

Біологічна активність ліпополісахаридів грамнегативних бактерій

Е. Л. Здоровенко, В. К. Позур, М. Є. Кучеренко

Київський університет імені Тараса Шевченка
Вул. Володимирська, 64, Київ 01033, Україна

Ліпополісахариди (ЛПС, ендотоксини) — основний компонент клітинної стінки грамнегативних бактерій. В амфіпатичній макромолекулі ЛПС розрізняють ліпід А, коровий олігосахарид і О-специфічний ланцюг. Ендотоксини є біологічно активними молекулами. Вони можуть активувати синтез макрофагами запальних (фактор некрозу пухлин, інтерлейкіни (IL-1, IL-6, IL-8)) та протизапальних (IL-10) цитокінів, оксиду азоту, реакцію зв'язування комплементу, синтез антитіл, проявляти протипухлинну активність тощо. Окрім того, ЛПС мають і терапевтичне значення. Так, ЛПС (або окремі структурні компоненти їхніх макромолекул) здатні спричинювати протективний ефект в разі септичного шоку. Є відомості стосовно успішного використання їх для лікування раку в людей.

Вступ. Токсичні властивості ЛПС грамнегативних бактерій відомі з минулого сторіччя. Але лише в останні роки різко зріс інтерес до ряду біологічних активностей ендотоксинів. Така зацікавленість викликана значними успіхами в області хімії ендотоксинів. Ці досягнення дають можливість пізнати механізми взаємодії ЛПС з імунною системою, простежити шляхи переміщення цих біополімерів у макроорганізмі, розкрити зв'язок між будовою макромолекули ЛПС та її фізіологічними властивостями.

Через труднощі в роботі з цими біополімерами, багатоманітність процесів, що запускаються і протікають за участю ЛПС, значна кількість питань все ще залишається без відповіді і вимагає свого вирішення. Метою даного літературного огляду було розглянути досягнення і напрямки досліджень біологічної активності ЛПС в останні роки.

Основні структурні принципи організації макромолекули ЛПС. Більшість грамнегативних бактерій мають типову будову клітинної стінки, яка складається з зовнішньої мембрани, внутрішньої цитоплазматичної мембрани та тонкого шару пептидоглікану [1].

Двошарова зовнішня мембрана має асиметрич-

ну будову. У зовнішньому шарі присутні в основному білки та ЛПС, до складу ж внутрішнього шару входять білки та фосфоліпіди [2].

ЛПС — унікальний клас речовин, наявність яких є характерною ознакою грамнегативних бактерій. Вони мають своєрідну будову молекули, яка містить у своєму складі як гідрофільні, так і гідрофобні групи, що надає молекулі амфотерних властивостей (рис. 1) [3]. Гідрофобною частиною молекула занурюється в ліпідний шар зовнішньої мембрани, а гідрофільна частина знаходиться над поверхнею мікробної клітини [1, 4].

ЛПС, отриманий з представників різних груп грамнегативних бактерій, як правило, складається з гідрофільного гетерополісахариду, в якому розрізняють О-специфічний ланцюг і коровий олігосахарид, та ковалентно приєднаного до нього ліпідного компонента — ліпиду А (рис. 2) [3, 5]. О-специфічний полісахарид являє собою полімер, який складається з повторюваних ланок, що включають від 1 до 8 моносахаридних залишків. Структура повторюваних ланок дуже різноманітна у різних бактерій і визначає серологічну специфічність молекули ЛПС і мікробної клітини в цілому. В коровому олігосахариді розрізняють зовнішній кор, до складу якого входять гексози і аміноцукри (головним чином 2-аміно-2-дезоксид-Д-глюкоза і/або 2-аміно-2-дезоксид-Д-галактоза), та внутрі-

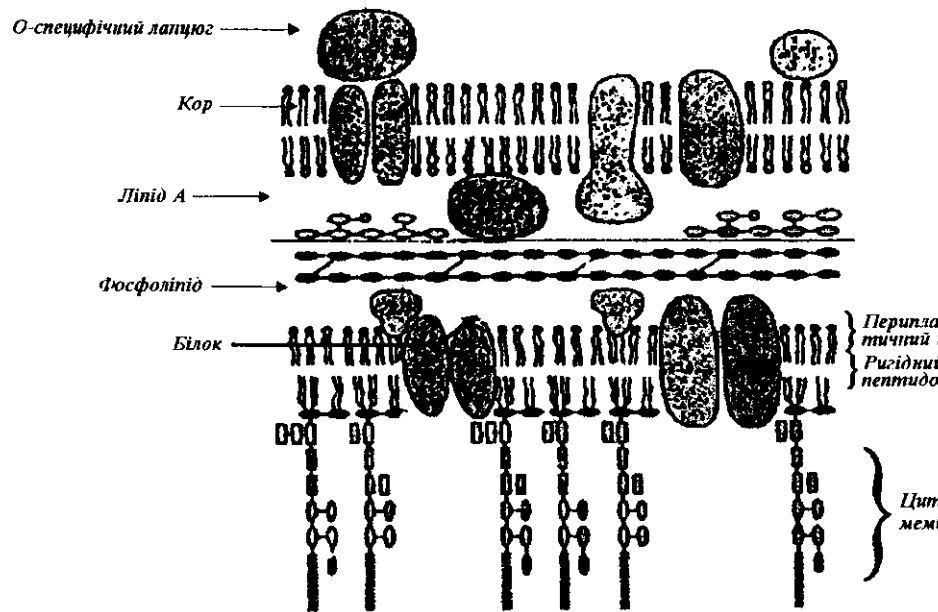
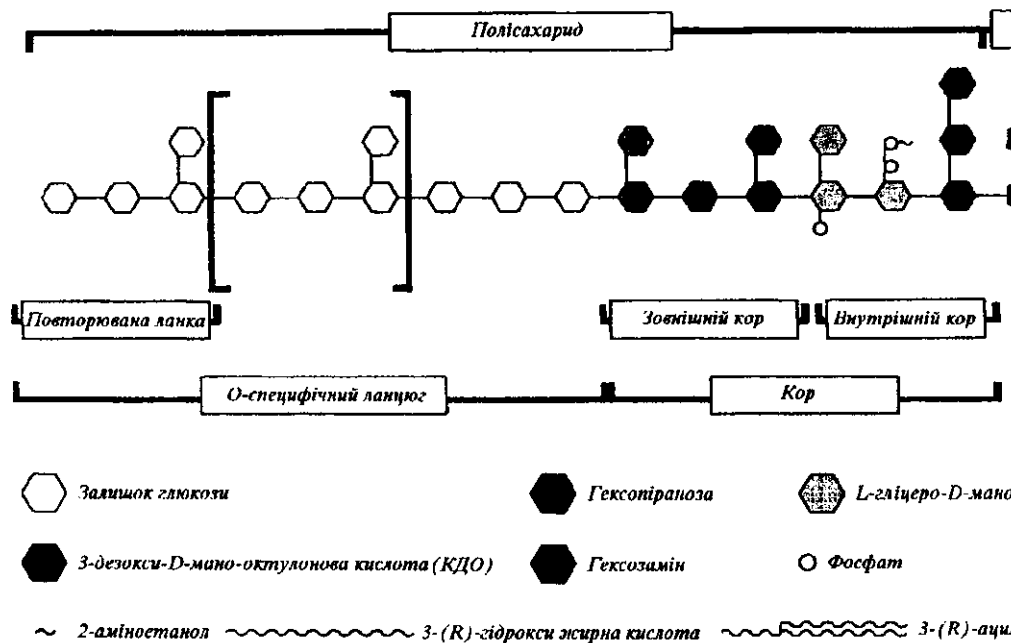


Рис. 1. Схема будови клітинної стінки грамнегативних бактерій [3].



