що, ймовірно, зумовлено проведенням досліджень на нелінійних тваринах. Можливо, саме запальний процес у пери-

ТАБЛИЦЯ 1

Вплив екстракту цитоплазматичних мембран *S.aureus* у складі моно- та комбінованої терапії на співвідношення клітинних фракцій в асцитній рідині мишей з карциномою Ерліха

Група тварин	7 доба після трансплантації пухлинних клітин			15 доба після трансплантації пухлинних клітин		
	Загальна кількість ККЕ** (*10 ⁶)	Кількість живих ККЕ (%)	Відносна кількість прилипаючих клітин (%)	Загальна кількість ККЕ (*10 ⁶)	Кількість живих ККЕ (%)	Відносна кількість прилипаючих клітин (%)
Контрольні пухлиноносії (n=20)	312,0±35,4	92,87±0,8	9,2±3,6	482,1±28,5	90,9±1,5	11,5±4,1
ПАМП (n=20)	494,2±65,8*	89,0±4,7	8,8±0,8	887,9±48,3*	93,5±2,9	9,4±2,9
NSC-631570 (n=20)	324,1±42,3	63,21±2,1*	21,1±2,9*	351,0±41,1*	83,5±2,7	19,4±2,7*
ПАМП + NSC-631570 (n=20)	369,1±50,0	70,2±1,1*	16,6±3,9	447,0±24,1	91,2±3,3	19,8±1,9*

Примітки: * – достовірність відмінностей з контрольними тваринами-пухлиноносіями p<0,05; ** – ККЕ – клітини карциноми Ерліха.

ТАБЛИЦЯ 2

Відносна кількість та фагоцитарний індекс мононуклеарних фагоцитів у периферичній крові тварин з асцитною формою карциноми Ерліха, що отримали моно- і комбіновану терапію екстрактом цитоплазматичних мембран *S.aureus*

Група тварин	Відносна кількість мононуклеарних фагоцитів (%)	Фагоцитарний індекс
Інтактні тварини, n= 10	48,1 ± 1,5	2,7 ± 0,4
Контрольні тварини-пухлиноносії, n=20	38,1 ± 2,1***	4,7 ± 0,7***
ПАМП*, n=20	32,9 ± 5,1***	3,7 ± 1,3
NSC-631570, n=20	46,7 ± 1,7**	2,1 ± 0,9**
ПАМП + NSC-631570, n=20	49,6 ± 2,2**	2,2 ± 0,7**

Примітки: ПАМП – монотерапія екстрактом цитоплазматичних мембран *S.aureus*; NSC-631570 – монотерапія препаратом NSC-631570; ПАМП + NSC-631570 – комбінована терапія; ** – достовірність відмінностей з контрольними тваринами-пухлиноносіями $p < 0,05$; *** – достовірність відмінностей з контрольними інтактними тваринами $p < 0,05$.

тонеальній рідині став однією з причин високої смертності тварин у цих дослідних групах.

На 15 добу приріст ваги тварин контрольної групи продовжував зростати. Ще більш стрімко зростала вага тварин, котрі отримали монотерапію ПАМП.

Натомість, у тварин, котрим проводили монотерапію препаратом NSC-631570, приріст ваги зупинився, а у тварин, яким проводили комбіновану терапію, набув помірного характеру. Аналіз, проведений на 15 добу після трансплантації пухлини, виявив статистично достовірно меншу кількість пухлинних клітин у тварин, що отримали монотерапію препаратом NSC-631570, і дещо зменшену їх кількість у тварин, що отримали комбіновану терапію. Гальмування пухлинного процесу у тварин обох зазначених груп супроводжувалося збільшенням відносної кількості прилипаючих клітин в асциті. У тварин, що отримали монотерапію ПАМП, кількість живих пухлинних клітин майже вдвічі перевищувала аналогічний показник у контрольних тварин з пухлинами. Відносна кількість прилипаючих клітин в асциті

тварин цієї групи не відрізнялась від такої у контрольних пухлиноносіїв.

