

Пептидоглікан *Staphylococcus aureus* та його імунобіологічні властивості

В. В. Позур, Л. М. Сківка, Г. П. Потебня¹

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

¹Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. С. Кавецького НАН України
Вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна

realmed@i.com.ua

*Субклітинні компоненти та метаболіти бактеріальних клітин – потужні біологічно активні субстанції, які характеризуються імуномодуючими та ад'ювантними властивостями. Пептидоглікан (муреїн) – головний універсальний та невід'ємний компонент клітинної стінки фактично усіх бактерій. Муреїн і його похідні муропептиди вважаються потенційними факторами вірулентності бактерій. Пептидоглікани різних бактерій відрізняються за своєю структурою, однак усі вони відсутні на поверхні еукаріотних клітин і тому є гарною мішенню для імунної системи. Представлено узагальнені дані щодо структурних особливостей пептидоглікану *S. aureus* та його впливу на імунну систему.*

Ключові слова: пептидоглікан, клітинні стінки, мурамілпептиди, імуномодуляція, ад'ювантна активність.

Імунобіологічні властивості бактеріальних компонентів є предметом інтенсивних досліджень фахівців у галузі епідеміології, мікробіології, імунології та біотехнології. Така зацікавленість науковців обумовлена значним біологічно активним потенціалом мікробних структур. Однією з вагомих складових усіх мікробних клітин є основний компонент клітинної стінки бактерій – пептидоглікан (ПГ). Метою представленої роботи була оцінка імунобіологічних властивостей ПГ *S. aureus* у зв'язку зі складом та особливостями структури останнього.

ПГ – структурний компонент клітинної стінки бактерій. Клітинні стінки (КС) забезпечу-

ють структурну цілісність і ригідність бактеріальним клітинам. У прокаріотів первинна функція клітинної стінки полягає у захисті клітини від внутрішнього тurgору, викликаного високою концентрацією білків та інших молекул всередині клітини порівняно з оточуючим середовищем. Мікробна КС відрізняється від інших тим, що її основним компонентом є пептидоглікан, шар якого розміщується за межами цитоплазматичної мембрани. ПГ відповідає за жорсткість клітинної стінки і надання певної форми клітині. Він є відносно пористою молекулою, що не заважає проникненню розчинних молекул крізь нього. Існують два основних типи бактеріальних клітинних стінок і за цією ознакою бактерії поділяються на грампозитивні і грамнегативні [1].

Грампозитивні бактерії, до яких належить золотавий стафілокок, характеризуються наявністю дуже товстого шару ПГ, який відповідає за утримання барвника під час фарбування за Грамом. Така стінка знаходиться виключно в організмах типів *Actinobacteria* (або грампозитивні організми з високим вмістом гуаніну та цитозину – G + C) і *Firmicutes* (або грампозитивні організми з низьким вмістом G + C).

Бактерії в межах типу *Deinococcus-Thermus* також можуть позитивно забарвлюватися за Грамом, але містять деякі структури клітинної стінки, відмінні від грамнегативних організмів. До складу КС грампозитивних бактерій входять полімерні спирти, тейхоеві кислоти, деякі з яких зв'язуються з ліпідами, формуючи ліпотейхоеву кислоту (ЛТК). Ці речовини відповідають за з'єднання ПГ з цитоплазматичною мембраною. Тейхоева кислота надає клітині негативний електричний заряд завдяки наявності фосфодіефірних зв'язків між її мономерами [2].

На відміну від грампозитивних бактерій грамнегативні містять дуже тонкий шар ПГ, що обумовлює нездатність клітинних стінок утримувати барвник під час фарбування за Грамом. На додаток до шару пептидоглікану грамнегативні бактерії мають так звану зовнішню мембрану, що знаходиться зовні від клітинної стінки і містить у своєму складі фосфоліпіди та ліпополісахариди. Негативно заряджені ліпополісахариди надають клітині негативний електричний заряд. Хімічна структура ліпополісахаридів зовнішньої мембрани часто унікальна для окремих штамів бактерій і обумовлює її антигенну специфічність.

Як будь-який подвійний шар фосфоліпідів, зовнішня мембрана досить непроникна для всіх заряджених молекул. Проте білкові канали (порини), присутні в зовнішній мембрані, забезпечують пасивний транспорт багатьох іонів, цукрів і амінокислот через зовнішню мембрану. Таким чином, ці молекули існують у периплазмі, шарі між зовнішньою і цитоплазматичною мембранами. Периплазма містить шар ПГ і низку білків, відповідальних за процеси гідролізу і прийом позаклітинних сигналів. Вважається, що периплазма гелеподібна, а не рідка, через високий вміст білків і

пептидоглікану. Сигнали та поживні речовини з периплазми потрапляють до цитоплазми клітини завдяки транспортним білкам у цитоплазматичній мембрані [2].

Таким чином, ПГ (муреїн, глікопротеїд) – це головний універсальний і невід'ємний компонент КС фактично усіх грампозитивних і грамнегативних бактерій [3].

Структура пептидоглікану. Частка ПГ складає до 50–80 % всієї маси клітинної стінки грампозитивних бактерій [4]. Головною структурною одиницею бактеріальних ПГ є лінійні гліканові ланцюги, пов'язані між собою короткими пептидами [5]. Гліканові ланцюги складаються з N-ацетилглюкозаміну та N-ацетилмурамової кислоти. ПГ формується ззовні цитоплазматичної мембрани бактеріальної клітини завдяки діяльності двох груп ферментів: глікозилтрансфераз, які каталізують формування лінійних гліканових ланцюгів, і транспептидаз, що каталізують утворення перехресних пептидних містків.

Структурний склад ПГ клітинної стінки поповнюється за рахунок приєднання розчинних форм полімерів ПГ, які синтезуються протягом життєдіяльності бактеріальних клітин. Культивування золотавого стафілокока за присутності антибіотиків (пеніциліну) запобігає процесам транспептидації і тим самим призводить до порушення структури ПГ клітинної стінки та перешкоджає появі розчинних форм ПГ у середовищі культивування бактерій [6].

Отже, препарати бактеріальних ПГ, у тому числі одержані із золотавого стафілокока, являють собою неоднорідну за ступенем полімеризації речовину і розподіляються на розчинну та нерозчинну у воді фракції. Існують відмінності між біологічними властивостями розчинної та нерозчинної фракцій ПГ, серед яких і їхня дія на імунну систему [3].