шній кор, що включає гептози і унікальну октозу — 2-кето-3-дезоксіоктулонову кислоту або КДО. Кор має більш консервативну структуру, ніж О-ланцюг. Структурні розбіжності в різних мікроорганізмів частіше спостерігаються в зовнішній ділянці кору. Ліпід А, який включається до шару ліпідів зовнішньої мембрани, зазвичай являє собою диглюкозамінфосфат, до якого приєднуються жирні кислоти. Ліпід А — це токсична та відповідальна за імунобіологічну активність частина макромолекули ЛПС. Разом з КДО-вмісною коровою ділянкою він формує найконсервативнішу частину макромолекули ЛПС. ЛПС взаємодіють з клітинами організму-хазяїна і тим самим індують синтез різних біоактивних медіаторів. Можливо, вони є найбільш потенційними і мультвалентними молекулами бактеріального походження. ЛПС грамнегативних бактерій відіграють роль бар'єрів між мікроорганізмом та оточуючим середовищем [6].

Таким чином, ЛПС — біополімери, розміщені в зовнішній мембрані мікробної клітини, які в більшості грамнегативних бактерій мають типову будову і включають до свого складу ліпід А, коровий олігосахарид та О-специфічний ланцюг.

Біологічна активність ЛПС. ЛПС як поверхневі структури бактеріальної клітини мають велике значення для процесу інфікування, що було показано в багатьох дослідженнях. Так, на чутливих і нечутливих до зараження ЛПС мишах було встановлено важливу роль ЛПС *Escherichia coli* в патогенезі гемолітичного уремичного синдрому [7], ЛПС *Helicobacter pylori* викликав симптоми гастриту при інфікуванні ендотоксином чутливих мишей СЗН/He, а в нечутливих СЗН/HeJ — не проявлялося жодних симптомів захворювання [8]. Показано, що ЛПС *Vibrio cholerae* є основним фактором високої інфекційності та патогенності цього мікроорганізму [9]. S-ЛПС *Fusobacterium nucleatum* пригнічував клітинний ріст та синтез ДНК у зрілих та зародкових фібробластів ясен людини, що може бути суттєвим для розвитку запалення ясен [10], ЛПС *Chlamidia trachomatis* призводив до загибелі сперматозоїдів людини [11]. З урахуванням цих даних видно, що ЛПС відіграють далеко не останню роль у процесі інфікування та розвитку патологічних змін макроорганізму. Цей процес досить складний і може розвиватися різними шляхами. Але в будь-якому випадку на перших етапах має відбуватися взаємодія ЛПС з імунокомпетентними клітинами хазяїна, що здійснюється за допомогою спеціальних рецепторів. При цьому спостерігається активація систем клітинного і гуморального імунітету макроорганізму, що призводить до проявлення таких біологічних ефектів, як лихоманка,

зміни в складі крові тощо, а в дуже високих концентраціях — до септичного шоку. Ініціація подібних ефектів відбувається завдяки активації секреції моноцитами/макрофагами запальних цитокінів — фактора некрозу пухлин α (TNF- α), інтерлейкінів: IL-1 β , IL-6 та IL-8 [12—16]. Так, при внутрішньовенному введенні рекомбінантного TNF- α людині спостерігаються симптоми, подібні до таких при септичному шоці [14].

Існує декілька типів взаємодій між ЛПС та специфічними рецепторами клітини, молекулами фосфатидилінозитол-заякореного білка mCD14, який відіграє ключову роль в активації клітин [17—20]. У випадку CD14 (негативних ендотеліальних та епітеліальних клітин) зв'язування ЛПС забезпечує розчинна його форма (sCD14) [21]. Приєднання ЛПС до CD14 відбувається завдяки ЛПС-зв'язуючому білку (LBP) [22—24]. А вже потім ЛПС/LBP-комплекс зв'язується з рецептором CD14. ЛПС/LBP/CD14-комплекс взаємодіє з ендотеліальними та деякими епітеліальними клітинами, в результаті чого розвивається запальна відповідь. ЛПС може нейтралізуватися шляхом взаємодії LBP/ЛПС-комплексу з ліпопротеїнами сироватки крові [25, 26] або шляхом поглинання LBP/ЛПС/CD14-комплексу нейтрофілами [27], у гранулах яких знаходиться білок, що підвищує бактерицидну активність сироватки ВРІ і має високу афінність щодо ЛПС. ВРІ/ЛПС-комплекс не може стимулювати моноцити або ендотеліальні клітини, перешкоджає зв'язуванню ЛПС з LBP і запобігає тим самим проявленню ендотоксичних властивостей ЛПС [28].

При високій концентрації ендотоксину відбувається CD14-незалежна стимуляція мононуклеарних клітин до продукування цитокінів. Вбудовування ЛПС у мембранну систему відбувається за допомогою LBP. Припускають, що LBP руйнує агрегати ЛПС, трансформує в менші одиниці і вбудовує їх у фосфоліпідний матрикс клітин. Причому з агрегованим ЛПС зв'язується саме LBP, а не CD14 [12, 29].

Всі ці процеси призводять до активації в клітині ряду мітоген-активованих кіназ, протеїнкінази С, кіназ родини Src і до секреції клітиною комплексу цитокінів, що й спостерігається за дії ЛПС [30].

Крім синтезу TNF- α , IL-6 та IL-8, ЛПС також стимулюють продукцію і гранулоцит-колонієстимулюючого фактора (G-CSF), макрофаг-колонієстимулюючого фактора (M-CSF) [14], епітеліального нейтрофіл-активуючого білка (ENA) [31], фактора агрегації тромбоцитів (PAF) [32], інтерферону γ (INF- γ). Окрім проінфламаторних ци-

токінів, у відповідь на стимуляцію ЛПС синтезуються антиінфламаторні цитокіни. Наприклад, такі, як IL-10 [12].

В останні роки з'являється все більше відомостей стосовно здатності ЛПС індукувати також синтез оксиду азоту (NO), який виконує різні біологічні функції в серцево-судинній, нервовій та імунній системах макроорганізму [34]. NO може бути причиною неправильного регіонального кровотоку, формування дифузійного бар'єра для кисню, пригнічення мітохондріального дихання [35] тощо. Встановлено, що цитокіни та ендотоксин є причиною активації NO-синтази (iNOS — фермент, який синтезує оксид азоту з L-аргініну) в кардіоміоцитах, макрофагах, гепатоцитах та інших клітинах. Це дає підставу припустити, що саме утворення NO веде до дисфункції міокарда при септичному шоці. Але щодо індукції синтезу NO при впливові цитокінів чи ендотоксину існують певні розбіжності.

На відміну від мишачих, макрофаги периферійної крові людини не продукують NO при стимуляції цитокінами, але продукують його при стимуляції нетрансформованими раковими клітинами [36]. Селективне пригнічення процесу синтезу оксиду азоту може повернути резистентність периферійних судин і бути корисним для лікування септичного шоку [37]. Тому більшість зусиль дослідників в останні роки були спрямовані саме на пошук цих речовин. Одним з таких інгібіторів є диметилсульфоксид, який пригнічує ЛПС- та цитокін-індукований синтез NO [38]. Піруват, лактат, оксалоацетат і фумарат спричинюють деякий інгібуєчий ефект на синтез NO гепатоцитами, фосфоенілпіруваткарбоксилаза, глюкокортикоїди і cAMP також блокують ЛПС- та цитокін-індукований синтез NO [39]. Динорфін (опіоїдний пептид) — модулятор функцій імунних клітин — також значно пригнічує ЛПС-індуковану продукцію NO та TNF- α [40].

