

УДК 616-006-085:57.084

Г.Б. Артамонова, Ю.В. Яніш,  
В.О. Шляховенко

## МОДУЛЮЮЧИЙ ВПЛИВ ПОЛІСАХАРИДУ З ГРИБА *L. EDODES* НА ПРОТИПУХЛИННУ ДІЮ ГЛІПЕПТИДНОЇ ВАКЦИНИ

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р.Є. Кавецького НАН України, відділ біохімії пухлинного росту, м. Київ, Україна*

Аналіз сучасної наукової літератури переконливо свідчить, що вакцинотерапія пухлин вже сформувалася як самостійний досить перспективний напрям імунотерапевтичного лікування хворих на злоякісні новоутворення [4, 16]. Протипухлинні вакцини (ПВ) призначені для пригнічення росту вже виявленої пухлини чи попередження розвитку рецидивів і виникнення метастазів [7, 8].

Однією з найважливіших проблем, пов'язаних із застосуванням ПВ, є недостатня ефективність їх дії, обумовлена низькою імуногенністю антигенів пухлинних клітин (ПК) [1], а також появою і накопиченням в організмі онкологічного хворого низки порушень регуляторних і ефекторних ланок системи імунологічного нагляду [1, 13, 15]. Однією з успішних стратегій підвищення ефективності вакцинотерапії пухлин вбачається поєднане застосування разом з ПВ імунотропних речовин природного та синтетичного походження — так званих ад'ювантів (Ад) [9, 12]. Серед імунотропних речовин природного походження особливе місце займає група полісахаридів, виділених з вищих грибів, що вже тривалий час

широко застосовуються з лікувальною метою у східній медицині [5, 6], а також здатні потенціювати дію та знижувати вияв побічних ефектів хіміопроменевої терапії у онкологічних хворих [10, 11].

Метою дослідження було вивчити антиметастатичну ефективність ПВ на двох метастазуючих моделях пухлинного росту — карциномі легені Льюїс (CLL) та меланомі В16, у дозах 5 тис. та 100 тис. ЕПК/тв. окремо та в поєднанні з імуномодулятором, полісахаридною фракцією, виділеною з плодового тіла гриба *L. edodes* (ПСФ<sub>LE</sub>).

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для отримання модельних систем пухлинного росту ПК трансплантували у м'язи гомілки мишей лінії С57В1/6. Карциному легені Льюїс і меланому В16 трансплантували шляхом введення 400 тис. живих ПК [3]. Методом випадкового відбору миші попередньо були розділені на дослідні і контрольні групи. Введення глікопептидної протипухлинної вакцини (ГПВ) окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> здійснювали у профілактичному та терапевтичному режимах згідно схем, наведених на рис. 1–4. Тварини з контрольних груп аналогічно отримували ін'єкції фізіологічного розчину хлориду натрію.

Для оцінки антиметастатичної дії досліджуваних протипухлинних засобів на 28-му добу після трансплантації ПК у мишей вилучали легені, згідно етичних вимог роботи з тваринами, та досліджували їх на предмет метастатичного ураження [2]. Ефективність антиметастатичної дії оцінювали з використанням показників, що характеризують процес метастазування, зокрема за частотою та інтенсивністю метастазування,

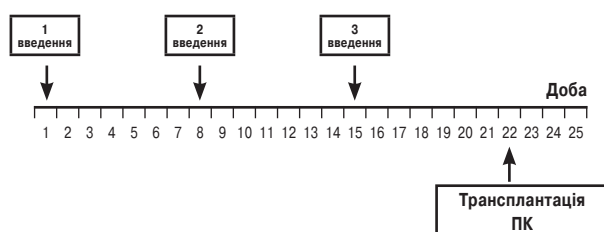


Рис. 1. Схема профілактичного введення досліджуваних субстанцій

Примітки: шлях введення — п/ш; кількість введень — 3; разова доза ГПВ — 100 тис. ЕПК; разова доза ПСФ<sub>LE</sub> — 5,0 мг/кг маси тіла тварини