Порівняльний аналіз хімічного складу розчинних і нерозчинних форм ПГ *S. aureus* виявив високий вміст аланіну у препаратах розчинного муреїну порівняно з препаратами нерозчинного [7].

Саме кінцеві пептиди, які містять D-аланін, є сайтом приєднання розчинних полімерів ПГ до структури КС. Крім того, аланін-вмісні пептиди є специфічними лігандами для однієї з рецепторних

молекул на поверхні еукаріотних клітин, відповідальних за розпізнавання ПГ [8].

Біосинтез ПГ починається з утворення уридиндифосфат (УДФ)-N-ацетил-D-мурамової кислоти з УДФ-N-ацетил-D-глюкозаміну і фосфоенолпірувату, після чого відбувається подальше приєднання амінокислотних залишків до карбоксильної групи залишку молочної кислоти (наприклад, L-Ala, D-Glu, L-Lys і D-Ala-D-Ala в багатьох грампозитивних бактеріях з утворенням нуклеотид-мурамил-пентапептиду). Потім залишок мурамилпептидфосфату переноситься на ундекапренілфосфат. Наступні стадії – приєднання залишку N-ацетил-D-глюкозаміну 1-4-зв'язком до залишку мурамової кислоти, нарощування пептидного ланцюга по аміногрупі діамінокислоти (зокрема, приєднання п'яти залишків гліцину в грампозитивних бактеріях з утворенням у подальшому міжпептидного містка) і приєднання дисахаридпептиду до лінійного вуглеводного ланцюга – проходять на мембрані під дією мембранних ферментів. Кінцева стадія – утворення поперечних зшивок – відбувається на зовнішньому боці мембрани внаслідок транспептидазної реакції [9–11].

Пептидоглікани різних видів бактерій неоднакові за амінокислотним складом міжпептидних містків. Дослідженнями хімічної структури ПГ встановлено, що існують близько 100 його структурних типів. Так, ПГ мікрококів містять відносно мало гліцину і глутамінової кислоти та багато аланіну, вони практично не руйнується лізостафіном і добре розщеплюються лізоцимом, тим часом як гетерополімер золотавого стафілокока є стійким до лізоциму [4]. ПГ стрептокока груп А, В, С, D, F і G мають схожу між собою структуру.

Варто зазначити, що однаковий тип ПГ може бути притаманний бактеріям, які по-різному забарвлюються за Грамом [4].

Особливості амінокислотного складу ПГ золотавого стафілокока, скоріш за все, пов'язані з міжвидовими відмінностями цих бактерій. В залежності від амінокислотного складу містків, які зшивають цукропептидні одиниці, ПГ стафілокока поділяють на декілька типів [4].

Оскільки будова і склад гліканових компонентів ПГ суттєво не відрізняються у більшості

грампозитивних бактерій, увагу дослідників було зосереджено саме на вивченні залежності імунобіологічних властивостей глікопептидів від кількісного і якісного амінокислотного складу пептидних субодиниць [12]. Це дозволяє розглядати амінокислотний склад пептидних компонентів ПГ як ідентифікаційний маркер бактеріальних клітин і діагностичний показник при встановленні етіології інфекційних захворювань. Крім того, з'ясування особливостей дії на клітини і тканини організмів різних за хімічним складом ПГ клітинних стінок бактерій та їхніх синтетичних аналогів викликає значний інтерес через необхідність висвітлення ролі ПГ у патогенезі багатьох захворювань. Деякі дослідження у цій галузі зумовлені і потребою у вивченні механізму дії ПГ на клітини – ефектори неспецифічної резистентності зі встановленням можливості використання їх для корекції як порушень клітинних процесів, так і імунної відповіді в цілому [13, 14].

При порушенні процесів біосинтезу ПГ грамотригативних і грампозитивних бактерій, у тому числі і роду *Staphylococcus*, спричиненому дією антибіотиків, а також при дії ферментів, таких як лізоцим, утворюються структурні похідні ПГ – мурамилпептиди. Муропептиди формуються також у фагосомах макрофагів при фагоцитозі ними бактерій або бактеріальних продуктів. Вони здатні запускати внутрішньоклітинні сигнальні каскади, що призводить до зміни експресії генів та активації імунної відповіді. Залежно від пептидних компонентів мурамилпептиди поділяють на мурамилмоно-, ди- і трипептиди [15].

Мурамилдипептид (МДП) – мінімальний структурний компонент ПГ з ад'ювантними властивостями [15]. Він являє собою глікопептид з молекулярною масою 492 кДа [16]. МДП постійно присутні в організмах людей і тварин у низьких концентраціях, виконуючи функції факторів сну, вітамінів та імуномодуляторів [17].

Численними дослідженнями показано, що МДП мають широкий спектр біологічних ефектів, серед яких нейрофармакологічна активність і знеболювальна дія, спричиняють зниження артеріального тиску за рахунок прямого впливу на гладенькі м'язи судин та інгібують ангіотензин-конвертуючий

фермент, чинять протективний ефект при лікуванні патологій печінки. Особливу увагу приділяють плейотропній імуномодуючій дії МДП [18, 19].

Андроновою зі співавт. виділено ще один тип ПГ – N-ацетилглюкозамініл-N-ацетилмураміл-L-аланіл-D-ізоглутамін – глюкозамініл-мурамілди-пептид (ГМДП). Це активний компонент протипухлинного препарату бластолізину, гідролізат клітинної стінки *Lactobacillus bulgaricus* [20]. Його структура відрізняється від МДП наявністю N-ацетилглюкозаміну, приєданого до N-ацетилмурамової кислоти. ГМДП – це загальний повторюваний фрагмент ПГ клітинної стінки практично усіх відомих бактерій [21].

Розпізнавання ПГ клітинами імунної системи. Зважаючи на те, що ПГ є унікальним структурним компонентом клітинної стінки фактично усіх бактерій і не входить до складу еукаріотних клітин, він є чудовою мішенню для імунної системи [22].

Клітини імунної системи взаємодіють з мікроорганізмами через серію розпізнавальних асоційованих з мембраною і розчинних структур [7, 22, 23]. До них належать:

- розчинні білки – ефектори природної резистентності: легеневі колектини А і D, лектино-подібні пентраксини (С-реактивний білок), сироватковий амілоїдний компонент Р, розчинна форма CD14 та ін.;

- асоційовані з мембраною рецептори фагоцитів: макрофагальний рецептор манози, рецептор комплементу CR3, рецептор-поглинач А, LOX-1, CD14 та ін.