Але макромолекула ЛПС, як було зазначено раніше, є складною за своєю будовою і окремі її структурні компоненти в різній мірі беруть участь у прояві того чи іншого виду біологічної активності. При фракціонуванні препаратів ЛПС (після гідролізу 1 %-м розчином оцтової кислоти) було встановлено, що фракція ліпиду А проявляє токсичність по відношенню до мишей, а полісахаридна фракція виявилася нетоксичною [41]. При внутрішньовенному введенні препаратів ЛПС та ліпиду А *S. typhimurium* у мишей виникає геморагічний некроз, тоді як O-полісахарид не викликає такої реакції [42]. Таким чином, ми бачимо, що центром прояву токсичності в макромолекулі ЛПС є ліпід

А, полісахаридна ж частина може лише дещо змінювати ступінь прояву її токсичності.

Тобто окремі структурні компоненти не є рівноцінними для прояву токсичності. Подібну картину можна спостерігати і для інших видів біологічної активності. В дослідженнях [43] показано, що O-специфічний ланцюг у препаратах ЛПС *E. coli*, можливо, збільшує антикомплементарну активність, ад'ювантність та призводить до збільшення периферійних лімфовузлів серед багатьох активностей ліпиду А [44], але при відсутності ліпиду А O-полісахарид не здатний виявляти всі ці активності. Крім того, іноді для проявлення біологічного ефекту необхідна ціла макромолекула ЛПС, і втрата будь-якого її компонента веде до втрати активності. Наприклад, ЛПС можуть проявляти ад'ювантні властивості. ЛПС, отриманий з *Klebsiella*, проявляв її в дуже сильній мірі. Після гідролізу макромолекули 1 %-м розчином оцтової кислоти окремі фракції (ліпід А і полісахаридна частина) не демонстрували цієї активності і навіть при їхньому змішуванні цей ефект не з'являвся [41]. Тобто для прояву ад'ювантності необхідна наявність ковалентного зв'язку між ліпідом А та полісахаридною частиною.

У світлі всіх наведених фактів може виникнути резонне запитання, чи існує взагалі зв'язок між структурою ЛПС та його біологічною активністю? Лише в останні роки почав з'являтися суттєвий прогрес у вивченні цього питання, що пов'язано з розвитком нових точних методів досліджень, наприклад, таких, як ЯМР, а також останніх наукових досягнень. Так, при використанні синтетичних аналогів ліпиду А ентеробактерій різного ступеня завершеності було встановлено, що особливості будови саме гідрофільної частини молекули ліпиду А є важливими для проявлення токсичного ефекту та протипухлинної активності [44]. Повну біологічну активність мають молекули, які складаються з двох залишків глюкозаміну, містять дві фосфорильні групи та шість залишків жирних кислот з певною локалізацією, як у ліпіді А *E. coli* (рис. 3) [45].

Ліпід А *Porphyromonas gingivalis*, в якому відсутній замісник у положенні 4 залишку нередукуємого глюкозаміну, має в 100 разів меншу ендотоксичну активність у порівнянні з ЛПС ентеробактерій, але цей препарат виявляє більшу здатність до індукування синтезу TNF моноцитами людини при вимірюванні мінімальної стимулюючої дози [46, 47].

Щодо інших видів активності, то наявні відомості є не такими детальними. Так, при дослідженні синтетичних аналогів ліпиду А було також показано, що фосфатні групи не впливають на

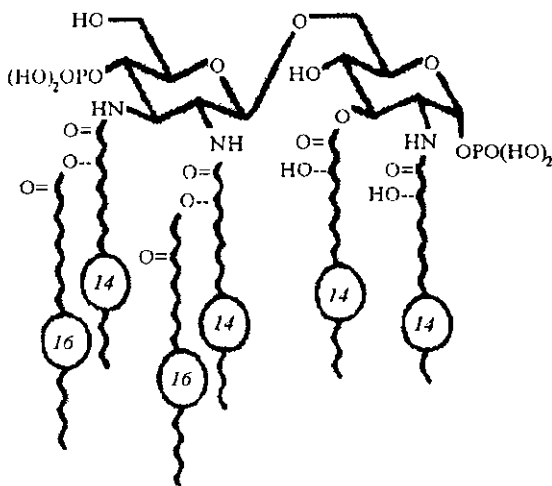


Рис. 3. Будова молекули ліпіда А

мітогенність [48]. А для прояву пірогенності не є обов'язковою присутність двох сахаридних залишків у гідрофільній частині ліпіду А. Пірогенність, хоч і слабшу, демонструють деякі моносахаридні аналоги ліпіду А та дисахаридні аналоги, які не містять жодного ацилоксиацильного залишку [44]. При вивченні гетерогенного ліпіду А *S. minnesota* (з різним ступенем заміщення жирних кислот) було виявлено, що найактивнішим індуктором секреції серотоніну і фактора агрегації тромбоцитів був гептаацильний монофосфорильований ліпід А, а дифосфорильований гексаацильний гомолог виявився взагалі неактивним [49].

Але для прояву біологічної активності ЛПС (або ліпіду А) важлива не тільки їхня хімічна структура, а й тривимірна супрамолекулярна структура. Так, ліпід А з чітким переважанням ламелярної структури (*Rhodobacter capsulatus* і *Rhodospseudomonas viridis*) є ендотоксично неактивним і втрачає здатність індукувати продукцію цитокінів. При змішаній ламелярно-неламелярній структурі (монофосфорильований ліпід А *S. minnesota*) він має меншу токсичність *in vivo*, але може індукувати цитокіни *in vitro*. Ліпід А з чіткою тенденцією формувати неламелярну структуру (*S. minnesota* і *Rhodocyclus gelatinosus*) має повну ендотоксичність *in vitro* та *in vivo*. І, навпаки, антикомплементарна активність найбільша при ламелярній структурі [50].

Отже, ми бачимо, що навіть незначні структурні зміни в будові макромолекули ЛПС можуть корінним чином змінити її біологічну активність.

Антигенні детермінанти. ЛПС є поверхневими структурами клітини, які здатні викликати синтез антитіл, специфічних до певних частин їхньої макромолекули. Їхні властивості як основного терmostабільного антигена бактеріальної клітини, так званого О-антигена, використовуються для класифікації грамнегативних бактерій (за серотипами) [51, 52]. Крім того, О-специфічний полісахаридний ланцюг визначає імуноспецифічність клітини. Склад О-антигенів різних бактерій дуже різноманітний. Наприклад, у *Legionella pneumophila* він такий: рамноза, глюкоза, неідентифікована дідезоксигексоза XI та КДО [53], для *Pseudomonas aeruginosa* типовими є N-ацетильовані 6-дезоксигексозаміни та кислі моно- та діаміносахари, для *Pseudomonas syringae* — рамнани, які побудовані з трисахаридних або тетрасахаридних повторюваних ланок. [54—56]. Більшість їхніх О-антигенів має боковий моносахаридний ланцюг [57, 58]. Усі структурні компоненти макромолекули ЛПС (ліпід А, кор, О-ланцюг) здатні викликати гуморальну відповідь — продукцію природних антитіл і активацію реакції комплементу, чим організм хазяїна забезпечує собі захист проти зараження ЛПС або грамнегативними бактеріями. Так, у мишей, що були не здатні синтезувати або мали дефекти в синтезі імунoglobулінів, не відбувалося очищення кровотоку від патогенних субстанцій (у тому числі й ЛПС) [59]. Але в залежності від способу введення антигенів організм хазяїна виробляє у відповідь різні класи антитіл, щоб забезпечити собі максимальний захист. При пероральному введенні мишам інкапсульованих кліти *E. coli* спостерігається гуморальний імунітет проти ЛПС, причому за такого способу введення синтезуються в основному антитіла класу IgG1a, а при внутрішньоочеревинному введенні — класів IgM і IgG2 [52].