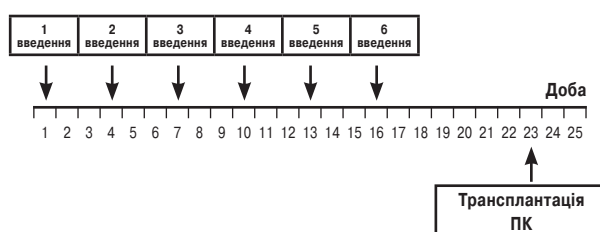


Рис. 2. Схема профілактичного введення досліджуваних субстанцій

Примітки: шлях введення — п/ш; кількість введень — 6; разова доза ГПВ — 5 тис. ЕПК; разова доза ПСФ<sub>LE</sub> — 0,25 мг/кг маси тіла тварини

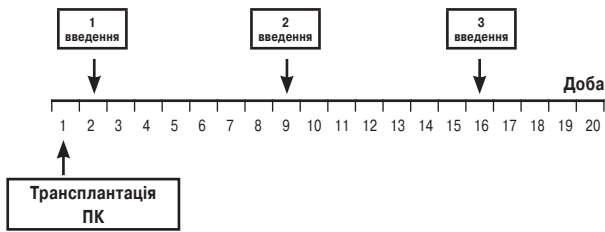


Рис. 3. Схема терапевтичного введення досліджуваних субстанцій

Примітки: шлях введення — п/ш; кількість введень — 3; разова доза ГПВ — 100 тис. ЕПК; разова доза ПСФ<sub>LE</sub> — 5,0 мг/кг маси тіла тварини

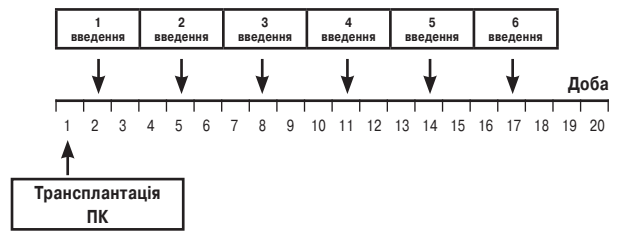


Рис. 4. Схема терапевтичного введення досліджуваних субстанцій

Примітки: шлях введення — п/ш; кількість введень — 6; разова доза ГПВ — 5 тис. ЕПК; разова доза ПСФ<sub>LE</sub> — 0,25 мг/кг маси тіла тварини

а також швидкістю росту метастазів. Для цього враховували кількість тварин у групі з ознаками метастатичного ураження легень, рахували середню кількість і розраховували середній загальний об'єм метастазів.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

М.М. Martínez-Montemayor et al. [14] показали, що полісахариди грибного походження мають не лише протипухлинну дію, але й антиметастатичну. Результати, наведені у табл. 1, співпадають з даними цих авторів та характеризують вплив профілактичного застосування ГПВ окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> на метастазування у мишей з трансплантованою CLL. Найбільш виражена антиметастатична активність була відмічена у мишей, які отримували ін'єкції ПВ у дозі 5 тис. ЕПК/тв. У цій групі частота виникнен-

ня первинної пухлини становила 90,0% (у 9 із 10 тварин), а частота метастазування — 80,0% (у 8 із 10 тварин). При цьому середня кількість метастазів досягала  $7,6 \pm 2,3$  у порівнянні з  $13,4 \pm 5,2$  у контролі ( $p < 0,05$ ), а об'єм метастазів наближався лише до  $80,4 \pm 7,9$  мм<sup>3</sup> проти  $101,8 \pm 11,6$  ( $p < 0,01$ ) відповідно. Слід зазначити, що згадані вище значення показників, які характеризують процес метастазування, були достовірно нижчими у мишей із цієї групи, якщо порівнювати з тваринами, які отримували ГПВ разом із ПСФ<sub>LE</sub> чи ПСФ<sub>LE</sub> окремо.