Відмінною рисою рецепторів, відповідальних за розпізнавання ПГ, є наявність у їхній структурі лектину, колагену або збагаченого лейцином домену.

Ключову роль у розпізнаванні ПГ відіграють рецепторні структури двох родин: члени родини прозапальних рецепторів інтерлейкіну 1 – Toll-like рецептори (TLR) (головним чином TLR-2) та цитозольні білки, які містять нуклеотидзв'язувальний домен олігомеризації (NOD1 і NOD2) [23–28].

Ці дві родини розпізнають молекулярні компоненти мікроорганізмів, розташовані переважно на поверхні клітини: ліпополісахарид грамнегативних бактерій та ПГ грамнегативних і грампозитивних бактерій. Деякі дослідники [29] стверджують, що

розпізнавання ПГ ефекторами неспецифічної резистентності відбувається комплексно: при одночасній активації TLR2 та TLR4, TLR2 та TLR6, TLR2 та TLR9.

Наприклад, розпізнавання пептидогліканом BCG здійснюється за рахунок комплексної активації TLR2 та TLR4 на дендритних клітинах людини. Активація лише одного з цих рецепторів спричиняє активацію дендритних клітин менше ніж на 50 %. Для дозрівання дендритних клітин людини (через TLR2 та TLR4) потрібна мінімальна кількість ПГ BCG [30].

TLR6 експресується на рівні, нижчому від TLR2, на поверхні моноцитів, мієлоїдних дендритних клітин та нейтрофілів, але відсутній на В-лімфоцитах, Т-лімфоцитах або натуральних кілєрах. У моноцитів TLR6 розташований на клітинній поверхні поруч з TLR2. Важливо, що сигнал TLR2/TLR6 не потребує дозрівання ендосом і причетний до розпізнавання (крім ПГ) ліпопептидів [29].

ПГ з грампозитивних бактерій, за літературними даними, активує лише TLR2. Розчинні та нерозчинні полімери ПГ золотавого стафілокока активують TLR2 в концентрації від 0,1 до 1 мг/мл або 10 мг/мл, індукуючи при цьому продукцію TNF-ефекторними клітинами імунної систем [7].

Нещодавно Травассос зі співавт. показали, що ПГ не є безпосереднім агоністом TLR2. Натомість активація TLR2 ПГ можлива у випадку, коли препарат муреїну містить домішки ЛТК та асоційований з мембраною ліпопептид. До того ж ці автори вважають, що розпізнавання ПГ *S. aureus* лімфоїдними клітинами відбувається, головним чином, внутрішньоклітинно через систему білків NOD1/NOD2. Неочищені препарати клітинних стінок у роботах зазначених авторів активують TLR2, тоді як очищений ПГ в концентрації 1 мг/мл не активує TLR2, але активує NOD2 [31, 32].

Процесовані фрагменти ПГ (мурамілпептиди та ін.) розпізнаються різними рецепторними системами. Зокрема, мурамілди-пептид зв'язується з внутрішньоклітинним NOD2; інша біоактивна частина ПГ – діамінопімелінова кислота – з рецепторною молекулою NOD1. Синтетичний МДП з ад'ювантними та зв'язувальними властивостями здат-

ний активувати моноцити людини через CD14, TLR2 і TLR 4 [33].

Розпізнавання лігандів вищезазначеними рецепторними структурами індукує захисну програму господаря, яка включає активацію генів, що беруть участь у розвитку запального процесу [8, 34, 35]. Як наслідок, активуються сигнальні шляхи і фактори транскрипції (NF- κ B, AP-1, Fos, Jun), в результаті чого відбувається експресія генів імунної відповіді. Індукована муреїном активація білково-синтезувальних процесів у лімфоїдних клітинах спричинює синтез і секрецію численних ефекторних молекул, таких як цитокіни. Останні відіграють роль «диригента» в регуляції як природного, так і набутого імунітету [36].

Рецептори, які розпізнають ПГ і кодується зародковою ДНК, експресовані на великому різноманітті клітин і тканин, серед них епітеліоцити слизових оболонок, моноцити, макрофаги, Т- і В-лімфоцити [37–39]. Порівняно недавно присутність TLR підтверджено і на НК клітинах [40, 41].

Імуномодулюючі ефекти ПГ. ПГ та їхнім похідним властива імуномодуляторна активність [22, 42]. Спрямованість та інтенсивність дії ПГ залежить від їхніх антигенних структурних особливостей і дози [4].

ПГ стрептокока та стафілокока здатні активувати систему комплементу класичним та альтернативним шляхом. Причому з усіх поверхневих структур *S. aureus* лише ПГ активують комплемент альтернативним шляхом у результаті фіксації на його молекулах значної кількості C3-компонента [43, 44].

Пептидоглікан визнано головною прозапальною молекулою мікробного походження. Він індукує усі класичні шляхи розвитку інфекційних процесів, а також системне запалення органів у тварин при експериментальному моделюванні інфекційних захворювань [45].

Відомо, що медіаторами руйнівної дії ПГ відносно внутрішніх органів носія інфекції (у першу чергу печінки і нирок) є прозапальні цитокіни (фактори некрозу пухлин – ФНП, IL-6, IL-8). Активоване ПГ продукування цих цитокінів призводить до значного підвищення рівнів

аланін-амінотрансферази, аспартат-амінотрансферази, білірубину та інших ферментів, які є маркерами дисфункції печінки. Крім того, введення препаратів ПГ спричиняє збільшення у сироватці крові концентрації креатиніну та сечовини, що свідчить про порушення функцій нирок. Пошкодження цілісності структури муреїну різного ступеня знижує його прозапальну патогенну активність. Зокрема, гідроліз пептидних компонентів лізостафіном помірно зменшує здатність ПГ індукувати синтез і секрецію прозапальних медіаторів [46]. Патогенна прозапальна дія ПГ грампозитивних та грамотришечних бактерій залежить від його структурної цілісності [47, 48]. Обробка мурамідазами веде до повної втрати ПГ прозапальних властивостей [49].

Методами ендо- та екзогенного клонування стовбурових елементів кісткового мозку встановлено, що ПГ золотавого стафілокока ефективніше порівняно з мікробною клітиною, клітинною стінкою і тейхоєвою кислотою стимулює міграцію стовбурових клітин на периферію [4].

Здатністю стимулювати лейкопоез характеризуються і похідні пептидоглікану – МДП. Введення цих препаратів мишам після сублетального гамма-опромінення відновлює у них кількість лейкоцитів значно швидше, ніж це спостерігається у контрольних тварин. Такий процес відбувається, в основному, за рахунок швидкого збільшення популяції нейтрофілів [21].