Використовуючи моноклональні антитіла (mAb), специфічні до ЛПС (або його окремих структурних компонентів), можна отримати пасивну протекцію організму хазяїна проти патогенів [60]. Але в такому випадку не всі вони відіграють однакову роль у створенні пасивного імунітету. При дослідженні mAb проти S-ЛПС, R-ЛПС, ЛПС-білкового комплексу і поринів (білків пор зовнішньої мембрани) *Salmonella typhimurium* у мишей було встановлено, що лише mAb проти S-ЛПС, а не R-ЛПС і специфічних до ЛПС-білкового комплексу давали повний захист проти дії ендотоксину та мишачого тифу, тоді як суміш mAbs, специфічних до поверхневих, але не «гарячих» епітопів поринів подовжували виживання мишей з ендотоксимією, але не захищали проти тифу, інші — не виявляли протективних властивостей

[61]. Моноклональні антитіла, специфічні до корового олігосахариду та O-специфічного ланцюга *Yersinia enterocolitica*, при пероральному зараженні тварин не виявляли захисту, а при внутрішньовенному введенні патогена протективний ефект проявляли лише mAb проти O-полісахариду [62]. При вивченні септичного шоку на собаках було показано, що при внутрішньочеревинному зараженні клітинами *E. coli* протективний ефект проявляють mAb, специфічні до O-ланцюга (виживає 4/5 дослідних тварин порівняно з контролем — 1/8) [63]. При використанні mAb, специфічних до ліпиду А, спостерігалось специфічне пригнічення синтезу фактора некрозу пухлин та інтерлейкіну-1 периферійними мононуклеарними клітинами людини, які стимулювалися будь-яким типом ЛПС чи ліпиду А. При попередній обробці ЛПС цими mAb спостерігається значне зменшення рівня смертності при ендотоксичному шоці [64].

Виходячи з вищевказаного, ми бачимо, що при використанні mAb можна отримати пасивну протекцію макроорганізму. Це може виявитися дуже корисним для лікування грамнегативних інфекцій, в тому числі і септичного шоку.

Мімікрія структур хазіяна. При вивченні структури антигенних детермінант ЛПС було виявлено здатність мікроорганізмів до мімікрії структур хазіяна, що робить свій внесок у їхню патогенність. Наприклад, мімікрія різних глікофінголіпідів може бути бар'єром для цих бактерій від імунної системи макроорганізму. При дослідженні ЛПС *Haemophilus influenzae* було знайдено галактозвмісний антиген *pk*-епітоп α -D-Galp(1→4)- β -D-Galp, подібний до вуглеводної частини глікофінголіпідів [65].

У хворих на Guillain-Barre або синдромом Miller Fisher виявлено антитіла, які дають перехресні реакції з ЛПС та з клітинами *Campylobacter jejuni*. Подібні сіалідазо-чутливі епітопи є на нервових клітинах [60]. Лакто-N-неотетраза, яка була ідентифікована як термінальна ЛПС-ланка у патогенних видів нейсерій, ідентична такій, що присутня в клітинах організму людини на вуглеводній частині глікофінголіпідів. O-полісахаридний ланцюг високомолекулярного ЛПС *Helicobacter pylori* мімікрує антигени груп крові за Льюїсом [67].

Роль мімікрії для бактеріальної клітини поки що до кінця не вивчена, але вона може мати значення для камуфляжу бактерій, індукції аутоімунітету та супресії імунітету в організмі хазіяна, що має такі інфекції.

Вплив стану макроорганізму на відповідь при грамнегативних інфекціях. Для формування відповіді хазіяна на ендотоксин або грамнегативні бак-

терії значну роль відіграє і стан макроорганізму. При дослідженні мишей різного віку було показано, що старі миші були чутливішими до летальної токсичності ЛПС та TNF, ніж молоді (майже в 16 разів при розрахунку на 1 кг ваги). У молодих особин спостерігався нижчий рівень у крові TNF- α , IL-1 α та IL-6, рівень інтерферону- γ (INF- γ) був однаковим [68]. У людей, які курять, у відповідь на інгаляцію ЛПС спостерігалось збільшення рівня цитокінів порівняно з тими, що не курять. Концентрація IL-8, IL-1 β та TNF- α збільшувалась в обох досліджуваних групах, але концентрація IL-1 β була значно вищою у людей, що курять [69]. Також було зафіксовано підвищену концентрацію в плазмі крові TNF- α , IL-1, IL-6 у пацієнтів з алкогольним гепатитом [70]. Тому провели дослідження щодо зміни концентрації цитокінів, індукованих ЛПС, у пацюків з нормальним раціоном і тих, до їжі яких входив етанол. У результаті дослідження було показано, що в останніх збільшувався рівень TNF- α та IL-6 порівняно з тваринами з нормальним раціоном [70].

Терапевтичний ефект ЛПС. ЛПС грамнегативних бактерій можуть бути корисними і для людини. ЛПС *Pantoea agglomerans* був здатним інгібувати залежність від морфію при дослідженні на мишах [71]. Ліпід А *Rhodobacter sphaeroides* є антагоністом багатьох біологічних ефектів ендотоксинів. Він пригнічує ендотоксин-індукований синтез фактора некрозу пухлин людини, ендотоксин-індуковану генерацію оксиду азоту на мишачих макрофагах [72]. На моделі мишей, у яких було індуковано гіперчутливість до ендотоксину, встановлено, що монофосфорильований ліпід А (МЛА) забезпечує профілактичний захист проти септичного шоку. Введення гіперчутливим тваринам низьких доз МЛА знижувало у них ендотоксичну летальність та ендотоксин-індуковані пошкодження печінки. Ці ефекти пов'язані зі здатністю МЛА супресувати акумуляцію TNF- α та INF- γ у кровотоці тварин [73].

Використання ЛПС для терапії ракових захворювань. Ще 100 років тому був показаний терапевтичний ефект змішаної бактеріальної вакцини, так званого токсину Колея, для раку людини. З 204 ракових пацієнтів 42 % виживали протягом 5 років, якщо отримували лише цю вакцину [74]. Тобто імунна система пацієнтів була здатна атакувати власні ракові пухлини і бути причиною їхньої повної регресії. Але в той період не було знань про механізми, що спричинювали регресію пухлин під дією токсину Колея. На жаль, клінічна зацікавленість у терапії Колея зникла, поступаючись радіотерапії та хіміотерапії [74].

У 1943 році був ідентифікований ЛПС як активний агент токсину Колея [75] і з того часу механізми, що забезпечують терапевтичний ефект ЛПС при лікуванні раку, почали вивчати на тваринних моделях. Так, було встановлено, що при внутрішньовенному введенні хімічно синтезованого аналога ліпиду *A. E. coli* — глюкозамін-4-фосфату з (R)-3-тетрадеканоїл-окситетра-оксидеканоїльною групою в позиціях C-2 та C-3 рівень пригнічення пухлинного росту зменшувався на 42,8 % [76]. Іммобілізовані ЛПС *E. coli* та *S. minnesota* були здатні стимулювати клітини селезінки мишей та пацюків відповідно, які набували досить сильну цитолітичну активність. При ін'єкції таких клітин тваринам з раковими захворюваннями у них спостерігалися супресія росту пухлин та подовження часу виживання [77]. Як згадувалося раніше, ЛПС добре знаний як потенційний імуностимулятор — мультицитокін-індуктор і відомо, що він може проявляти протипухлинну активність завдяки захисним механізмам організму хазяїна. При вивченні препаратів ЛПС із *E. coli*, *S. minnesota*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* показано їхню здатність викликати некроз пухлин, що супроводжується токсичністю у мишей. А в ендотоксинрезистентній лінії мишей ці препарати (навіть у дуже високих дозах) не впливають на ріст пухлин [78]. Тобто реакція хазяїна відіграє центральну роль у некрозі пухлин на тваринних моделях. Практично було показано, що ЛПС був причиною регресії пухлин. При дослідженні протипухлинної активності препаратів ЛПС *Neisseria meningitidis*, *S. minnesota*, *E. coli*, *Bordetella pertussis* на пацюках була показана кореляція між протипухлинним ефектом *in vivo* та їхньою здатністю індукувати IL-1 *in vitro*, але не між здатністю індукувати NO, TNF та IL-6 [79].