У всіх інших групах тварин, у переважній більшості випадків, спостерігалася лише тенденція до вияву антиметастатичної активності, оскільки всі відмічені зміни досліджуваних показників не виявляли статистично значимої різниці у порівнянні з контрольними значеннями,

Таблиця 1

Вплив профілактичного застосування глікопептидної протипухлинної вакцини окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> на метастазування у мишей з карциномою легені Льюїс

Група	n	Частота метастазування, %	Середня кількість метастазів <sup>(1)</sup> /тв	Середній об'єм метастазів, мм <sup>3</sup> (1)/тв
Контроль	8	100,0	$13,4 \pm 5,2$	$101,8 \pm 11,6$
ГПВ <sub>100</sub>	10	90,0	$14,2 \pm 2,7$	$107,6 \pm 13,1$
ГПВ <sub>5</sub>	10	80,0	$7,6 \pm 2,3^{*/##}$	$80,4 \pm 7,9^{**/##/aa/bb}$
ПСФ <sub>LE5,0</sub>	8	75,0	$9,1 \pm 3,0$	$97,2 \pm 11,6$
ПСФ <sub>LE0,25</sub>	8	62,5	$8,0 \pm 4,5^*$	$112,1 \pm 8,9$
ГПВ <sub>100</sub> + ПСФ <sub>LE5,0</sub>	10	80,0	$8,7 \pm 2,6^{\#}$	$99,3 \pm 12,7^c$
ГПВ <sub>5</sub> + ПСФ <sub>LE0,25</sub>	10	90,0	$11,1 \pm 4,4$	$116,0 \pm 10,1$

**Примітки.**

- <sup>(1)</sup> При обчисленні середньої кількості та середнього об'єму метастазів не враховували тварин, у яких візуально не було виявлено ознак метастатичного ураження легенів.
- ГПВ<sub>100</sub> та ГПВ<sub>5</sub> — ГПВ, введена у дозі 100 і 5 тис. ЕПК відповідно.
- ПСФ<sub>LE5,0</sub> та ПСФ<sub>LE0,25</sub> — ПСФ<sub>LE</sub>, введена у дозі 5,0 та 0,25 мг/кг маси тіла тварини відповідно.
- \*  $p < 0,05$  та \*\*  $p < 0,01$  порівняно з контролем.
- #  $p < 0,05$  та ##  $p < 0,01$  порівняно із застосуванням ГПВ<sub>100</sub>.
- aa  $p < 0,01$  порівняно із застосуванням ПСФ<sub>LE0,25</sub>.
- bb  $p < 0,01$  порівняно із застосуванням ГПВ<sub>5</sub> + ПСФ<sub>LE0,25</sub>.
- c  $p < 0,05$  порівняно із застосуванням ГПВ<sub>5</sub> + ПСФ<sub>LE0,25</sub>.

за винятком статистично значимого зменшення кількості метастазів під впливом введення 0,25 мг ПСФ<sub>LE</sub>/кг маси тіла тварини до 8,0±4,5 (p<0,05); при цьому показник частоти метастазування становив 62,5% (5 із 8), проти 100,0% (8 із 8 тварин) у контролі, тоді як ознак розвитку первинної пухлини не було виявлено лише у 12,5% (1 із 8) тварин (табл. 1).

Як свідчать дані з табл. 2, терапевтичне застосування ГПВ відображалось на частоті метастазування у мишей з трансплантованою епідермоїдною CLL. Зокрема, при введенні 5 тис. ЕПК, метастатичне ураження спостерігали у 66,7% (6 із 9) тварин, тоді як у контролі — у 85,7% (6 із 7) мишей.

Однак терапевтичне застосування ГПВ окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> у тварин із трансплантованою епідермоїдною CLL у жодному з випадків статистично достовірно не вплинуло на кількість метастазів, виявлених у легенях мишей (табл. 2). У той же час у групах тварин, яким вводили ГПВ у дозі 5 тис. ЕПК чи 5,0 мг ПСФ<sub>LE</sub>/кг маси тіла тварини спостерігалось пригнічення процесу розповсюдження метастазів (до 40%).

Слід зазначити, що хоча поєднане застосування ГПВ із ПСФ<sub>LE</sub> не вплинуло на процес поширення метастазів, оскільки не призводило до достовірно значимого зменшення їх кількості у легенях, проте значно відобразилося на гальмуванні росту осередків метастатичного ураження, про що свідчать знижені значення загально-

го об'єму метастатичних вузлів до 87,5±19,2 (p<0,01) і 98,7±29,9 мм<sup>3</sup> (p<0,01) при введенні ГПВ<sub>100</sub>+ПСФ<sub>LE5,0</sub> чи ГПВ<sub>5</sub>+ПСФ<sub>LE0,25</sub> відповідно у порівнянні з контролем — 145,2±21,7 мм<sup>3</sup> (табл. 2).

