

Ефекти тейхоєвої кислоти *Staphylococcus aureus* при пухлинному рості

Л. М. Сківка, М. П. Рудик, В. В. Позур, Н. В. Сенчило,
В. К. Позур, Т. М. Фурзікова

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Вул. Володимирська, 64, Київ, 03001, Україна

realmed@i.com.ua

Досліджували вплив тейхоєвої кислоти S. aureus Wood 46 на ріст і метастазування карциноми легені Л'юїс у мишей. Введення тейхоєвої кислоти у дозі 2 мкг/г одночасно з трансплантацією пухлинних клітин гальмувало ріст первинної пухлини і запобігало утворенню легневих метастазів у дослідних тварин.

Ключові слова: тейхоєва кислота, карцинома легені Л'юїс.

Вступ. Причетність мікроорганзмів до канцерогенезу, що проявляється у здатності мікробних клітин та їхніх продуктів впливати на перебіг пухлинного процесу в організмі, активно досліджують вчені всього світу протягом тривалого часу [1–3]. За деякими даними [4], мікробні агенти та їхні субклітинні компоненти спричиняють *in vivo* каскад запальних реакцій, наслідком яких може бути як супресія пухлинного росту, так і його прогресія. Вазоактивні метаболіти, ростові фактори та ферменти, які продукуються ефекторними клітинами запалення у відповідь на антигенний стимул мікробного походження, а також самими мікробними клітинами, сприяють розвитку злоякісних новоутворень [5–8]. Разом з тим, низка субклітинних компонентів бактеріальних клітин характеризується виразним протипухлинним ефектом [9, 10]. Серед них найдослідженішим є стафілококовий білок А, який використовують у клінічних дослідженнях [11, 12]. Крім того, бактерії та їхні

компоненти останнім часом застосовують у терапії онкологічних хворих як ад'юванти і високоімуногенні компоненти протипухлинних вакцин [13–15].

Особливу увагу приділяють дослідженню впливу на пухлинний ріст біологічно активних поверхневоклітинних бактеріальних структур, однією з яких є тейхоєва кислота (ТК) грампозитивних бактерій [16, 17]. На сьогоднішній день показано, що тейхоєві і ліпотейхоєві кислоти (ЛТК) проявляють властивості ендотоксину і здатні викликати під час бактеріальних інфекцій певні порушення в організмі та призводити до септичного шоку [18–21].

Вплив ТК на пухлинний ріст має неоднозначний характер. З одного боку, ТК стимулює проліферативну активність як нормальних, так і імморталізованих лімфоїдних клітин, чим може спричинити прогресію лімфопроліферативних захворювань [22]. З іншого боку, ЛТК та її похідні – потужні активатори прозапальної імунної відповіді, яка сприяє протипухлинному захисту організму [23, 24]. При цьому варто зазначити, що структурний поліморфізм препаратів тейхоєвих

кислот зумовлює відмінності у їхніх біологічних ефектах [25, 26].

Метою даної роботи було дослідити вплив тейхоевої кислоти *S. aureus* Wood 46 на ріст і метастазування карциноми легені Л'юїс у мишей.

Матеріали і методи. *Експериментальні тварини.* У досліді використано мишей-самиць лінії С57/В16 розведення віварію біологічного факультету КНУ імені Тараса Шевченка (вік 2–3 місяці, середня маса 20–25 г).

Експериментальна пухлина. Штам метастазуючої карциноми легені Л'юїс (3LL) люб'язно надано Банком клітинних культур і перещеплюваних експериментальних пухлин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Карциному легені Л'юїс перещеплювали підшкірно в ділянку крижового відділу по 0,2 мл 20 %-ї клітинної суспензії.

Динаміку пухлинного росту контролювали за таким показником: середня тривалість життя тварин (термін закінчення дослідження цього показника був лімітований тривалістю життя тварин у групах); розміри первинної пухлини на момент проведення досліджень, які оцінювали за середнім її об'ємом, обчисленим за формулою

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

де d_1 , d_2 – взаємоперпендикулярні перетини [27] та кількість метастазів у легені на момент загибелі тварин відповідно.

Отримання тейхоевої кислоти. ТК отримували зі штаму *S. aureus* Wood 46, який на даний час підтримується у музеї культур мікроорганізмів кафедри мікробіології та загальної імунології КНУ імені Тараса Шевченка. Культуру мікроорганізмів вирощували на МПА протягом 2 діб за $t = 37^\circ\text{C}$.