Поступово почали з'являтися роботи, у яких йшлося про те, що ЛПС можна використовувати і для боротьби з раком людини, як це раніше було показано на тваринах. Спочатку терапія раку людини обмежувалася лише однією спробою, бо ЛПС дуже важко отримати у вигляді достатньо очищеного і стабільного препарату, до того ж він є токсичним. ЛПС, одержаний з *Salmonella*, вводили внутрішньовенно з тижневим інтервалом та поступовим збільшенням дози. Перед цим хворим вводили ібупрофен для протекції від токсичної дії ЛПС [80, 81]. При цьому дозозалежно в організмі збільшувалася продукція TNF та IL-6. Введення ібупрофена не впливало на продукцію цитокінів. Було встановлено, що максимальною толерантною дозою є 8,0 мг/кг. Але, як виявилось, після першого введення ЛПС хворим у них збільшувалася про-

дукція цитокінів, а при повторному введенні через 2 тижні вона зменшувалася. Зарадити цьому вдалося введенням хворим INF- γ за 12 год до повторної ін'єкції ЛПС [82]. При обробці моноцитів/макрофагів INF- γ в комбінації з ЛПС у них виявляється додаткова протипухлинна активність [83]. Ці дослідження показали, що ЛПС може викликати регресію пухлин і в людини, але максимальна толерантна доза при такому способі введення виявилася заниженою для ефективної терапії раку у людей.

Для вирішення цієї проблеми було зроблено спробу підшкірного введення ЛПС. Для цього використовували препарат низькомолекулярного ЛПС *Pantoea agglomerans*, котрий був стандартизований та стабілізований як лікарський препарат [84]. При такому способі введення токсичність була в 230—380 разів менше [85]. При вивченні протипухлинної дії згаданого препарату на мишах з сингенними пухлинами, Meth A фібросаркомою, MN134 гепатомою та легеневою саркомою Льюїса виявлено помітний супресивний ефект його на ріст усіх пухлин, включаючи 75 % повної регресії Meth A пухлин. При попередній обробці тварин анти-TNF-антитілами цей ефект знижувався, тому індукція синтезу TNF, можливо, відіграє критичну роль у прояві протипухлинного ефекту ЛПС *P. agglomerans* [86]. Він показав позитивний результат при лікуванні пацієнта з прогресуючим раком шлунку з множинними метастазами в печінці (H3) та паралельному застосуванні хіміотерапії. Дозу поступово збільшували від 0,1 до 70 мг. Серед побічних ефектів спостерігався лише жар порівняно з гамою побічних ефектів при внутрішньовенному введенні (жар, лихоманка, нудота та ін.) [78, 80, 86]. Для зменшення побічних ефектів препарати ЛПС *P. agglomerans* вводили в комбінації з циклофосфамідом, що викликає індукцію та довгу продукцію не тільки широкого некрозу пухлин, але також і клітинного протипухлинного ефекту, який може виявитися обов'язковим для повної регресії пухлини [87]. Протипухлинна активність не залежала від структури ліпиду А, і автори припускають, що вона залежить від особливостей структури полісахаридного ланцюга [88].

При дослідженні молекулярних механізмів протипухлинної активності ЛПС *P. agglomerans* було виявлено, що вони є результатом тривалого постачання малих кількостей ЛПС, продукції вільного TNF та активації клітин, таких як макрофаги, які мають на своїй поверхні мембран-зв'язаний ргоTNF [89]. Але в деяких випадках ЛПС не тільки не викликає регресії, а навпаки, стимулює ріст пухлин [90].

Таким чином насамкінець можна зробити висновок, що ЛПС — це складні макромолекули, які мають цілий спектр біологічних активностей. Але поруч з токсичним впливом на макроорганізм вони можуть використовуватися і як засіб боротьби з такою страшною хворобою, як рак. Перші кроки в цьому напрямку вже зроблені і в майбутньому це відкриває значні перспективи. Подальшого дослідження вимагають серологічна класифікація і серологічна ідентифікація мікроорганізмів, що неможливо без детального вивчення антигенних детермінант ліпополісахаридної природи. Навіть у таких добре вивчених організмів, як *Salmonellae* та *E. coli*, будова O- та K-антигенів до кінця не з'ясована.

Безсумнівно, що наступні дослідження будуть спрямовані не лише на види, які мають практичне значення сьогодні, а також і на маловивчені види, роль котрих на даний час може сильно недооцінюватися.

Значні зусилля необхідно буде направити на вивчення зв'язку між хімічною структурою та фізіологічними властивостями, оскільки до теперішнього часу прогрес у цій галузі досліджень відбувався дуже повільно. Особливо важливо встановити зв'язок між первинною структурою, конформацією в розчині та фізіологічними властивостями, в тому числі і з протипухлинною дією ЛПС.

Э. Л. Здорovenko, В. К. Позур, Н. Е. Кучеренко

Биологическая активность липополисахаридов грамотрицательных бактерий

Резюме

Липополисахариды (ЛПС, эндотоксины) — основной компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий. В амфипатической макромолекуле ЛПС различают липид А, коровый олигосахарид и О-специфическую цепь. Эндотоксины являются биологически активными молекулами. Они могут активировать синтез макрофагами воспалительных (фактор некроза опухолей, интерлейкины (IL-1, IL-6, IL-8)) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов, оксида азота, реакцию связывания комплемента, синтез антител, проявляют противоопухолевую активность и т. п. Кроме того, ЛПС имеют и терапевтическое значение. Так, ЛПС (или отдельные структурные компоненты их макромолекул) способны проявлять протективный эффект при септическом шоке. Есть сведения об успешных попытках использования их для лечения рака у людей.

E. L. Zdorovenko, V. K. Pozur, N. E. Kucherenko

Biological activity of lipopolysaccharides of gram-negative bacteria

Summary

Lipopolysaccharides are the main component of gram-negative bacteria's cell wall. The amphipatic molecule of LPS consists of lipid A, core oligosaccharides to synthesize of proinflammatory (such as tumor necrosis factor, interleukins: IL-1, IL-6, IL-8) and