Антиметастатична активність ГПВ окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> була також досліджена на меланомі В16. Дані табл. 3 демонструють, що при здійсненні профілактичної вакцинації у дозі 100 тис. ЕПК у тварин із розвиненими пухлинами спостерігалось зменшення кількості та об'єму метастазів у легенях до 8,9±3,0 та 42,8±14,7 мм<sup>3</sup> (p<0,01) відповідно у порівнянні з контрольними значеннями — 10,5±2,2 і 83,5±6,6 мм<sup>3</sup> відповідно. Крім того, у 30,0% (3 із 10) мишей з цієї групи не спостерігалось ознак розвитку первинної пухлини та метастатичного ураження легенів.

Введення меншої дози ГПВ лише 5 тис. ЕПК супроводжувалось більш вираженою антиметастатичною дією. Середня кількість та середній об'єм метастазів були суттєво зниженими та склали 6,0±3,7 і 69,1±9,9 мм<sup>3</sup>, що в обох випадках становило достовірну різницю (p<0,01) у порівнянні з контрольними даними.

Поєднане застосування ГПВ<sub>100</sub> із ПСФ<sub>LE</sub> також виявляло антиметастатичну активність, однак вияв достовірного гальмівного впливу було відмічено лише на ріст метастазів: об'єм метастатичного ураження легенів знижувався до 62,9±11,5 (p<0,01) у порівнянні з контрольним значенням (табл. 3).

Таблиця 2

**Вплив терапевтичного застосування глікопептидної протипухлинної вакцини окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> на метастазування у мишей з трансплантованою епідермоїдною карциномою легені Льюїс**

Група	n	Частота метастазування, %	Середня кількість метастазів <sup>(1)</sup>	Середній об'єм метастазів, мм <sup>3</sup> <sup>(1)</sup>
Контроль	7	100,0	16,0±5,8	145,2±21,7
ГПВ <sub>100</sub>	9	85,7	13,4±4,0	120,2±17,9
ГПВ <sub>5</sub>	9	66,7	10,1±3,5	115,8±11,6
ПСФ <sub>LE5,0</sub>	7	71,4	10,4±4,8	101,3±15,7**
ПСФ <sub>LE0,25</sub>	7	100,0	15,5±5,0	129,0±25,4
ГПВ <sub>100</sub> + ПСФ <sub>LE5,0</sub>	10	70,0	13,7±3,6	87,5±19,2**/#
ГПВ <sub>5</sub> + ПСФ <sub>LE0,25</sub>	10	100,0	15,0±6,1	98,7±29,9**/a

**Примітки.**

- <sup>(1)</sup> При обчисленні середньої кількості та середнього об'єму метастазів не враховували тварин, у яких візуально не було виявлено ознак метастатичного ураження легенів.
- ГПВ<sub>100</sub> та ГПВ<sub>5</sub> — ГПВ, введена у дозі 100 і 5 тис. ЕПК відповідно.
- ПСФ<sub>LE5,0</sub> та ПСФ<sub>LE0,25</sub> — ПСФ<sub>LE</sub>, введена у дозі 5,0 та 0,25 мг/кг маси тіла тварини відповідно.
- \*\* p<0,01 порівняно з контролем.
- # p<0,05 порівняно із застосуванням ГПВ<sub>100</sub>.
- a p<0,05 порівняно із застосуванням ПСФ<sub>LE0,25</sub>.

**Вплив профілактичного застосування глікопептидної протипухлинної вакцини окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> на метастазування у мишей з трансплантованою сингенною меланою В16**

Група	n	Частота метастазування, %	Середня кількість метастазів <sup>(1)</sup> /тв	Середній об'єм метастазів, мм <sup>3</sup> (1)/тв
Контроль	10	90,0	10,5±2,2	83,5±6,6
ГПВ <sub>100</sub>	10	70,0	8,9±3,0	42,8±14,7**
ГПВ <sub>5</sub>	10	90,0	6,0±3,7**/#	69,1±9,9**/##
ПСФ <sub>LE5,0</sub>	10	80,0	6,6±2,6*	74,5±8,1
ПСФ <sub>LE0,25</sub>	10	100,0	8,2±2,5	80,6±5,7 <sup>cc</sup>
ГПВ <sub>100</sub> + ПСФ <sub>LE5,0</sub>	10	90,0	7,1±2,8	62,9±11,5**/#/b
ГПВ <sub>5</sub> + ПСФ <sub>LE0,25</sub>	10	90,0	10,8±3,1	96,2±9,5*/aa