На першому етапі виділяли клітинні стінки мікроорганізмів. Для цього інактивовані бактеріальні клітини гомогенізували з абразивом [28]. Гомогенат пропускали через скляний фільтр, осаджували центрифугуванням. Осад промивали і обробляли розчином трипсину у фосфатному буфері (рН 7,6) з додаванням хлороформу. Отримані клітинні стінки ретельно відмивали дистильованою водою і ліофілізували.

ТК одержували за методикою Арчибальда [29] обробкою клітинних стінок 10 %-м розчином трихлороцтової кислоти. Отримані препарати розчиняли у дистильованій воді і ліофілізували.

Препарат ТК очищували іонообмінною хроматографією на ДЕАЕ-целюлозі [30]. Фракції тестували за результатами аналізу вмісту фосфору [31] та за поглинанням при довжині хвилі 260 нм на спектрофотометрі СФ-46. Позитивні за фосфором фракції, у яких відсутнє поглинання при 260 нм, об'єднували відповідно до кривої оптичної щільності елюату при довжині хвилі 820 нм, отриманої після спектрофотометрії, випарювали на холоді і ліофілізували.

Подальший аналіз ТК проводили за допомогою кислотного гідролізу та методом тонкошарової хроматографії [32].

Структурний тип ТК визначали, вивчаючи гідролізат методом висхідної паперової хроматографії [33]. Хроматограму проявляли сумішшю *n*-пропанол:гідрооксид амонію:вода (6:3:1 за об'ємом).

Досліджувані сполуки ідентифікували, порівнюючи положення плям суміші сполук і суміші стандартів.

Схема досліджень. У попередніх дослідженнях нами показано, що інактивовані клітини *S. aureus* здатні гальмувати ріст перещеплюваних пухлин у мишей у дозозалежний спосіб [34]. Для з'ясування питомого внеску у такий ефект ТК для імунізації тварин використовували три її концентрації: 250, 125 і 62,5 мкг/мл, що при введенні тваринам становить 2,0; 1,0 і 0,5 мкг/г маси відповідно. ТК у зазначених дозах ін'єктували підшкірно в ділянку крижового відділу в об'ємі 0,2 мл одночасно з перещепленням експериментальної пухлини (інтактним тваринам вводили ТК також підшкірно в ділянку крижового відділу в тих же дозах).

Експериментальні тварини розподілено на вісім груп (по 12 мишей):

- 1) інтактні тварини (А);
- 2) контрольні тварини-пухлиноносії (Б);
- 3) інтактні тварини, які отримали ТК у дозі 2,0 мкг/г (В);
- 4) інтактні тварини, які отримали ТК у дозі 1,0 мкг/г (Г);

Таблиця 1

Вплив тейхоєвої кислоти (ТК) *Staphylococcus aureus* на життєздатність мишей за норми і при пухлинному рості

Група	Кількість мишей у досліді	Кількість загиблих мишей	Термін загибелі з моменту введення ТК, доба	Смертність на момент закінчення експерименту, %
Контрольні інтактні тварини	12	0	–	0
Інтактні тварини, яким вводили ТК в дозі 2,0 мкг/г	12	6	17	50*
Інтактні тварини, яким вводили ТК в дозі 1,0 мкг/г	12	0	–	0
Інтактні тварини, яким вводили ТК в дозі 0,5 мкг/г	12	0	–	0
Контрольні тварини-пухлиноносії	12	0	–	0
Тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 2,0 мкг/г	12	4	12	33*
Тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 1,0 мкг/г	12	0	–	0
Тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 0,5 мкг/г	12	1	17	8

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з контрольними інтактними тваринами.

5) інтактні тварини, які отримали ТК у дозі 0,5 мкг/г (Д);

6) тварини-пухлиноносії, які отримали ТК у дозі 2,0 мкг/г (Е);

7) тварини-пухлиноносії, які отримали ТК у дозі 1,0 мкг/г (Є);

8) тварини-пухлиноносії, які отримали ТК у дозі 0,5 мкг/г (Ж).