antiinflammatory cytokines (interleukin-10), nitric oxide, antibodies, complement activation, antitumor activity. Thereto lipopolysaccharides own therapeutical effects. They (or some their structural components) are successfull in the treatment of human's cancer, septic shock.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Nikaido H., Nakase T. The outer membrane of gram-negative bacteria // *Advances in Microbial Physiology* / Eds A. H. Rose, J. G. Moriss.—London: Acad. press, 1979.—Vol. 20.—P. 163—250.
2. Lygtenberg B., Van Alphen L. Molecular architecture and function of the outer membrane of *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria // *Biochim. et biophys. acta.*—1983.—787.—P. 51—115.
3. Faetz Ch. R. H. Biochemistry of endotoxins // *Annu. Rev. Biochem.*—1990.—59.—P. 129—170.
4. Kiestschel E. Th., Brade H. Bacterial endotoxins // *Sci. Amer.*—1992.—267.—P. 54—61.
5. Барбанец Л. Д. Эндотоксины грамотрицательных бактерий: структура и биологическая роль // *Микробиол. журн.*—1994.—56, № 3.—С. 76—98.
6. Захарова И. Я. Молекулярно-биологические механизмы функционирования микробных гликополимеров и карбогидраз // *Микробиол. журн.*—1998.—60, № 6.—С. 3—25.
7. Karpman D., Connell H., Svensson M., Schuetz F., Alm P., Sranborg C. The role of lipopolysaccharide and Shiga-like toxin in a mouse model of *Escherichia coli* 0157. H7 infection // *J. Infect. Diseases.*—1997.—175.—P. 611—620.
8. Moran A. P., Appelmek B. J., Aspinal G. O. Molecular mimicry of host structures by lipopolysaccharides of *Campylobacter* and *Helicobacter* spp.: implications in pathogenesis // *J. Endotoxin Res.*—1996.—3, N 6.—P. 521—531.
9. Shimizu T., Yanagihara Y., Isshiki Y., Kawamata Y., Kondo S., Hisatsune K. Biological activities of lipopolysaccharide isolated from *Vibrio cholerae* 0139, a new epidemic strain for recent cholera in Indian subcontinent // *Microbiol. Immunol.*—1994.—38, N 6.—P. 471—474.
10. Onoue S., Niwa M., Isshiki Y., Kawahara K. Extraction and characterization of the smooth-type lipopolysaccharide from *Fusobacterium nucleatum* JCM 8532 and its biological activities // *Microbiol. Immunol.*—1996.—40, N 5.—P. 323—331.
11. Galoliero F., Sommesse L., Gorga F., Galoliero E., Rizzo A., Ajello M. Toxic effect on human spermatozoa by *Chlamidia trachomatis* purified lipopolysaccharide // *FEMS Microbiol. Lett.*—1997.—115.—P. 197—200.
12. Schromm A. B., Brandenburg K., Rietschel E. T., Flad H.-D., Carroll S. F., Seydel U. Lipopolysaccharide-binding protein mediates CD-14-independent intercalation of lipopolysaccharide into phospholipid membranes // *FEBS Lett.*—1996.—399.—P. 267—271.
13. Mackensen A., Galanos Ch., Wehr U., Engelhardt R. Endotoxin tolerance: regulation of cytokine production and cellular changes in response to endotoxin application in cancer patients // *Eur. Cytokine Netw.*—1992.—3, N 6.—P. 571—579.
14. Takada K., Ohno N., Yadomae T. Binding of lysozyme to lipopolysaccharide suppresses tumor necrosis factor production *in vivo* // *Infect. and Immunol.*—1994.—62, N 4.—P. 1171—1175.
15. Zdorovenko G. M., Vodyanik M. A., Yakovleva L. M., Chernyshov V. P. Biological activities on mammals of *Pseudomonas syringae* lipopolysaccharides in connection with structural features of macromolecule.—Galway: Eurocard, 1999.—P. 134.

16. Варбанец Л. Д., Прокопьева Е. Д., Прокопьев А. А., Кетлинский С. А. Исследование индукции фактора некроза опухоли и интерлейкина-1 под воздействием гликополимеров, выделенных из *Pseudomonas solanacearum* и *Clavibacter michiganense* // Микробиол. журн.—1990.—52, № 5.—С. 17—22.
17. Ferrero E., Jiao D., Tsuberi B. Z., Tesio L., Rong G.W., Haziot A., Goyert S. M. Transgenic mice expressing human CD14 are hypersensitive to lipopolysaccharide // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1993.—90, N 6.—P. 2380—2384.
18. Golenbock D. T., Liu Y., Millhan F. H., Freeman M. W., Zoeller R. A. Surface expression of human CD14 in Chinese hamster ovary fibroblasts imparts macrophage-like responsiveness to bacterial endotoxin // J. Biol. Chem.—1993.—268, N 29.—P. 22055—22059.
19. Lee J. D., Kato K., Tobias P. S., Kurhland T. N., Ulevitch R. J. Transfection of CD14 into 70Z/3 cells dramatically enhances the sensitivity to complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein // J. Exp. Med.—1992.—175, N 6.—P. 1697—1705.
20. Wright S. D., Ramos R. A., Tobias P. S., Ulevitch R. J., Mathison J. C. CD14 a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein // Science.—1990.—249, N 4975.—P. 1431—1433.
21. Pugin J. Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells in mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1993.—90, N 7.—P. 2744—2748.
22. Gallay P., Heumann D., Le Roy D., Barras C., Glauser M. P. Lipopolysaccharide-binding protein as a major plasma protein responsible for endotoxemic shock // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1993.—90, N 21.—P. 9935—9938.
23. Hailman E., Vasselon Th., Kelley M., Busse L. A., Mickey C.-T. Hu, Lichenstein H. S., Detmers P. A., Wright S. D. Stimulation of macrophages and neutrophils by complexes of lipopolysaccharide and soluble CD14 // J. Immunol.—1996.—156, N 11.—P. 4384—4390.
24. Schumann R. R. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein // Science.—1990.—249, N 4975.—P. 1429—1431.
25. Wurfel M. M., Hailman E., Wright S. D. Soluble CD14 acts as a shuttle in the neutralization of lipopolysaccharide (LPS) by LPS-binding protein and reconstituted high density lipoprotein // J. Exp. Med.—1995.—181, N 5.—P. 1743—1754.
26. Wurfel M. M., Kunitake S. T., Lichenstein H., Kane J. P., Wright S. D. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein is carried on lipoproteins and acts as a cofactor in the neutralization of LPS // J. Exp. Med.—1994.—180, N 3.—P. 1025—1035.
27. Gegner J. A., Ulevitch R. J., Tobias P. S. Lipopolysaccharide (LPS) signal transduction and clearance. Dual roles for LPS binding protein and membrane CD14 // J. Biol. Chem.—1995.—270, N 10.—P. 5320—5375.
28. Abrahamson S. L., Wu H.-M., Williams R. E., Der K., Ottah N., Little R., Gazzano-Santoro H., Theofan G., Bauer R., Leigh S., Orme A., Horwitz A. H., Carroll S. F., Dedrick R. L. Biochemical characterization of recombinant fusions of lipopolysaccharide binding protein and bactericidal/permeability-increasing protein // J. Biol. Chem.—1997.—272, N 1.—P. 2149—2155.
29. Jarvis B. W., Lichenstein H., Qureshi N. Diphosphoryl lipid A from *Rhodobacter sphaeroides* inhibits complexes that form *in vitro* between lipopolysaccharide (LPS)-binding protein, soluble CD14, and separately pure LPS // Infect. and Immun.—1997.—65, N 8.—P. 3011—3016.
30. Ohlsson B. G., Englund M. C., Karlsson A. L., Knutsen E., Erixon C., Skribeck H., Liu Y., Bondjers G., Wiklund O. Oxidized low density lipoprotein inhibits lipopolysaccharide-induced binding of nuclear factor-kappaB to DNA and the subsequent expression of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in macrophages // J. Clin. Invest.—1996.—98, N 1.—P. 78—89.
31. Schnyder-Candrian S., Walz A. Neutrophil-activating protein ENA-78 and IL-8 exhibit different patterns of expression in lipopolysaccharide- and cytokine-stimulated human monocytes // J. Immunol.—1997.—158, N 8.—P. 3888—3894.
32. Sonesson A., Zahringer U., Grimmeche D., Westphal O., Rietschel E. Th. Bacterial endotoxins. Chemical structure and biological activity // Lung Biology in Health and Disease / Ed. C. Lenfant.—New York: Wiley-Liss, 1993.—P. 1—20.
33. Варбанец Л. Д., Рыбалко С. Л., Дядюн С. Т. Гликополимеры *Clavibacter michiganense* и *Pseudomonas solanacearum* — индукторы интерферона // Микробиол. журн.—1990.—52, № 4.—С. 71—74.
34. Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs E. A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology // Pharmacol. Rev.—1990.—43.—P. 109—142.
35. Thiemermann C. The role of the L-arginine nitric oxide pathway in circulatori shock // Adv. Pharmacol.—1994.—28.—P. 45—79.
36. Zembala M., Siedlar M., Marcinkiewicz J., Pryjma J. Human monocytes are stimulated for nitric oxide release *in vitro* by some tumor cells but not by cytokines and lipopolysaccharide // Eur. J. Immunol.—1994.—24, N 2.—P. 435—439.
37. Stoclet J. C., Fleming I., Gray G., Julon-Schaeffer G., Schneider F., Schott C., Parratt I. R. Nitric oxide and endotoxemia // Circulation.—1993.—87, N 5.—P. 77—80.
38. Liang J. F., Akaike T. Inhibition of lipopolysaccharide and cytokine mixture-mediated hepatocyte nitric oxide synthesis by dimethyl sulfoxide // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1997.—239 N 2.—P. 517—521.
39. Liang J. F., Akaike T. Role of metabolic intermediates in lipopolysaccharide/cytokine-mediated production of nitric oxide in isolated mouse hepatocytes // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1997.—236, N 2.—P. 379—382.
40. Kong L. Y., McMillian M. K., Hudson P. M., Jin L., Hong J. S. Inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide and cytokine production by ultralow concentrations of dynorphins in mixed glia culture // J. Pharmacol. Exp. Ther.—1997.—280, N 1.—P. 61—66.
41. Kato N., Kido N., Ohta M., Naito S. Comparative studies on adjuvanticity of *Klebsiella* O3 lipopolysaccharide and its lipid A and polysaccharide fractions // Immunology.—1985.—54—P. 317—324.
42. Ishikawa Y., Kirikae T., Hirata M., Yoshida M., Haishima Y., Kondo S., Hisatsune K. Local skin response in mice induced by a single intradermal injection of bacterial lipopolysaccharide and lipid A // Infect. Immunol.—1991.—59, N 6.—P. 1954—1960.
43. Peang N., Kido N., Schmidt G., Sygiyama T., Kato Y., Koide N., Yokochi T. Augmented immunological activities of recombinant lipopolysaccharide possessing the mannose homopolymer as the O-specific polysaccharide // Infect. Immunol.—1996.—64, N 1.—P. 305—309.
44. Книрель Ю. А., Коцетков Н. К. Липополисахариды грамотрицательных бактерий. I. Общая характеристика ЛПС и липида А // Биохимия.—1993.—58, № 2.—С. 166—181.
45. Rietschel E. T., Kirikae T., Ulrich F., Schade U., Ulmer A. J., Holst O., Brade H., Schmidt G., Mannat U., Grimmecke H.-D., Kusumoto S., Zachringer U. The chemical structure of bacterial endotoxin in relation to bioactivity // Immunobiology.—1993.—187.—P. 169—190.