**Примітки.**

- <sup>(1)</sup> При обчисленні середньої кількості та середнього об'єму метастазів не враховували тварин, у яких візуально не було виявлено ознак метастатичного ураження легенів.
- ГПВ<sub>100</sub> та ГПВ<sub>5</sub> — ГПВ, введена у дозі 100 і 5 тис. ЕПК відповідно.
- ПСФ<sub>LE5,0</sub> та ПСФ<sub>LE0,25</sub> — ПСФ<sub>LE</sub>, введена у дозі 5,0 та 0,25 мг/кг маси тіла тварини відповідно.
- \* p<0,05 та \*\* p<0,01 порівняно з контролем.
- # p<0,05 та ## p<0,01 порівняно із застосуванням ГПВ<sub>100</sub>.
- aa p<0,01 порівняно із застосуванням ГПВ<sub>5</sub>.
- b p<0,05 порівняно із застосуванням ПСФ<sub>LE5,0</sub>.
- cc p<0,01 порівняно із застосуванням ГПВ<sub>5</sub> + ПСФ<sub>LE0,25</sub>.

Терапевтичне застосування ГПВ на меланомі В16 виявилось дещо менш ефективним стосовно вияву антиметастатичної дії у порівнянні з профілактичними вакцинаціями (табл. 3 і 4). Частота виникнення пухлини у вакцинованих мишей була нижчою, ніж у контролі та становила 87,5% (7 із 8 тварин). Середня кількість метастазів відзначалася тенденцією до зниження і становила

6,2±3,9 та 7,6±3,3 при введенні 100 і 5 тис. ЕПК відповідно проти 9,8±2,7 у контролі. Середній об'єм метастазів у вакцинованих тварин також був нижчим, досягаючи 51,8±11,1 (p<0,01) і 79,5±9,3 мм<sup>3</sup> відповідно у порівнянні з контрольним значенням — 94,1±7,2 мм<sup>3</sup> (табл. 4).

При введенні тваринам лише ПСФ<sub>LE</sub> (5,0 і 0,25 мг/кг маси тіла тварини) у обох випадках

Таблиця 4

**Вплив терапевтичного застосування глікопептидної протипухлинної вакцини окремо чи поєднано з ПСФ<sub>LE</sub> на метастазування у мишей з трансплантованою сингенною меланою В16**

Група	n	Частота метастазування, %	Середня кількість метастазів <sup>(1)</sup> /тв	Середній об'єм метастазів, мм <sup>3</sup> (1)/тв
Контроль	8	87,5	9,8±2,7	94,1±7,2
ГПВ <sub>100</sub>	8	87,5	6,2±3,9	51,8±11,1**
ГПВ <sub>5</sub>	8	87,5	7,6±3,3	79,5±9,3##
ПСФ <sub>LE5,0</sub>	7	71,4	4,8±2,9*	64,2±13,7**/bb
ПСФ <sub>LE0,25</sub>	7	100,0	5,9±3,5	43,8±14,2**/aa
ГПВ <sub>100</sub> + ПСФ <sub>LE5,0</sub>	8	75,0	8,1±3,7	92,2±7,8##/bb/cc
ГПВ <sub>5</sub> + ПСФ <sub>LE0,25</sub>	8	87,5	6,8±2,2	69,7±11,4**/bb

**Примітки.**

- <sup>(1)</sup> При обчисленні середньої кількості та середнього об'єму метастазів не враховували тварин, у яких візуально не було виявлено ознак метастатичного ураження легенів.
- ГПВ<sub>100</sub> та ГПВ<sub>5</sub> — ГПВ, введена у дозі 100 і 5 тис. ЕПК відповідно.
- ПСФ<sub>LE5,0</sub> та ПСФ<sub>LE0,25</sub> — ПСФ<sub>LE</sub>, введена у дозі 5,0 та 0,25 мг/кг маси тіла тварини відповідно.
- \* p<0,05 та \*\* p<0,01 порівняно з контролем.
- ## p<0,01 порівняно із застосуванням ГПВ<sub>100</sub>.
- aa p<0,01 порівняно із застосуванням ПСФ<sub>LE5,0</sub>.
- bb p<0,01 порівняно із застосуванням ПСФ<sub>LE5,0</sub> чи ПСФ<sub>LE0,25</sub> відповідно.
- cc p<0,01 порівняно із застосуванням ГПВ<sub>5</sub> + ПСФ<sub>LE0,25</sub>.