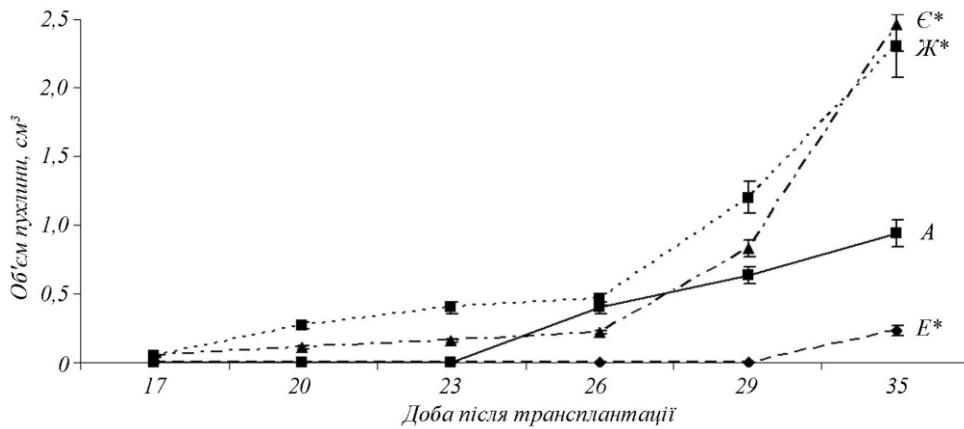
Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням *t*-критерію Ст'юдента.

Результати і обговорення. Зважаючи на здатність ТК спричинити токсичний ефект як на клітинному рівні, так і на рівні організму [35, 36], перший етап досліджень присвячено вивченню її впливу у зазначених вище дозах на життєздатність тварин у нормі і при пухлинному рості. За результатами досліджень (табл. 1), найтоксичнішою як для інтактних мишей, так і для мишей-пухлиноносіїв виявилася найвища доза ТК – 2,0 мкг/г. В інтактних тварин максимальна доза ТК призводила до 50 % смертності в групі на 17-ту добу після введення. У мишей, які вижили, токсична дія проявлялась у наявності локальних запалень шкіри в місці введення. ТК у менших дозах не впливала на тривалість життя інтактних мишей.

У мишей з карциною Л'юїс токсична дія ТК була дещо менш виразною. В групі тварин, які отримали ТК в максимальній дозі, на 12-ту добу після введення смертність складала 33 %. Токсичні ефекти ТК в максимальній дозі у решти (восьми) мишей також проявлялися в локальних запаленнях шкіри помірного характеру. ТК у дозах 1,0 і 0,5 мкг/г не впливала достовірно на життєздатність тварин з пухлинами протягом усього терміну досліджень (35 діб після перещеплення пухлини і введення ТК). В групі мишей, які отримали ТК в дозі 0,5 мкг/г, на 17-ту добу після введення загинула одна тварина.

ТК у всіх трьох застосованих дозах спричиняла різноспрямовану модифікувальну дію на ріст і метастазування експериментальних пухлин.

Як видно з представленого рисунка, ТК впливає на динаміку росту первинної пухлини в мишей з карциною Л'юїс у дозозалежний спосіб. Вже на початкових етапах після трансплантації пухлини (17–26-та доба після перещеплення) ТК у дозах 0,5 і 1,0 мкг/г помірно стимулювала ріст первинної пухлини. При цьому в групі тварин, які отримали ТК у дозі 0,5 мкг/г, спостерігалася виразніша стимуляція пухлинного росту. ТК в дозі 2,0 мкг/г не спричиня-



Вплив тейхоєвої кислоти (ТК) *S. aureus* на ріст карциноми легені Л'юїс у мишей ($n = 12$): А – контрольні тварини-пухлиноносії; Е – тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 2,0 мкг/г; Є – тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 1,0 мкг/г; Ж – тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 0,5 мкг/г. * $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними тваринами-пухлиноносіями

Таблиця 2

Вплив тейхоєвої кислоти (ТК) *Staphylococcus aureus* на метастазування карциноми легені Л'юїс у мишей

Група	Кількість мишей у досліді	Кількість мишей без метастазів	Середня кількість метастазів в одній тварини	ІГМ, %*
Тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 2 мкг/г	12	8	0**	100
Тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 1 мкг/г	12	2	17,92±6,04	–
Тварини-пухлиноносії, яким вводили ТК у дозі 0,5 мкг/г	12	0	23,15±5,85	–
Контрольні тварини-пухлиноносії	12	0	14,0±6,15	–

Примітка. *Індекс гальмування метастазування (ІГМ, %) розраховували за формулою $ІГМ = [1 - Д/К]100\%$, де К і Д – середня кількість метастазів в одній тварини у контрольній та дослідній групах відповідно; ** $p < 0,05$ порівняно з контрольними тваринами-пухлиноносіями.