46. Ogawa T. Chemical structure of lipid A from *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* lipopolysaccharide // FEBS Lett.—1993.—332, N 1—2.—P. 197—201.
47. Tanamoto K., Azumi S., Haishima Y., Kumada H., Umemoto T. Endotoxic properties of free lipid A from *Porphyromonas gingivalis* // Microbiology.—1997.—143.—P. 63—71.
48. Miyajima K., Gomi N., Ikeda K., Achiwa K. Lipid A and related compounds XXXIII. Synthesis and structure activity relationships of N-acylated L-serine or L-threonine-containing D-glucosamine derivatives as mimics of lipid A disaccharide // Chem. Pharm. Bull.—1997.—45, N 6.—P. 1089—1093.
49. Grabarek J., Her G. R., Reinhold V. N., Hawiger J. Endotoxic lipid A interaction with human platelets. Structure-function analysis of lipid A homologs obtained from *Salmonella minnesota* Re 595 lipopolysaccharide // J. Biol. Chem.—1990.—265, N 14.—P. 8117—8121.
50. Brandenburg K., Mayer H., Koch M. H., Weckesser J., Rietschel E. T., Seydel U. Influence of the supramolecular structure of free lipid A on its biological activity // Eur. J. Biochem.—1993.—218, N 2.—P. 555—563.
51. Saunier M., Malandrin L., Samson R. Distribution of *Pseudomonas syringae* pathovars into twenty-three O serogroups // Appl. and Environ. Microbiol.—1996.—62, N 7.—P. 2360.
52. Kochrova N. A., Knirel Yu. A., Romanowska A., Romanowska E., Makarenko T. A., Edvabnaya L. S., Stanislavsky E. S., Zdorovenko G. M., Yakovleva L. M. Detection of common polysaccharide antigen of *Pseudomonas aeruginosa* with O-antiserum to *Pseudomonas cerasi* // FEMS Microbiol. Immunol.—1991.—76.—P. 69—74.
53. Petitjean F., Dournon E., Strosberg A. D., Hoebehe J. Isolation, purification and partial analysis of the lipopolysaccharide antigenic determinant recognized by a monoclonal antibody to *Legionella pneumophila* serogroup 1 // Res. Microbiol.—1990.—141.—P. 1077—1094.
54. Yakovleva L., Pasichnik L., Porembskaya N., Zdorovenko G., Vasilev V. Serotypic variability of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* strains // Book of Abstr. 5th Int. Conf. on *Pseudomonas syringae* pathovars and related pathogens.—Berlin, 1995.—P. 297.
55. Zdorovenko G. M., Knirel Yu. A., Yakovleva L. M. Studies on the structure and biological activities of the *Pseudomonas syringae* lipopolysaccharides // XIX Int. Carbohydrate Symp.—San Diego, 1998.
56. Zdorovenko G., Solyanik L., Yakovleva L., Zakharova I., Gvozdyak R. O-antigens of *Pseudomonas syringae*: structural principles and biological activities // Book of Abstr. 5th Int. Conf. on *Pseudomonas syringae* pathovars and related pathogens.—Berlin, 1995.—P. 23.
57. Книрель Ю. А., Кочетков Н. К. Строение липолисахаридов грамотрицательных бактерий. III. Структура O-специфических полисахаридов // Биохимия.—1994.—59, № 12.—С. 1784—1852.
58. Книрель Ю. А., Здорovenko Г. М., Шашков А. С., Губанова Н. Я., Яковлева Л. И., Гвоздяк Р. И. Антигенные полисахариды бактерий. 27. Строение O-специфической полисахаридной цепи ЛПС *Pseudomonas syringae* pv. *atofaciens* 2399, *phaseolicola* 120a, *Pseudomonas holci* 8290, относящихся к серогруппе VI // Биоорг. химия.—1988.—14, № 1.—С. 92—99.
59. Flanagan M. P., Battisti G., Michael J. G. Oral administration of *Escherichia coli* in enteric coated microparticles induced serum antibodies against lipopolysaccharide antigens // J. Endotoxin Res.—1996.—3, N 6.—P. 481—489.
60. Reid R. R., Prodeus A. P., Khan W., Hsu T., Rosen F. S., Carroll M. C. Endotoxin shock in antibody-deficient mice // J. Immunol.—1997.—159.—P. 970—975.
61. Svingh Sh. P., Williams Yu. U., Benjamin W. H., Klebba P. E., Boyd D. Immunoprotection by monoclonal antibodies to the porins and lipopolysaccharide of *Salmonella typhimurium* // Microbiol. Pathogenesis.—1996.—21.—P. 249—263.
62. Sturnik M., Mikkola P., Toivanen P., Tertti R. Passive immunization with monoclonal antibodies specific for lipopolysaccharide (LPS) O-side chain protects mice against intravenous *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 infection // APMIS.—1996.—104.—P. 598—602.
63. Hoffman W. D., Pollack M., Banks S. M., Koev L. A., Solomon M. A., Danner R. L., Koles N., Guelde G., Yatsiv I., M'ouginis T. Distinct functional activities in canine septic shock of monoclonal antibodies specific for the O-polysaccharide and core regions of *Escherichia coli* lipopolysaccharide // Infect. Disease.—1994.—169, N 3.—P. 553—561.
64. Fang I. S., Wisniewski M. A., Hantenburg C. C., Knight L. S., Bubbers J. E., Schneiderant M. J. Inhibition of lipopolysaccharide-associated endotoxin activities *in vitro* and *in vivo* by the human anti-lipid A monoclonal antibody Sdj5-1.17.15. // Infect. Immunol.—1993.—61, N 9.—P. 3873—3878.
65. Masoud H., Moxon E. R., Martin A., Krajcarski D., Richards J. C. Structure of the variable and conserved lipopolysaccharide oligosaccharide epitopes expressed by *Haemophilus influenzae* serotype b strain Eagan // Biochemistry.—1997.—36.—P. 2091—2103.
66. Jacobs B. C., Hazenberg M. P., Van Doorn P. A., Endtz H. Ph., Frans G. A., van der Meche P. C. Cross-reactive antibodies against gangliosides and *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharide in patients with Guillain-Barre or Miller Fisher syndrome // J. Infect. Disease.—1997.—175.—P. 729—733.
67. Moran A. P., Prendergast M. M., Appelmek B. J. Molecular mimicry of host structures by bacterial lipopolysaccharides and its contribution to disease // FEMS Immunol. and Med. Microbiol.—1996.—16.—P. 105—115.
68. Tatede K., Matsumoto T., Miyazaki S., Yamaguchi K. Lipopolysaccharide-induced lethality and cytokine production in aged mice // Infect. Immunol.—1996.—64, N 3.—P. 769—774.
69. Wesselius L. J., Nelson M. E., Bailey K., O'Brien-Ladner A. R. Rapid lung cytokine accumulation and neutrophil recruitment after lipopolysaccharide inhalation by cigarette smokers and nonsmokers // J. Lab. Clin. Med.—1997.—129, N 1.—P. 106—114.
70. Pennington H. L., Hall P. M., Wilce P. A., Worrall S. Ethanol feeding enhances inflammatory cytokine expression in lipopolysaccharide-induced hepatitis // J. Gastroenterol. Hepatol.—1997.—12, N 4.—P. 305—313.
71. Okutomi T., Nishizawa T., Inagawa H., Soma G., Minami M., Satoh M., Mizuno D. Inhibition of morphine dependence by a lipopolysaccharide from *Pantoea agglomerans* // Eur. Cytokine Netw.—1992.—3, N 4.—P. 417—420.
72. Rose J. R., Christ W. J., Bristol J. R., Kawata T., Rossignol D. P. Agonistic and antagonistic activities of bacterially derived *Rhodobacter sphaeroides* lipid A comparison with activities of synthetic material of the proposed structure and analogs // Infect. Immunol.—1995.—63, N 3.—P. 833—839.
73. Gustafson G. L., Rhodes M. J., Hegel T. Monophosphoryl lipid A as a prophylactic for sepsis and septic shock. Bacterial Endotoxins: Lipopolysaccharide: From genes to therapy.—New York: Wiley-Liss. Inc., 1995.—P. 567—579.
74. Starves C. O. Coley's toxin in perspective // Nature.—1992.—371.—P. 11—12.
75. Shear M. J., Turner F. C. Chemical treatment of tumors; isolation of hemorrhaging-producing fraction from *Serratia marcescens* (*Bacillus prodigiosus*) culture filtrate // J. Nat. Cancer Inst.—1943.—4.—P. 81—87.