спостерігалось виражене та достовірне пригнічення росту метастазів (середній об'єм метастатичного ураження становив  $64,2 \pm 13,7$  ( $p < 0,05$ ) і  $43,8 \pm 14,2$  мм<sup>3</sup> ( $p < 0,01$ ) відповідно), а також помітне зменшення середньої кількості метастазів до  $4,8 \pm 2,9$  ( $p < 0,05$ ) і  $5,9 \pm 3,5$ . Слід зазначити, що значення згаданих вище показників, які характеризують процес метастазування, були найнижчими саме при введенні ПСФ<sub>LE</sub> окремо, аніж при застосуванні ГПВ чи поєднаному введенні ГПВ з ПСФ<sub>LE</sub>, коли статистично достовірний антиметастатичний ефект порівняно до контролю був відмічений лише у випадку зменшення середнього об'єму метастазів до  $69,7 \pm 11,4$  мм<sup>3</sup> ( $p < 0,01$ ) при здійсненні ін'єкцій комбінацією ГПВ<sub>5</sub>+ПСФ<sub>LE0,25</sub>. Однак, також слід відмітити, що при введенні тваринам комбінації ГПВ<sub>100</sub>+ПСФ<sub>LE5,0</sub> частота метастазування була найнижчою та становила 75,0%, тоді як виникнення первинної пухлини було відмічене у 100,0% (8 із 8) тварин у групі.

Показано, що ПВ виявляє антиметастатичну активність, але через недостатню її імуногенність доцільно разом з нею використовувати імуномодулятор. Полісахарид, виділений з плодового тіла *L. edodes*, виявляє антиметастатичну активність і може бути використаний як Ад у поєднанні з глікопептидною ПВ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. — К.: Наукова думка, 2005. — 791 с.
2. Корнацький В.М., Сілантьєва О.В. Етичні аспекти досліджень лікарських засобів в Україні. — К., 2010. — 264 с.
3. Трещалина Е.М. Противоопухолевая активность веществ природного происхождения. — М.: Практическая медицина, 2005. — 270 с.
4. Aurisicchio L., Ciliberto G. Patented cancer vaccines: the promising leads // *Expert Opin. Ther. Path.* — 2010/ — Vol. 20 (5). — P. 647–660.
5. *The immunobiology of mushrooms* / A.T. Borchers, A. Krishnamurthy, C.L. Keen et al // *Exp. Biol. Med.* — 2008. — Vol. 233 (3). — P. 259–276.
6. Daba A.S., Ezeronye O.U. Anti-cancer effect of polysaccharide isolated from higher basidiomycetes mushrooms // *Afr. J. Biotechnol.* — 2003. — Vol. 2, № 12. — P. 672–678.
7. Dalglish A.G., Whelan M.A. Cancer vaccines as a therapeutic modality: the long trek // *Cancer Immunol. Immunother.* — 2006. — Vol. 55 (8). — P. 1025–1032.
8. Doyle K., Beer S., Vorhies P. The ongoing hopes and challenges of cancer. Part 1 // *Oncol. Business Rev.* — 2010. — P. 26–30.
9. Dubensky T.W. Jr., Reed S.G. Adjuvants for cancer vaccines // *Semin Immunol.* — 2010. — Vol. 22 (3). — P. 155–161.
10. *Clinical outcome of postoperative adjuvant immunotherapy with sizofiran for patients with resectable gastric cancer — a randomised controlled study* / S. Fuji-

moto, H. Furue, T. Kimura et al. // *Eur. J. Cancer.* — 1991. — Vol. 27. — P. 1114–1118.