На момент завершення експерименту (15 доба після трансплантації пухлини) відносна кількість циркулюючих мононуклеарних фагоцитів у контрольних тварин пухлиноносіїв була істотно знижена порівняно з інтактними тваринами (табл.2).

При цьому показники фагоцитарного індексу перевищували значення інтактних тварин в 1,8 разів, що може бути свідченням альтернативної поляризації фагоцитів периферичної крові. Монотерапія ПАМП супроводжувалася подальшим зниженням відносної кількості циркулюючих фагоцитів з підвищеними показниками фагоцитарної активності. Монотерапія NSC-631570 викликала нормалізацію показника відносної кількості мононуклеарних фагоцитів у периферичній крові й істотне зниження їх фагоцитарної активності, що може вказувати на помірну активацію запальних метаболічних реакцій цих клітин. Подібні результати зареєстровані також і в групі тварин, що отримали комбіновану терапію.

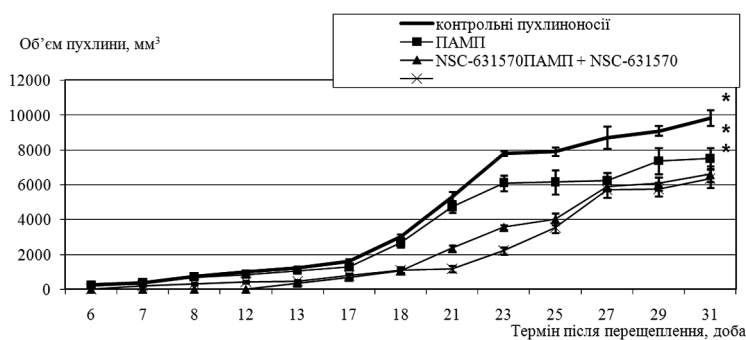


Рис. 2. Вплив екстракту цитоплазматичних мембран *S.aureus* у складі моно- та комбінованої терапії на пухлинний ріст у мишей із солідною формою карциноми Ерліха. У всіх групах $n=12$. ПАМП – монотерапія екстрактом цитоплазматичних мембран *S.aureus*; NSC-631570 – монотерапія препаратом NSC-631570; ПАМП + NSC-631570 – комбінована терапія.

ТАБЛИЦЯ 3

Відносна кількість та фагоцитарний індекс мононуклеарних фагоцитів у периферичній крові тварин із солідною формою карциноми Ерліха, що отримали моно- і комбіновану терапію екстрактом цитоплазматичних мембран *S.aureus*

Група тварин	Відносна кількість мононуклеарних фагоцитів (%)	Фагоцитарний індекс
Інтактні тварини, n= 10	48,1 ± 1,5	2,7 ± 0,4
Контрольні тварини-пухлиноносії, n=20	40,0 ± 2,0***	4,7 ± 0,7***
ПАМП*, n=12	29,7 ± 0,1**,***	4,1 ± 0,8
NSC-631570, n=12	46,1 ± 2,1	2,1 ± 0,9**
ПАМП + NSC-631570, n=12	51,1 ± 3,9**	2,9 ± 0,4**

Примітки: ПАМП – монотерапія екстрактом цитоплазматичних мембран *S.aureus*; NSC-631570 – монотерапія препаратом NSC-631570; ПАМП + NSC-631570 – комбінована терапія; ** – достовірність відмінностей з контрольними тваринами-пухлиноносіями $p < 0,05$; *** – достовірність відмінностей з контрольними інтактними тваринами $p < 0,05$.

Жодний із застосованих терапевтичних курсів не справляв статистично достовірного впливу на тривалість життя мишей із солідною формою КЕ. У групах тварин, котрим проводили монотерапію NSC-631570 і комбіновану терапію, у часовому проміжку з 15 доби після перещеплення пухлини і до завершення експерименту середня тривалість життя тварин була незначно вищою порівняно з контрольними пухлиноносіями.