ПГ *S. aureus* є досить стійким до гідролізу лізоцимом [50, 51]. При застосуванні *in vivo* він індукує рекрутинг нейтрофілів у місце введення та активує інші ефектори природного імунітету [52]. Крім того, ПГ *S. aureus* посилює репаративну грануляцію тканини та покращує одужання хворих на м'язово-скелетні інфекції стафілококової етіології [53].

Пептидоглікан, його похідні МДП, а також їхні синтетичні аналоги посилюють лімфопроліферативну відповідь на Т- і В-клітинні мітогени, стимулюють генерацію цитотоксичних Т-лімфоцитів і продукцію імуноглобулінів, підвищують цитотоксичну активність природних кілерів, цитостатичну та цитотоксичну активність макрофагів [16].

Макрофаги під впливом компонента бактеріальної стінки N-ацетилглюкозамін-N-ацетил-

мураміл-пентапептиду зазнають змін, схожих на процес дозрівання, описаний для дендритних клітин. Зрілим макрофагам притаманне зниження фагоцитарної активності, яке корелює із зростанням бактерицидної (внутрішньоклітинної) активності. У макрофагів при цьому змінюється експресія поверхневих молекул: зменшується кількість структур, які опосередковують розпізнавання і поглинання мікроорганізмів. При цьому відмічається підвищення рівня експресії антиген-презентуючих і коstimуляторних молекул. Змінюється цитокіновий профіль: збільшується синтез інтерлейкіну-12, фактора некрозу пухлини, інтерлейкіну-6 [54].

Взагалі слід зазначити, що найвиразніше імуномодулююча дія ПГ та його похідних реалізується через вплив на синтез і секрецію цитокінів [55].

У складі клітинних стінок грам позитивних і грам негативних бактерій ПГ індукують продукцію прозапальних цитокінів мононуклеарними клітинами периферичної крові людини. При цьому індукція вивільнення монокінів відбувається у дозозалежний спосіб [56].

Бактеріальні ПГ регулюють синтез і секрецію цитокінів як лімфоїдними, так і поліморфноядерними (мієлоїдними) клітинами [52].

Пневмококовий ПГ індукує продукцію ІЛ-8 із залученням транскрипційних факторів NF-κB та NF-IL-6 у бронхіальних епітеліальних клітинах залежним від дози та часу способом [57].

ПГ *S. aureus* окремо та в комплексі з ліпотейхоєвою кислотою індукує продукцію ФНП, ІЛ-6, ІЛ-10 Т-клітинами та моноцитами [58].

МДП і його аналоги активують синтез прозапальних цитокінів та колонієстимулювальних факторів макрофагами та гранулоцитами [15, 59].

Мурабутид, апірогенний МДП, здатний індукувати утворення протизапальних цитокінів, що дозволяє розглядати його як терапевтичний засіб для лікування і профілактики септичного шоку [59].

Численними імуномодулюючими ефектами характеризується ще один похідний ПГ – ГМДП. У клітин моноцитарно-макрофагальної системи ГМДП посилює експресію HLA-DR-антигенів, поглинання мікроорганізмів, підвищує ферментативну активність, продукцію активних форм кисню і

відповідно мікробіцидну активність [60, 61]. Сприяє також стимуляцію секреторної активності макрофагів, яка проявляється у посиленні синтезу і продукції цитокінів – ФНП та ІЛ-1 [62].

Відмінністю ГМДП від МДП є його здатність не лише посилювати синтез цитокінів, але й стимулювати синтез і експресію асоційованих з мембраною та розчинних форм рецепторів до ФНП та ІЛ-1, які виступають практично антагоністами цих запальних цитокінів [21].

Попереднє введення ГМДП різко пригнічує синтез запальних цитокінів у мишей при наступному додаванні ЛПС. МДП, навпаки, діє синергічно з ЛПС і посилює синтез зазначених цитокінів. Значущість цих даних полягає в тому, що ГМДП можна застосовувати не тільки як стимулятор протиінфекційного імунітету, але і як імуномодулятор, що може в певних дозах знижувати інтенсивність запального процесу за рахунок блокування дії медіаторів запалення.

Цитокіни, які продукуються макрофагами, активованими ГМДП, діють на Т- і В-систему імунітету, в свою чергу, активуючи їх [21].

Похідні ПГ мають здатність виступати синергістами дії цитокінів. МДП у комплексі з ФНП індукує підвищену секрецію ІЛ-6 моноцитами крові людини, а в комплексі з ІЛ-2 або ІЛ-4 – проліферацію та диференціювання В-лімфоцитів. Тромбоцитарноактивуючий фактор у комплексі з МДП спричиняють синергічний ефект в індукції синтезу ІЛ-1 та ФНП моноцитами/макрофагами. МДП разом з його похідним муроктозином та -інтерфероном значно сильніше індукують синтез цитокінів і тумороцидні властивості макрофагів у людини і тварин, ніж при їхньому окремому застосуванні [21, 63].

Неоднозначним є вплив ПГ стафілокока на активність природних кілерних клітин периферичної крові мишей. ПГ здатний як пригнічувати, так і активувати функції цих клітин [64].

ПГ золотавого стафілокока справляє стимулювальний і супресуючий (залежно від дози) вплив на кооперативну взаємодію Т- і В-клітин при імунній відповіді на тимусозалежний антиген. Супресивний ефект ПГ на взаємодію Т- і В-клітин опосередковується Т-лімфоцитами [4].

Пептидоглікану *S. aureus* – основному компоненту клітинної стінки – властива здатність викликати вторинну імунологічну недостатність у людини і тварин, оскільки, незважаючи на високу полімеризованість, ПГ може секретуватися в зовнішнє середовище, але вже у низькополімеризованій формі; при тривалій дії призводить до виснаження функціонального резерву ефекторних клітин імунної системи [4].

Стосовно впливу ПГ на антитілогенез відомо, що за умов *in vivo* бактеріальний муреїн може сприяти переключенню синтезу з IgM на IgE. Так, ПГ *Str. pyogenes*, полімер і димер *Staph. epidermidis* стимулюють перетворення IgE до овалбуміну в первинній та вторинній імунній відповіді мишей лінії A/J [65].

ПГ та їхні синтетичні аналоги з імуномодулюючими властивостями можуть мати важливе прикладне значення як неспецифічні імуностимулятори, а також як ад'ювантні компоненти, що використовують для імунотерапії патологій людини і тварин, пов'язаних з функціональними розладами імунної системи [4, 66].