ла відчутної дії на ріст первинної пухлини у цей період. На етапі зрілої пухлини (26–35-та доба після перещеплення), який супроводжується метастазуванням карциноми Л'юїс, у групах тварин, що отримали ТК в дозах 0,5 і 1,0 мкг/г, розміри первинних пухлин були в 2,5 рази більші відносно контрольних тварин-пухлиноносіїв. Тоді як у мишей, отримавших ТК в дозі 2,0 мкг/г, розміри первинної пухлини на момент закінчення експерименту були в 4 рази меншими порівняно з контролем.

Результати дослідження впливу ТК на метастазування карциноми легені Л'юїс (табл. 2) свідчать, що у тварин, яким препарат вводили в дозах 0,5 і 1,0 мкг/г спостерігається стимуляція процесу метастазування на 65,4 і 28% відповідно. Варто зазначити, що рівень метастазування в легені дослідних тварин цих груп характеризується значною індиві-

дуальною варіабельністю. В групі тварин, яким ТК ін'єктували в дозі 2,0 мкг/г, на момент закінчення експерименту у всіх мишей, що залишилися живими ($n = 8$), метастази в легенях були відсутніми.

Таким чином, ТК впливала на ріст і метастазування експериментальної карциноми легені Л'юїс у мишей. Спрямованість і виразність такого впливу залежали від дози препарату. Гальмування росту пухлини спричиняло лише введення ТК в максимальній з досліджуваних доз (2 мкг/г). Відомо, що розпізнавання бактеріальних структур, у тому числі ЛТК і ТК, відбувається із залученням toll-like рецепторів [37]. Останні (включаючи TLR2 і TLR4, лігандами яких є ТК і ЛТК) експресуються на поверхні багатьох клітин, у тому числі і клітин різних типів пухлин [38]. Взаємодія ТК і ЛТК зі специфічними рецепторами призводить до активації

продукування цитокінів. Причому залежно від дози ліганду можлива активація як прозапальних, так і протизапальних цитокінів [39]. У зв'язку з цим однією з імовірних причин обумовленості впливу ТК на ріст і метастазування карциноми легені Л'юїс у мишей дозою препарату можна вважати дозозалежну активацію продукування цитокінів різного профілю як клітинами пухлини, так і оточуючими нормальними клітинами. Гальмування росту і метастазування карциноми Л'юїс під впливом ТК у високій дозі може бути результатом розвитку локального запалення, про що свідчить наявність точкових виразок на шкірі тварин у місці введення ТК. Розвиток локального запалення сприяв гальмуванню росту і метастазування карциноми Л'юїс.

На завершення аналізу отриманих даних варто зазначити, що результати впливу на пухлинний ріст інактивованих цілих клітин золотавого стафілокока в концентраціях 110^9 , $0,510^9$ і $0,2510^9$ та очищеної ТК, яка орієнтовно міститься у таких же кількостях клітин, не збігаються. Інактивовані мікробні клітини в концентрації 110^9 , за результатами наших досліджень [34], стимулюють пухлинний ріст на всіх його етапах, у той час як очищена ТК в концентрації, що міститься в такій же кількості клітин, гальмує ріст і метастазування експериментальної пухлини. Нижчі концентрації інактивованих мікробних клітин, за нашими даними, гальмують пухлинний ріст, тоді як очищена ТК у відповідних кількостях сприяє розвитку пухлини. Одержані дані можна пояснити тим, що, як відомо з літератури [40–42], ТК у складі клітинних стінок і в очищеному стані спричиняє різноспрямовану біологічну дію. Всі припущення, висловлені стосовно механізму впливу ТК на ріст і метастазування карциноми Л'юїс, потребують подальшої експериментальної перевірки.

L. M. Skivka, M. P. Rudik, V. V. Pozur, N. V. Senchilo, V. K. Pozur, T. M. Fursikova

Effects of teichoic acid from *Staphylococcus aureus* on tumor growth

Summary

The influence of the teichoic acid from *S.aureus* Wood 46 on Lewis lung carcinoma growth and tumor dissemination was studied. The administration of teichoic acid in the dose of 2 g/g carried simultaneously with tumor cells transplantation inhibited the

primary tumor growth and prevented metastases formation in the experimental animals.