Відмінності у впливі протипухлинного препарату NSC-631570 на тривалість життя дослідних тварин з різними формами карциноми Ерліха може пояснюватись наступним. За умов розвитку пухлинного процесу у перитонеальній порожнині внутрішньочеревне введення препарату імітує його внутрішньопухлинне введення і дозволяє оцінити вплив на пухлинні клітини і на клітини імунної системи, присутні у складі пухлини (в даному випадку імуноцити перитонеальної порожнини, головним чином, перитонеальні макрофаги) одночасно. Літературні дані свідчать про здатність NSC-631570 модулювати функціональну активність макрофагів. Відомо, що препарат посилює злиття фагосом з лізосомами і здатний викликати як прозапальну, так і протизапальну активацію фагоцитів [17]. Зважаючи на здатність препарату викликати запальну активацію фагоцитів, можна припустити, що запалення у черевній порожнині, викликане пухлинним процесом, посилювалось запальною активацією перитонеальних фагоцитів, спричиною дією препарату, що й викликало збільшення смертності тварин. Внутрішньочеревне введення препарату для мишей із солідним варіантом карциноми Ерліха є прикладом системного введення — способу, що характеризується найбільшою терапевтичною ефективністю згідно літературних даних і не викликає запалення та-

кого рівня, котрий був би несумісним з життям тварин [16].

Аналіз впливу застосованих терапевтичних курсів на пухлинний ріст показав наступне (рис.2). У контрольних пухлиноносіїв палпована пухлина з'являлась на дев'яту добу, а у тварин, що отримали NSC-631570, — на чотирнадцяту. Починаючи з 21 доби після трансплантації пухлинних клітин, спостерігалось стабільне гальмування росту пухлин, середнє значення якого становило 29%. Подібні результати зареєстровані і у тварин, що отримували комбіновану терапію. На момент закінчення експерименту розміри пухлин у тварин цих груп були майже на 35% меншими, порівняно з контролем. У мишей, що отримували монотерапію ПАМП, також сповільнювався пухлинний ріст, хоча й меншою мірою (на 24%).

Аналіз кількісних і функціональних показників циркулюючих мононуклеарних фагоцитів у тварин, що отримували різні курси ад'ювантної терапії, виявив здатність застосованих чинників справляти різноспрямований вплив на зазначені імунологічні характеристики (табл.3).

Як і у випадку асцитної форми карциноми Ерліха, відносна кількість мононуклеарних фагоцитів у периферичній крові тварин із солідною формою пухлини була знижена порівняно з аналогічним показником у інтактних тварин. При цьому фагоцитарна активність циркулюючих клітин була підвищеною, що може бути свідченням альтернативної поляризації. Монотерапія ПАМП супроводжувалася зниженням кількості мононуклеарних фагоцитів у периферичній крові лікованих тварин як порівняно з контрольними пухлиноносіями, так і порівняно з інтактними тваринами. Можливою причиною такого явища може бути посилена міграція циркулюючих фагоцитів у зону пухлинного

росту. Фагоцитарна активність циркулюючих фагоцитів у тварин, що отримали монотерапію ПАМП, була дещо знижена порівняно з контрольними пухлиноносіями, однак перевищувала значення інтактного контролю. Проведення монотерапії препаратом NSC-631570 та комбінованої терапії викликало відновлення кількісних показників циркулюючих фагоцитів та їх фагоцитарної активності до значень інтактного контролю.

ВИСНОВКИ

1. Монотерапія ПАМП стимулювала ріст асцитної форми карциноми Ерліха, що, ймовірно, пов'язано зі стимуляцією проліферації пухлинних клітин агоністами TLR, і не викликала статистично достовірних змін у досліджуваних показниках імунітету дослідних тварин.

2. Ріст солідної форми KE пригнічувався після монотерапії ПАМП.