Ад'ювантні властивості ПГ. Пептидогліканам грамозитивних і грамнегативних бактерій притаманні ад'ювантні властивості у гуморальній і клітинній відповідях на дію як розчинних, так і нерозчинних корпускулярних антигенів [67, 68].

Механізми ад'ювантної дії ПГ різних видів бактерій неоднакові. Ад'ювантні властивості ПГ пов'язані із розчинними мономерними субодинацями, які складаються з цукропептидних компонентів [52].

Введення препаратів пептидогліканової природи (бластолізін, глюкозамінілмурамілпептид) до складу корпускулярних і безклітинних коклюшних вакцин підвищує їхні протективні властивості з одночасним зниженням токсичної та алергізувальної дії [69].

Таким чином, з літератури відомо, що ад'ювантний потенціал бактерій та їхніх субклітинних компонентів використовують в імунотерапії низки захворювань, перебіг яких пов'язаний з порушеннями імунологічної реактивності. До таких патологій належить розвиток злоякісних новоутворень у людини і тварин.

Нечисленні дані літератури свідчать про те, що структури клітинних стінок різних бактерій, які містять ПГ, можуть викликати регресію сингенних пухлин у тварин, виявляти протипухлинну дію і відновлювати пригнічений клітинний імунітет в онкологічних хворих [70].

Ін'єкції ПГ мікобактерій мишам до трансплантації ракових клітин інгібують розвиток експериментальних пухлин. При цьому ПГ стимулює цитотоксичну активність макрофагів мишей щодо пухлинних клітин [71].

Протипухлинну та антиметастазну активність, а також імуностимулювальний ефект спостерігали у дослідках на мишах з карциномою МСа при використанні ПГ золотавого стафілокока [72].

Здатність інгібувати утворення пухлин в експерименті проявляють синтетичні препарати ПГ – мураміддипептид і його похідні [73]. Створено багато аналогів МДП з імуностимулювальними властивостями. Мураміддипептиду, мінімальному компоненту ПГ, притаманні ад'ювантні ознаки, здатність стимулювати протиінфекційну резистентність, протипухлинний імунітет, активувати імунокомпетентні клітини та індукувати синтез цілої низки цитокінів. Ці властивості є підставою для його клінічного застосування. Однак через високу пірогенність та інші небажані побічні ефекти МДП виявився непридатним до використання. Тому зроблено спробу вирішити цю проблему, синтезувавши його структурні аналоги з меншою пірогенністю та вищою імуностимулювальною активністю [21].

Серед синтетичних похідних ПГ привертають увагу глюкозамінілмураміддипептиди, які практично не спричинюють токсичної та пірогенної дії [21].

У багаточисельних дослідках *in vivo* та *in vitro* показано високі ад'ювантні та протекторні властивості ГМДП, його протипухлинну дію, здатність стимулювати функціональну активність фагоцитувальних клітин і лімфоцитів [60], а також посилювати розвиток як клітинного, так і гуморального імунітету.

При імунізації мишей БЦЖ введення ГМДП до складу імуногену втричі збільшує синтез фактора пригнічення міграції макрофагів. ГМДП викликає 2–5-разове підвищення антитілоутворення до корпускулярних та розчинних антигенів. Виразний

стимулювальний ефект виявлено при використанні ГМДП як ад'юванта у ВІЛ-вакцині. ГМДП притаманна антивірусна активність – він суттєво знижує рівень вірусу грипу у дослідних тварин [59].

ГМДП має протипухлинну активність: одноразово введений ГМДП у дозі 1–10 мкг гальмує ріст деяких перещеплених пухлин. Він проявляє синергізм з іншими протипухлинними агентами та імуностимуляторами. Так, одноразова ін'єкція циклофосфаміду за 1 год перед введенням ГМДП інгібує ріст карциноми Льюїса. Комбінації ЛПС та ГМДП повністю позбавляли від тімоми EL-4 та саркоми Mc-11 дослідних мишей. У вилікуваних мишей сформувався протипухлинний імунітет (при повторному перещепленні пухлинних клітин відбувалося відторгнення останніх), що свідчить про формування стійкого протипухлинного адаптивного імунітету під впливом проведеної терапії [21].

У мишей з меланою В-16 пептидоглікановий мономер з клітин *Brevibacterium divaricatum*, застосований через 7 діб після інокуляції пухлини, інгібує формування метастазів [74].

Не виключено, що протипухлинна дія пептидогліканових субодиниць реалізується за допомогою індукції продукування лімфоїдними клітинами ФНП [75].

Отже, з аналізу даних літератури можна зробити висновок стосовно того, що пептидоглікан є головним універсальним і невід'ємним компонентом клітинної стінки фактично всіх грамположитивних і грамнегативних бактерій. Пептидоглікан – це субстанція з імуногенними властивостями. Імунобіологічні характеристики ПГ відрізняються залежно від їхнього походження. Спрямованість і інтенсивність дії ПГ залежать від власних антигенних структурних особливостей та дози.

Головну роль у розпізнаванні ПГ імунною системою відіграють рецепторні структури двох типів: TLR (в основному, TLR-2) і цитозольні білки NOD1 і NOD2. Розпізнавання лігандів цими рецепторами індукуює захисну програму господаря, що полягає в активації генів, залучених до розвитку запального процесу.

ПГ стафілокока здатний модулювати активність природних кілерних клітин периферичної крові мишей, індукуює рекрутинг нейтрофілів у місце введен-

ня та стимулює ефектори природного імунітету. Необхідно також зазначити імунорегуляторну роль стафілококового пептидоглікану як стимулятора імунної відповіді на мікробні антигени та як природного регулятора розвитку імунної і гемопоетичної систем.

Як свідчать літературні дані, ад'ювантний та імуногенний потенціал бактеріальних ПГ і їхніх синтетичних аналогів може бути використаний для формування ефективних протипухлинних препаратів. Але при цьому варто зазначити, що інформація стосовно дослідження впливу ПГ золотавого стафілокока на пухлинний ріст в літературі практично відсутня.