Key words: teichoic acid, Lewis lung carcinoma.

L. M. Skivka, M. P. Rudik, V. V. Pozur, N. V. Senchilo, V. K. Pozur, T. M. Fursikova

Эффекты теихоевой кислоты *Staphylococcus aureus* при опухолевом росте

Резюме

Исследовали влияние теихоевой кислоты *S. aureus* Wood 46 на рост и метастазирование карциномы Льюис у мышей. Введение теихоевой кислоты в дозе 2 мкг/г одновременно с трансплантацией опухолевых клеток тормозило рост первичной опухоли и предотвращало образование легочных метастазов у экспериментальных животных.

Ключевые слова: теихоевая кислота, карцинома легкого Льюис.

PERELIK LITERATURY

1. Zaridze D. G. Epidemiology, mechanisms of cancerogenesis and prevention of neoplasms // *Arkh. Pathol.*—2002.—**64**, N 2.—P. 53–61.
2. Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? // *Lancet.*—2001.—**357**.—P. 539–545.
3. Bobrovnik S. A. Infection, autoimmune diseases, atherosclerosis, infarct, stroke, cancerogenesis: what is in common? // *Ukr. Biokhim. Zh.*—2002.—**74**, N 4.—P. 135–140.
4. Coussens L. M., Werb Z. Inflammation and cancer // *Nature.*—2002.—**420**.—P. 860–867.
5. Keller R., Keist R., Gustafson J. E. Antitumor activity of bacteria and bacterial products: enhancement of the tumor-protective effect of bacteria by lipoteichoic acid // *Cancer Lett.*—1994.—**82**, N 1.—P. 99–104.
6. Konturek P. C., Konturek S. J., Pierzchalski P., Bielanski W., Duda A., Marlicz K., Starzynska T., Hahn E. G. Cancerogenesis in *Helicobacter pylori* infected stomach – role of growth factors, apoptosis and cyclooxygenases // *Med. Sci. Monit.*—2001.—**7**, N 5.—P. 1092–1097.
7. Hiromatsu Y., Toda S. Mast cells and angiogenesis // *Microsc. Res. Technol.*—2003.—**60**, N 1. P. 64–69.
8. Coussens L. M., Tinkle C. L., Hanahan D., Werb Z. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis // *Cell.*—2000.—**27**.—**103**, N 3.—P. 481–490.
9. Maeda H., Akaike T., Wu J., Noguchi Y., Sakata Y. Bradikinin and nitric oxide in infectious disease and cancer // *Immunopharmacology.*—1996.—**33**, N 1–3.—P. 222–230.
10. Terman D. S. Protein A and staphylococcal products in neoplastic disease // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*—1985.—**4**, N 2.—P. 103–124.
11. Quan W. D. Jr., Palackdharry C. S. Common cancers – immunotherapy and multidisciplinary therapy: Pts III and IV // *Dis. Mon.*—1997.—**43**, N 11.—P. 745–808.
12. Shimizu M., Matsuzawa A., Takeda Y. A novel method for modification of tumor cells with bacterial superantigen with a heterobifunctional cross-linking agent in immunotherapy of cancer // *Mol. Biotechnol.*—2003.—**25**, N 1.—P. 89–94.
13. Wang Q., Yu H., Zhang L., Ju D., Pan J., Xia D., He L., Wang J., Cao X. Vaccination with IL-18 gene-modified,