76. Shimizu T., Iwamoto Y., Yanagihara Y., Ikeda K., Achiwa K. Combined effects of synthetic lipid A analogs or bacterial lipopolysaccharide with glucosaminyl-muramyl dipeptide on antitumor activity against Meth A fibrosarcoma in mice // *Int. J. Immunopharmacol.*—1992.—14, N 8.—P. 1415—1420.
77. Abe H., Tani T., Shibata J., Kodama M. Induction of antitumor activities in spleen cells from mice and rats activated with lipopolysaccharide immobilized on beads // *Cancer Immunol. and Immunother.*—1992.—35, N 1.—P. 39—45.
78. Lee K., Ewing J. F., Sluss P. M. Effect of bacterial lipopolysaccharide on growth of murine bladder cancer, MBT-2 // *Urol. Res.*—1989.—17, N 5.—P. 285—288.
79. Blondiae C., Lagadec P., Lejeune P., Onier N., Cavaillon J. M., Jeannin J. F. Correlation between the capacity to activate macrophages *in vitro* and the antitumor activity *in vivo* of lipopolysaccharides from different bacterial species // *Immunobiology.*—1994.—190, N 3.—P. 243—254.
80. Engelhardt R., Mackensen A., Galanos C., Andreesen R. Biological response to intravenously administered endotoxin in patients with advanced cancer // *J. Biol. Response Mod.*—1990.—9, N 5.—P. 480—491.
81. Engelhardt R., Mackensen A., Galanos C., Andreesen R. Phase I trial of intravenously administered endotoxin (*Salmonella abortus equi*) in cancer patients // *Cancer Res.*—1991.—51, N 10.—P. 2524—2530.
82. Mackensen A., Galanos C., Engelhardt R. Modulating activity of interferon-gamma on endotoxin-induced cytokine production in cancer patients // *Blood.*—1991.—78, N 12.—P. 3254—3258.
83. Hennemann B., Berkmann G., Eichelmann A., Rehm A., Andreesen R. Phase I trial of adoptive immunotherapy of cancer patients using monocyte-derived macrophages activated with interferon gamma and lipopolysaccharide // *Cancer Immunol. and Immunother.*—1998.—45, 5.—P. 250—256.
84. Nishigawa T., Inagawa Th., Schima H., Okutomi T., Tsukio D., Iguchi M., Soma G.-I., Mizuno D. Homeostasis as regulated by activated macrophage. I. Lipopolysaccharide (LPS) from wheat flour: isolation, purification and some biological activities // *Chem Pharm. Bull.*—1992.—40.—P. 479—480.
85. Inagawa H., Nishizawa T., Noguchi K., Minamimura M., Tokagi K., Goto S., Soma G., Mizuno D. Anti-tumor effect of lipopolysaccharide by intradermal administration as a novel drug delivery system // *Anticancer Res.*—1997.—17, N 3C.—P. 2153—2158.
86. Kasugai H., Ishiyama J., Imai J., Fukuma E., Miyajima N., Kano N., Yamakawa T., Goto S., Kera J., Takeuchi S. A case report of far advanced gastric cancer with multiple liver metastasis (H3) treated with transarterial intermittent chemotherapy and in radermal administration of low molecular lipopolysaccharide (LPSp) extracted from *Pantoea agglomerans* // *Gan. To Kagaku Ryoho.*—1995.—22, N 11.—P. 1690—1693.
87. Iwamoto I., Goto S., Kera J., Soma G., Takeuchi S., Nagata Y. Mechanistic analysis of high antitumor effect of intradermal administration of lipopolysaccharide from *Pantoea agglomerans* // *Med. Oncol.*—1996.—13, N 2.—P. 103—109.
88. Tsukioka D., Nishizawa T., Miyase T., Achiwa K., Suda T., Soma G.-I., Mizuno D. Structural characterization of lipid A obtained from *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide // *FEMS Microbiol. Lett.*—1997.—149.—P. 239—244.
89. Inagawa H., Nishizawa T., Takagi K., Goto S., Soma G., Mizuno D. Antitumor mechanism of intradermal administration of lipopolysaccharide // *Anticancer Res.*—1997.—17, N 3C.—P. 1961—1964.
90. Варбанец Л. Д., Шмалько Ю. П., Придатко О. Е., Жукова Е. В., Москаленко Н. В. Биологическая активность липополисахарида *Pseudomonas solanacearum* // *Микробиол. журн.*—1995.—57, № 2.—С. 94—99.

УДК 577.214

Надійшла до редакції 11.12.98