3. Монотерапія протипухлинним препаратом NSC-631570 спричиняла гальмування пухлинного росту у тварин з обома формами KE у супроводі відновлення досліджуваних показників імунологічної реактивності лікованих тварин.

4. У тварин із солідною формою пухлини комбінована терапія більшою мірою гальмувала пухлинний ріст порівняно із монотерапією обома чинниками, що вказує на їх синергічний ефект.

ЛІТЕРАТУРА

1. Akira S. Pathogen recognition and innate immunity / S.Akira, S.Uematsu, O.Takeuchi // *Cell*. — 2006. — Vol.124. — P.783-801.
2. Uematsu S. Toll-like receptors and innate immunity / S.Uematsu, S.Akira // *J. Mol. Med.* — 2007. — Vol. 84. — P.712-725.
3. Takeda K. Toll-like receptors in innate immunity / K.Takeda, S.Akira // *Int. Immunol.* — 2005. — Vol. 17. — P.1-14.
4. Wenzel J. Toll-like receptor-agonists in the treatment of skin cancer: history, current developments and future prospects / J.Wenzel, D.Tormo, T.Tüting // *Handb. Exp. Pharmacol.* — 2008. — №183. — P.201-220.
5. Adams S. Toll-like receptor agonists in cancer therapy / S.Adams // *Immunotherapy*. — 2009. — Vol. 1. — P. 949-964.
6. Stone G.W. Nanoparticle-delivered multimeric soluble CD40L DNA combined with Toll-Like receptor agonists as a treatment for melanoma / G.W.Stone, S.Barzee, V.Snarsky et al. // *PLoS One*. — 2009. — vol. 4. — e7334.
7. Gupta M. Antitumor activity and antioxidant status of *Caesalpinia bonducella* against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice / M.Gupta, U.K.Mazumder, R.S.Kumar et al. // *J. Pharmacol. Sci.* — 2004. — Vol. 94. — P.177-184.
8. Mondal B. Inhibition of subcutaneous growth of Ehrlich ascites carcinoma (EAC) tumor by post-immunization with EAC-cell gangliosides and its anti-idiotypic antibody in relation to tumor angiogenesis, apoptosis, cell cycle and infiltration of CD4+, CD8+ lymphocytes, NK cells, suppressor cells and APC-cells in tumor / B.Mondal, S.Saha // *Indian. J. Exp. Biol.* — 2011. — Vol.49. — P.574-584.
9. Ozaslan M. Ehrlich ascites carcinoma / M.Ozaslan, I.D.Karagoz, I.H.Kilic, M.E.Guldur // *Afr. J. Biotechnol.* — 2011. — Vol. 10. — P.2375-2378.
10. Azab K.Sh. Implication of caspase-3 and granzyme B expression and activity in spleenocytes of ehrlich ascites carcinoma mice subjected to immunotherapy / K.Sh.Azab, S.A.Osman, N.M.El-Fatih // *N. Am. J. Med. Sci.* — 2011. — Vol.3. — P.371-377.
11. Shankaran V. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity / V.Shankaran, H.Ikeda, A.T.Bruce et al. // *Nature*. — 2001. — Vol.410. — P.1107-1111.
12. Higgins J.P. Enhancing immune responses to tumor-associated antigens / J.P.Higgins, M.B.Bernstein, J.W.Hodge // *Cancer Biol. Ther.* — 2009. — Vol.8. — P.1440-1449.
13. Moschella F. Combination strategies for enhancing the efficacy of immunotherapy in cancer patients / F.Moschella, E.Proietti, I.Capone, F.Belardelli // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2010. — Vol. 1194. — P.169-178.
14. Ashley M.P. In vivo H-2K and H-2D antigen expression in two allogeneic mouse tumours of low immunogenicity / M.P.Ashley, I. Kotlarski // *Immunol. Cell Biol.* — 1987. — Vol.65. — P.323-328.
15. Skivka L.M. The effect of monotherapy and combined therapy with NSC-631570 (Ukraine) on growth of low- and high-metastasizing B-16 melanoma in mice / L.M.Skivka, O.O.Trompak, Yu.I. Kudryavets et al. // *J. Oncol. Farm. Practice*. — 2011. — Vol. 17. — P.339-350.
16. Ernst E. Ukraine — a new cancer cure? A systematic review of randomised clinical trials / E.Ernst, K.Schmidt // *BMC Cancer*. — 2005. — Vol. 5. — P.1-7.
17. Mozhenok T.P. Effect of alkaloid sanguinarine and a pharmaceutical preparation Ukraine on modulation of vesicular membrane fusion and actin cytoskeleton of macrophages / T.P.Mozhenok, T.N. Beliaeva, E.A. Leont'eva, M.D. Faddeeva // *Tsitologiya*. — 2005. — Vol. 47 — P.860-865.
18. Habermehl D. Proapoptotic activity of Ukraine is based on *Chelidonium majus* L. alkaloids and mediated via a mitochondrial death pathway / D.Habermehl, B.Kammerer, R.Handrick et al. // *BMC Cancer*. — 2006. — Vol.6. — P.14.
19. Beutler B. Toll-like receptors: how they work and what they do / B.Beutler // *Curr. Opin. Hematol.* — 2002. — Vol. 9. — P.2-10.
20. Cantinieaux B. Staphylococcus aureus phagocytosis. A new cytofluorometric method using FITC and paraformaldehyde / B.Cantinieaux, C.Hariga, P.Courtoy et al. // *J. Immunol. Methods*. — 1989. — Vol. 121. — P.203-208.