V. V. Pozur, L. M. Skivka, G. P. Potebnia

Peptidoglycan *Staphylococcus aureus* and its immune-biological features

Summary

Bacterial subcellular components and metabolites are potent biologically active substances with inherent immunomodulating and adjuvant properties. Peptidoglycan (murein) is the major, unique, and essential component of the cell wall of virtually all bacteria. Murein and its muropeptide derivatives are considered to be potential virulence factors. Peptidoglycans of different bacteria have distinguishing features, but all of them are not present in eukaryotes, and, therefore, they are excellent targets for innate immune system. In this review the data on structural specificities of S. aureus peptidoglycan and its effect on immune system are summarized.

Keywords: peptidoglycan, cell walls, muropeptide, immunomodulation, adjuvant action.

В. В. Позур, Л. М. Сківка, Г. П. Потебня

Пептидоглікан *Staphylococcus aureus* и его иммунобиологические свойства

Резюме

Субклеточные компоненты и метаболиты бактериальных клеток – мощные биологически активные субстанции, характеризующиеся иммуномодулирующими и адьювантными свойствами. Пептидоглікан (мураин) – главный универсальный и неотъемлемый компонент клеточной стенки фактически всех бактерий. Мураин и его производные муропептиды считаются потенциальными факторами вирулентности бактерий. Пептидогліканы разных бактерий отличаются по структуре, однако все они отсутствуют на поверхности эукариотных клеток и поэтому являются прекрасной мишенью для иммунной системы. Представлены обобщенные данные о структурных особенностях пептидоглікана S. aureus и его влияния на иммунную систему.

Ключевые слова: пептидоглікан, клеточные стенки, мурамилпептиды, иммуномодуляция, адьювантная активность.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Cabeen M. T., Jacobs-Wagner C. Bacterial cell hape // Nat. Rev. Microbiol.–2005.–3, N 8.–P. 601–610.
2. Beveridge T. J., Pouwels P. H., Sara M., Kotiranta A., Lounatmaa K., Kari K., Kerosuo E., Haapasalo M., Egelseer E. M., Schocher I., Sleytr U. B., Morelli L., Callegari M. L., Nomellini J. F., Bingle W. H., Smit J., Leibovitz E., Lemaire M., Miras I., Salamitou S., Beguin P., Ohayon H., Gounon P., Matuschek M., Koval S. F. Functions of S-layers // Microbiol. Rev.–1997.–20, N 1–2.–P. 99–149.
3. Boneca I. G. The role of peptidoglycan in pathogenesis // Curr. Opin. Microbiol.–2005.–8, N 1.–P. 46–53.
4. Позур В. К. Імунобіологічна активність бактеріальних пептидогліканів.–К.: Фітосоціоцентр, 2002.–236 с.
5. van Heijenoort J. Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan // Glycobiology.–2001.–11, N 3.–P. 25R–36R.
6. Rosenthal R. S., Dziarski R. Isolation of peptidoglycan and soluble peptidoglycan fragments // Meth. Enzymol.–1994.–235.–P. 253–285.
7. Dziarski R., Gupta D. *Staphylococcus aureus* peptidoglycan is a toll-like receptor 2 activator a reevaluation // Infect. Immunol.–2005.–73, N 8.–P. 5212–5216.
8. Moreillon P., Majcherczyk P. A. Proinflammatory activity of cell-wall constituents from gram-positive bacteria // Scand. J. Infect. Dis.–2003.–35, N 9.–P. 632–641.
9. Горан С. Е., Навашин С. М. Получение иммунологически активных фрагментов пептидогликанов из бактериальной клеточной стенки // Иммуномодуляторы.–М., 1987.–С. 77–89.
10. Франклин Т., Сноу Дж. Биохимия антимикробного действия / Пер. с англ.–М. Мир, 1984.–240 с.
11. Schleifer K. H., Kandler O. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications // Bacteriol. Rev.–1972.–36, N 4.–P. 407–477.
12. Barzilai A., Hyatt A. C., Hodes D. S. Demonstration of differences between strains of *S. aureus* by peptidoglycan fingerprinting // J. Infect. Dis.–1984.–150, N 4.–P. 583–588.
13. Tosi M. F. Innate immune responses to infection // J. Allergy Clin. Immunol.–2005.–116, N 2.–P. 241–249.
14. Uehara A., Fujimoto Y., Kawasaki A., Kusumoto S., Fukase K., Takada H. Meso-diaminopimelic acid and meso-anthionine, amino acids specific to bacterial peptidoglycans, activate human epithelial cells through NOD1 // J. Immunol.–2006.–177, N 3.–P. 1796–1804.
15. Traub S., von Aulock S., Hartung T., Hermann C. MDP and other muropeptides-direct and synergistic effects on the immune system // J. Endotoxin. Res.–2006.–12, N 2.–P. 69–85.
16. Калюжин О. В. Производные мурамилдипептида в эксперименте и клинике // Журн. микробиологии.–1998.–№ 1.–С. 104–108.
17. Сениаивили Р. И. Иммунотропные препараты: классификация, проблемы и перспективы // Аллергология и иммунология.–2001.–2, № 1.–С. 39–45.
18. Maseak K. Immunopharmacology of muramyl peptides // Fed. Proc.–1986.–45, N 11.–P. 2549–2551.
19. Farghali H., Buchar E., Machkova Z., Kamenikova L., Maseak K. Muramyl dipeptide and carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats: involvement of plasma membrane and calcium homeostasis in protective effect // Meth. Find Exp. Clin. Pharmacol.–1986.–8, N 8.–P. 469–477.
20. Dozmorov I. M., Kuzin I. I., Lutsan N. I., Lutsenko G. V., Prokhorova A. L., Sapozhnikov A. M., Andronova T. M., Ivanov V. T. Study of immunomodulatory properties of N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine and N-acetylglucosaminyl-(beta-1-4)-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine // Biomed. Sci.–1991.–2, N 6.–P. 651–658.
21. Иванов В. Т., Хаитов Р. М., Андропова Т. М., Пунегин Б. В. Ликолипид – новый отечественный высокоэффективный иммуномодулятор для лечения и профилактики заболеваний, связанных со вторичной иммунологической недостаточностью // Иммунология.–1996.–№ 3.–С. 49–53.
22. Dziarski R. Recognition of bacterial peptidoglycan by the innate immune system // Cell Mol. Life Sci.–2003.–60, N 9.–P. 1793–1804.
23. Steiner H. Peptidoglycan recognition proteins: on and off switches for innate immunity // Immunol. Rev.–2004.–198.–P. 83–96.
24. Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins (PGRPs) // Mol. Immunol.–2004.–40, N 12.–P. 877–886.
25. Fournier B., Philpott D. J. Recognition of *Staphylococcus aureus* by the innate immune system // Clin. Microbiol. Rev.–2005.–18, N 3.–P. 521–540.
26. Girardin S. E., Philpott D. J. Mini-review: the role of peptidoglycan recognition in innate immunity // Eur. J. Immunol.–2004.–34, N 7.–P. 1777–1782.
27. Kufer T. A., Banks D. J., Philpott D. J. Innate immune sensing of microbes by Nod proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci.–2006.–N 1072.–P. 19–27.
28. Liang M. D., Bagchi A., Warren H. S., Tehan M. M., Trigilio J. A., Beasley-Topliffe L. K., Tesini B. L., Lazzaroni J. C., Fenton M. J., Hellman J. Bacterial peptidoglycan-associated lipoprotein: a naturally occurring toll-like receptor 2 agonist that is shed into serum and has synergy with lipopolysaccharide // J. Infect. Dis.–2005.–191, N 6.–P. 939–948.
29. Nakao Y., Funami K., Kikkawa S., Taniguchi M., Nishiguchi M., Fukumori Y., Seya T., Matsumoto M. Surface-expressed TLR6 participates in the recognition of diacylated lipopeptide and peptidoglycan in human cells // J. Immunol.–2005.–174, N 3.–P. 1566–1573.
30. Uehori J., Matsumoto M., Tsuji S., Akazawa T., Takeuchi O., Akira S., Kawata T., Azuma I., Toyoshima K., Seya T. Simultaneous blocking of human toll-like receptors 2 and 4 suppresses myeloid dendritic cell activation induced by mycobacterium bovis Bacillus calmette-guerin peptidoglycan // Infect. and Immunol.–2003.–71, N 8.–P. 4238–4249.
31. Travassos L. H., Girardin S. E., Philpott D. J., Blanot D., Nahori M. A., Werts C., Boneca I. G. Toll-like receptor 2-dependent bacterial sensing does not occur via peptidoglycan recognition // EMBO Rep.–2004.–5, N 10.–P. 1000–1006.
32. Triantafilou K., Triantafilou M., Dedric R. L. Interactions of bacterial lipopolysaccharide and peptidoglycan with a 70 and an 80 kDa protein on the cell surface of CD14+ and CD14-cells // Hum. Immunol.–2001.–62, N 1.–P. 50–63.
33. Takada H., Yokoyama S., Yang S. Enhancement of endotoxin activity by muramyl dipeptide // J. Endotoxin. Res.–2002.–8, N 5.–P. 337–342.
34. Leemans J. C., Vervoordeldonk M. J., Florquin S., van Kessel K. P., van der Poll T. Differential role of I-6 in lung