11. *Effect of krestin (PSK) as adjuvant treatment on the prognosis after radical radiotherapy in patients with non-small cell lung cancer* / K. Hayakawa, N. Mitsuhashi, Y. Saito et al. // *Anticancer Res.* — 1993. — Vol. 13 (5C). — P. 1815–1820.
12. Higgins J.P., Bernstein M.B., Hodge J.W. Enhancing immune responses to tumor-associated antigens // *Cancer Biol. Ther.* — 2009. — Vol. 8 (15). — P. 1440–1449.
13. *Tumor-induced tolerance and immune suppression by myeloid derived suppressor cells* / I. Marigo, L. Dolcetti, P. Serafini et al. // *Immunol. Rev.* — 2008. — Vol. 222. — P. 162–179.
14. *Ganoderma lucidum (Reishi) Inhibits Cancer Cell Growth and Expression of Key Molecules in Inflammatory Breast Cancer* / M.M. Martínez-Montemayor, R.R. Acevedo, E. Otero-Franqui et al. // *Nutr. Cancer.* — 2011. — Vol. 63 (7). — P. 1085–1094.
15. Rabinovich G.A., Gabrilovich D., Sotomayor E.M. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells // *Ann. Rev. Immunol.* — 2007. — Vol. 25. — P. 267–296.
16. Srivastava P.K. Therapeutic cancer vaccines // *Curr. Opin. Immunol.* — 2006. — Vol. 18 (2). — P. 201–205.

#### МОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИСАХАРИДА ИЗ ГРИБА *L. EDODES* НА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЛИКОПЕПТИДНОЙ ВАКЦИНЫ

А.Б. Артамонова, Ю.В. Яныш, В.А. Шляховенко

Статья посвящена экспериментальному изучению одной из главных проблем онкологии — метастазированию опухолей. В статье представлены результаты исследования оригинальной противоопухолевой вакцины (ПВ) и полисахарида, выделенного из плодового тела гриба *L. edodes* (ПСФ<sub>LE</sub>). Показано, что ПВ и ПСФ<sub>LE</sub> не только угнетают процесс метастазирования, в частности уменьшают частоту возникновения метастазов, но также тормозят их рост и распространение. Антиметастатическая активность ГПВ и ПСФ<sub>LE</sub> зависит от режима применения, условий сочетания обоих способов и модельной системы опухолевого роста.

**Ключевые слова:** противоопухолевая вакцина, полисахаридная фракция (ПСФ<sub>LE</sub>), антиметастатическое действие, метастазы

#### MODULATING EFFECT OF MUSHROOM POLYSACCHARIDE *L. EDODES* ON THE ANTITUMOR ACTIVITY OF GLYCOPEPTIDE VACCINE

A.B. Artamonova, Yu.V. Yanysh, V.O. Shlyakhovenko

R.E. Kavetsky Institute of experimental pathology, oncology and radiobiology, National academy of sciences of Ukraine

The more scientists focus their activity on the biotherapy of the tumor growth. According to researchers much attention is focused on vaccine therapy of malignancies. However, cancer vaccines are not quite effective due to the low immunogenicity of tumor antigens. So they use various techniques to improve the immunogenicity of cancer vaccines. One of the most common approaches is the use of immunomodulators and immunoadjuvants. The aim of our study is to investigate the antitumor and antimetastatic action of the original glycopeptide antitumor vaccine and enhance its immunomodulating activity by using of polysaccharide isolated from the fruiting body of the fungus *L. edodes*. The article is devoted to the ex-

perimental study of one of the main problems of oncology — metastasis of tumors. The study was conducted on mice C57Bl/6. For modeling of tumor growth the living tumor cells of Lewis lung carcinoma (CLL) or B16 melanoma cells were transplanted in the shin muscles of mice. Efficiency of antimetastatic action was assessed by the frequency and intensity of metastasis and growth rate of metastases. We show that glycopeptidic vaccine and polysaccharide from mushroom *L. edodes* not only inhibit the incidence of metastasis process, but also reduce the cases of metastases and inhibit their growth and spread. Antimetastatic activity of cancer vaccine and mushroom polysaccharide differs depending on the application conditions of both means combining, and features of models of tumor growth.