Л.М.Скивка, А.Г.Федорчук, О.В.Мазий, Н.Н.Храновская. Адьювантніе и иммуномодуляторніе свойства экстракта цитоплазматических мембран *S.aureus* в моно- и комбинированной терапии солидной и асцитной форм карциномы Эрлиха. Киев, Украина.

Ключевые слова: карцинома Эрлиха, патоген-ассоциированные молекулярные структуры, NSC-631570.

С целью изучения адьювантных и иммуномодуляторных свойств экстракта цитоплазматических мембран (ЦПМ) *S.aureus* в составе моно- и комбинированной противоопухолевой терапии нелинейным мышам перевивали асцитную и солидную формы карциномы Эрлиха, после чего проводили шестидневные курсы бактериального полимера, использованного самостоятельно или в сочетании с цитотоксическим противоопухолевым препаратом NSC-631570. Адьювантные свойства оценивали по динамике опухолевого роста, иммуномодулирующие — по количественным и функциональным показателям циркулирующих фагоцитов, определяемым методом проточной цитометрии. Показано синергическое взаимодействие ПАМП с противоопухолевым цитотоксическим препаратом, которое результируется повышением терапевтической эффективности лечения карциномы Эрлиха и сопровождается позитивной иммуномодуляцией.

L.M.Skivka, O.G.Fedorchuk, O.V.Maziy, N.M.Khranovska. Adjuvant and immunomodulatory effects of *S.aureus* cytoplasmic membrane extraction in mono- and combined therapy of Ehrlich carcinoma. Kyiv, Ukraine.

Key words: Ehrlich carcinoma, pathogen-associated molecular patterns, NSC-631570.

To investigate the adjuvant and immunomodulatory effects of the *S.aureus* cytoplasmic membrane extraction (CPM) in mono- and combined anticancer therapy outbred mice were transplanted with ascite and solid form of Ehrlich carcinoma followed by six-day course of bacterial polymer used alone or in combination with cytotoxic anticancer drug NSC-631570. To estimate adjuvant effect tumor growth dynamics were evaluated, to characterize immunomodulating effect the number of circulating mononuclear phagocytes and their phagocytic activity were analyzed by flow cytometry. Our results suggest synergistic effect of PAMP and antineoplastic drug NSC-631570, that was accompanied by positive immunomodulation.

Надійшла до редакції 25.12.2011 р.