- inflammation induced by lipoteichoic acid and peptidoglycan from *Staphylococcus aureus* // *J. Resp. and Crit. Care Med.*—2002.—**165**, N 10.—P. 1445–1450.
35. Strober W., Murray P. J., Kitani A., Watanabe T. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2 // *Nat. Rev. Immunol.*—2006.—**6**, N 1.—P. 9–20.
 36. Антонов В. Г., Козлов В. К. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности // *Цитокины и воспаление.*—2004.—**3**, № 1.—С. 8–19.
 37. Pasare C., Medzhitov R. Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity // *Adv. Exp. Med. Biol.*—2005.—**560**.—P. 11–18.
 38. Peng S. L. Signaling in B cells via toll-like receptors // *Curr. Opin. Immunol.*—2005.—**17**, N 3.—P. 230–236.
 39. Xu D., Komai-Koma M., Liew F. Y. Expression and function of Toll-like receptor on T cells // *Cell Immunol.*—2005.—**233**, N 2.—P. 85–89.
 40. O'Connor G. M., Hart O. M., Gardiner C. M. Putting the natural killer cell in its place // *Immunology.*—2006.—**117**, N 1.—P. 1–10.
 41. Sivori S., Carlomagno S., Moretta L., Moretta A. Comparison of different CpG oligodeoxynucleotide classes for their capability to stimulate human NK cells // *Eur. J. Immunol.*—2006.—**36**, N 4.—P. 961–967.
 42. Myhre A. E., Stuestol J. F., Dahle M. K., Overland G., Thiemermann C., Foster S. J., Lilleaasen P., Aasen A. O., Wang J. E. Organ injury and cytokine release caused by peptidoglycan are dependent on the structural integrity of the glycan chain // *Infect. Immunol.*—2004.—**72**, N 3.—P. 1311–1317.
 43. Zhang X., Kimura Y., Fang C., Zhou L., Sfyroera G., Lambris J. D., Wetsel R. A., Miwa T., Song W. C. Regulation of Toll-like receptor-mediated inflammatory response by complement *in vivo* // *Blood.*—2007.—**110**, N 1.—P. 228–236.
 44. Lambris J. D., Allen J. B., Schwab J. H. *In vivo* changes in complement induced with peptidoglycan-polysaccharide polymers from streptococcal cell walls // *Infect. Immunol.*—1982.—**35**, N 1.—P. 377–380.
 45. Myhre A. E., Aasen A. O., Thiemermann C., Wang J. E. Peptidoglycan – an endotoxin in its own right? // *Shock.*—2006.—**25**, N 3.—P. 227–235.
 46. During K., Porsch P., Mahn A., Brinkmann O., Gieffers W. The non-enzymatic microbicidal activity of lysozymes // *FEBS Lett.*—1999.—**449**, N 2–3.—P. 93–100.
 47. de Waal Malefyt R., Abrams J., Bennett B., Figdor C. G., de Vries J. E. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes // *J. Exp. Med.*—1991.—**174**, N 5.—P. 1209–1220.
 48. Hoffmann E., Dittrich-Breiholz O., Holtmann H., Kracht M. Multiple control of interleukin-8 gene expression // *J. Leukoc. Biol.*—2002.—**72**, N 5.—P. 847–855.
 49. Myhre A. E., Stuestol J. F., Dahle M. K., Overland G., Thiemermann C., Foster S. J., Lilleaasen P., Aasen A. O., Wang J. E. Organ injury and cytokine release caused by peptidoglycan are dependent on the structural integrity of the glycan chain // *Infect. Immunol.*—2004.—**72**, N 3.—P. 1311–1317.
 50. Bera A., Biswas R., Herbert S., Kulauzovic E., Weidenmeier C., Peschel A., Gotz F. Influence of wall teichoic acid on lysozyme resistance in *Staphylococcus aureus* // *J. Bacteriol.*—2007.—**189**, N 1.—P. 280–283.
 51. Nash J. A., Ballard T. N., Weaver T. E., Akinbi H. T. The peptidoglycan-degrading property of lysozyme is not required for bactericidal activity *in vivo* // *J. Immunol.*—2006.—**177**, N 1.—P. 519–526.
 52. Kumar A., Zhang J., Yu F. S. Innate immune response of corneal epithelial cells to *S. aureus* infection: role of peptidoglycan in stimulating proinflammatory cytokine secretion // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*—2004.—**45**, N 10.—P. 3513–3522.
 53. Reikeras O., Wang J., Foster S., Utvag S. E. *Staphylococcus aureus* peptidoglycan impairs fracture healing: An experimental study in rats // *J. Orthop. Res.*—2007.—**25**, N 2.—P. 262–266.
 54. Ильинская А. Н., Пичугина Л. В., Олиферук Н. С., Львов В. Л., Пинегин Б. В. Компонент бактериального пептидогликана как фактор созревания макрофагов // *Иммунология.*—2005.—№ 1.—С. 12–15.
 55. Zeisberger E., Roth J. Tolerance to pyrogens // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*—1998.—**856**.—P. 116–131.
 56. Muhvic D., El-Samalouti V., Flad H. D., Radosevic-Stasic B., Rukavina D. The involvement of CD14 in the activation of human monocytes by peptidoglycan monomers // *Mediators Inflamm.*—2001.—**10**, N 3.—P. 155–162.
 57. Tsuchiya K., Toyama K., Tsuprun V., Hamajima Y. Pneumococcal peptidoglycan-polysaccharides induce the expression interleukin-8 in airway epithelial cells by way of nuclear factor-kappaB, nuclear factor interleukin-6, or activation protein-1 dependent mechanisms // *Laryngoscope.*—2007.—**117**, N 1.—P. 86–91.
 58. Dranoff G. Tumor immunology: immune recognition and tumor protection // *Curr. Opin. Immunol.*—2002.—**14**.—P. 161–164.
 59. Андропова Т. М., Дозморов И. М., Мустафаев М. И. Синтетические иммуномодуляторы.—М.: Наука, 1991.—199 с.
 60. Сетдикова Н. Х., Борисова А. М., Шульженко А. Е., Тверской К. А., Голубева Н. М., Андропова Т. М., Пинегин Б. В. Влияние нового иммуностимулятора гликопина на состояние здоровья и некоторые показатели иммунного статуса здоровья добровольцев // *Иммунология.*—1995.—№ 2.—С. 49–52.
 61. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Бутаков А. А., Андропова Т. М., Буланова Е. Г., Будагян В. А. Иммуноterapia инфекционных послеоперационных осложнений с помощью нового иммуностимулятора гликопина // *Иммунология.*—1994.—№ 2.—С. 47–50.
 62. Pluddemann A., Mukhopadhyay S., Gordon S. The interaction of macrophage receptors with bacterial ligands // *Exp. Rev. Mol. Med.*—2006.—**8**, N 28.—P. 1–25.
 63. Inamura S., Fujimoto Y., Kawasaki A., Shiokawa Z., Woelk E., Heine H., Lindner B., Inohara N., Kusumoto S., Fukase K. Synthesis of peptidoglycan fragments and evaluation of their biological activity // *Org. Biomol. Chem.*—2006.—**4**, N 2.—P. 232–242.
 64. Nowicki A., Szenajch J., Ostrowska G., Wojtowicz A., Wojtowicz K., Kruszewski A. A., Maruszynski M., Aukerman S. L., Wiktor-Jedrzejczak W. Impaired tumor growth in colony-stimulating factor 1 (CSF-1)-deficient, macrophage-deficient oplop mouse: evidence for a role of CSF-1-dependent macrophages in formation of tumor stroma // *Int. J. Cancer.*—1996.—**65**, N 1.—P. 112–119.
 65. Ohkuni H., Norose Y., Ohta M., Hayama M., Kimura Y., Tsujimoto M., Kotani S., Shiba T., Kusumoto S., Yokogawa K., Kawata S. Adjuvant activities in production of reagenic antibody by bacterial cell wall peptidoglycan or synthetic