**Key words:** tumor vaccine, polysaccharide faction, antimetastatic action, metastases.

УДК 616.993.19-07

Г.В. Білецька, І.І. Бенъ

## ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ГРАНУЛОЦИТАРНОГО АНАПЛАЗМОЗУ ЛЮДИНИ

Державна установа "Львівський НДІ  
епідеміології та гігієни МОЗ України",  
лабораторія трансмісивних вірусних інфекцій

Гранулоцитарний анаплазмоз людини (ГАЛ) — трансмісивне природно-вогнищеве захворювання, що викликається анаплазмами *A. phagocytophilum* і передається через укуси іксодових кліщів (*Acari, Ixodidae*) [13, 26]. Збудник ГАЛ виявлений практично у всіх регіонах, де розповсюджені іксодові кліщі, — у більшості країн Європи, у Росії, Кореї, Китаї, Японії та США [5, 22–24, 30]. Клінічні прояви ГАЛ мають широкий спектр: від безсимптомного або субклінічного до важких форм з розвитком поліорганної недостатності, а в окремих випадках (3–6%) — до летальних наслідків [14, 18, 22, 27].

Клінічна діагностика ГАЛ утруднена внаслідок відсутності патогномонічних симптомів. Наявність вираженого інфекційного синдрому у гострому періоді хвороби і поліморфізм клінічних проявів при ГАЛ є характерними й для багатьох інших інфекцій. Крім того, первинні симптоми різних кліщових інфекцій (кліщового вірусного енцефаліту — КВЕ, Лайм-бореліозу — ЛБ) можуть перекривати один одного та маскувати наявність змішаної інфекції [4, 7, 16].

У зв'язку з цим діагностику ГАЛ лише на основі клінічних проявів, особливо первинних, слід вважати недостатньою. Тому у центрі уваги дослідників залишаються можливості лабораторної верифікації.

Мета — провести аналіз та надати порівняльну характеристику сучасних методів лабораторної діагностики ГАЛ.

Основними показами для проведення лабораторного обстеження на ГАЛ є факт присмоктування (укусу) кліща; симптоми гострого гарячкового захворювання після укусу кліща; гострий безжовтяничний гепатит та/або ураження нирок після відвідування ендемічних за ГАЛ (ЛБ) територій; захворювання на ЛБ, КВЕ та/або моноцитарний ерліхіоз (внаслідок частого поєднання цих інфекцій з ГАЛ) [31, 32]. Сучасна лабораторна діагностика ГАЛ базується на прямих (методи мікроскопії, культуральний та ПЛР) та серологічних (імуносерологічних — ІФА, НРІФ, імуноблотингу) методах [12]. Робоча група з вивчення *Rickettsia, Coxiella, Anaplasma (Ehrlichia)* і *Bartonella* (EVWOG) Європейського товариства з клінічної мікробіології та інфекційних хвороб для лабораторної діагностики ГАЛ рекомендувала ІФА (ELISA) та НРІФ для виявлення специфічних антитіл, а також ПЛР для індикації ДНК збудника [21].

У гострому періоді захворювання індикацію *A. phagocytophilum* проводять методами мікроскопії, культуральним та ПЛР (табл. 1).

**Метод мікроскопії** (blood smear) полягає у виявленні інтрацитоплазматичних морул (мікроколоній *Anaplasma*) у нейтрофілах при світловій мікроскопії тонкого мазка крові, клітин кісткового мозку та цереброспінальної рідини, фарбованих за Романовським–Гімзою [19, 27].

Формування видимої морули відбувається на 3–7-й дні після інокуляції анаплазм у 0,1% (0,3–6,0%) лейкоцитарних клітин, тому надійність їх виявлення залежить від досвіду і навиків дослідника [8]. Оптимальним є перегляд 500 тропних клітин крові [11]. Відомості щодо чутливості методу значно різняться (від 3% до 75%) у різних авторів [26, 27]. Низька ефективність методу може бути зумовлена або недостатнім рівнем анаплазмії у імунокомпетентних пацієнтів, у яких важкі захворювання зазвичай пов'язані з дуже низьким бактеріальним навантаженням у крові, або обстеженням пацієнта у пізній (через 2 і більше тижнів від початку захворювання) стадії хвороби. Не дивлячись на недоліки, метод