- N-acetylmuramyl dipeptides in mice // *Infect. Immunol.*–1979.–**24**, N 2.–P. 313–318.
66. Kato I., Canzian F., Plummer M., Franceschi S., van Doorn L. J., Vivas J., Lopez G., Lu Y., Gioia-Patricola L., Severson R. K., Schwartz A. G., Mucoz N. Polymorphisms in genes related to bacterial lipopolysaccharide/peptidoglycan signaling and gastric precancerous lesions in a population at high risk for gastric cancer // *Dig. Dis. Sci.*–2007.–**52**, N 1.–P. 254–261.
67. Lin E., Nguyen A., Russell R. G., Pollard J. W. Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumours to malignancy // *Exp. Med.*–2001.–**193**.–P. 727–740.
68. Machenzie I. C., Rous P. The experimental disclosure of latent states: a study of the tartow or of rabbits // *Exp. Med.*–2001.–N 48–P. 365–389.
69. Ляшенко В. А., Воробьев А. А. Молекулярные основы иммуногенности антигенов.–М.: Медицина, 1988.–240 с.
70. Земсков В. М. Неспецифические иммуностимуляторы // *Успехи соврем. биологии.*–1991.–№ 3.–С. 444–459.
71. Heymer B. Biological properties of the peptidoglycan // *Z. Immunitatsforsch. Exp. Klin. Immunol.*–1975.–**149**, N 2.–P. 245–257.
72. Sava G., Tomasic J., Hrsak I. Antitumor and antimetastatic activity of the immunoadjuvant peptidoglycan monomer PGM in mice bearing MСa mammary carcinoma. // *Cancer Immunol. Immunother.*–1984.–**18**, N 1.–P. 49–53.
73. Рахмилевич А. Л. Бактериальные иммуномодуляторы в экспериментальной иммунологии // *Успехи соврем. биологии.*–1990.–**109**, № 12.–С. 379–392.
74. Hrsak I., Tomasic J., Osmak M. Immunotherapy of B-16 melanoma with peptidoglycan monomer // *Eur. Cancer Clin. Oncol.*–1983.–**19**, N 5.–P. 681–686.
75. Fiers W. Tumor necrosis factor. Characterization of the molecular, cellular and *in vivo* level // *FEBS Lett.*– 1991.–**285**, N 2.–P. 199–212.

УДК 612.017.1.579.861.2
Надійшла до редакції 16.04.07