- superantigen-coated tumor cells elicit potent antitumor immune response // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*—2001.—**127**, N 12.—P. 718–726.
14. Lycke N. From toxin to adjuvant: the rational design of a vaccine adjuvant vector, CTA1-DD/ISCOM // *Cell Microbiol.*—2004.—**6**, N 1.—P. 23–32.
 15. Hara I., Sato N., Miyake H., Muramaki M., Hikosaka S., Kamidono S. Introduction of 65 kDa antigen of *Mycobacterium tuberculosis* to cancer cells enhances anti-tumor effect of BCG therapy // *Microbiol. Immunol.*—2004.—**48**, N 4.—P. 289–295.
 16. Mastrangelo M. J., Maguire H. C. Jr., Sato T., Nathan F. E., Berd D. Active specific immunization in the treatment of patients with melanoma // *Semin. Oncol.*—1996.—**23**.—P. 773–781.
 17. Sekine K., Ohta J., Onishi M., Tatsuki T., Shimokawa Y., Toida T., Kawashima T., Hashimoto Y. Analysis of antitumor properties of effector cells stimulated with a cell wall preparation (WPG) of *Bifidobacterium infantis* // *Biol. Pharm. Bull.*—1995.—**18**, N 1.—P. 148–153.
 18. Wang J. E., Dahle M. K., McDonald M., Foster S. J., Aasen A. O., Thiernemann C. Peptidoglycan and lipoteichoic acid in gram-positive bacterial sepsis: receptors, signal transduction, biological effects, and synergism // *Shock.*—2003.—**20**, N 5.—P. 402–414.
 19. Sriskandan S., Cohen J. Gram-positive sepsis. Mechanisms and differences from gram-negative sepsis // *Infect. Dis. Clin. N. Amer.*—1999.—**13**.—P. 397–412.
 20. Calvino L. F., Almeida R. A., Oliver S. P. Influence of bacterial factors on proliferation of bovine mammary epithelial cells // *Rev. Argent. Microbiol.*—2001.—**33**, N 1.—P. 28–35.
 21. Heumann D., Glauser M. P., Calandra T. Molecular basis of host-pathogen interaction in septic shock // *Curr. Opin. Microbiol.*—1998.—**1**, N 1.—P. 49–55.
 22. Bruserud O., Wendelbo O., Paulsen K. Lipoteichoic acid derived from *Enterococcus faecalis* modulates the functional characteristics of both normal peripheral blood leukocytes and native human acute myelogenous leukemia blasts // *Eur. J. Haematol.*—2004.—**73**, N 5.—P. 340–350.
 23. Okamoto M., Ohe G., Oshikawa T., Furuichi S., Nishikawa H., Tano T., Ahmed S. U., Yoshida H., Moriya Y., Saito M., Sato M. Enhancement of anti-cancer immunity by a lipoteichoic-acid-related molecule isolated from a penicillin-killed group A *Streptococcus* // *Cancer Immunol. Immunother.*—2001.—**50**, N 8.—P. 408–416.
 24. Okamoto M., Ohe G., Furuichi S., Nishikawa H., Oshikawa T., Tano T., Ahmed S. U., Yoshida H., Moriya Y., Matsubara S., Ryoma Y., Saito M., Sato M. Enhancement of anti-tumor immunity by lipoteichoic acid-related molecule isolated from OK-432, a streptococcal agent, in athymic nude mice bearing human salivary adenocarcinoma: role of natural killer cells // *Anticancer Res.*—2002.—**22**, N 6A.—P. 3229–3239.
 25. Gao J. J., Xue Q., Zuvanich E. G., Hagi K. R., Morrison D. C. Commercial preparations of lipoteichoic acid contain endotoxin that contributes to activation of mouse macrophages *in vitro* // *Infect. Immunol.*—2001.—**69**, N 2.—P. 751–757.
 26. Levels J. H. M., Abraham P. R., van Barneveld E. P., Meijers J. C. M., van Deventer S. J. H. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound lipoteichoic acid // *Infect. Immunol.*—2003.—**71**, N 6.—P. 3280–3284.
 27. Куценок В. В., Сквівка Л. М., Горобець О. Б., Лозинский М. О., Борисевич А. Н., Холін В. В., Гамалея Н. Ф. Использование 5-аминолевулоновой кислоты в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии опухолей (доклинические исследования) // *Онкология.*—2004.—**5**, № 3.—С. 225–230.
 28. Раїба Е. Я., Мацюк В. М., Мусиенко В. И. Гомогенизатор Л-17 // *Дезинтеграция микроорганизмов.*—Пушино-на-Оке, 1972.—С. 159–162.
 29. Арчибальд А. Р. Методы исследования углеводов.—М: Высш. школа, 1975.—350 с.
 30. Шапков А. С., Стрешинская Г. М., Козлова Ю. И. Структура тейхоевой кислоты клеточной стенки *Nocardioopsis alborubida* // *Биохимия.*—1997.—**62**.—С. 1127–1131.
 31. Hertha B., Tansky H., Shorr E. A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus // *J. Biol. Chem.*—1953.—**202**, N 2.—P. 675–683.
 32. Glaser L., Burger M. The synthesis of teichoic acid. 3 Glucosylation of poly (glycerol phosphate) // *J. Biol. Chem.*—1964.—**239**, N 3.—P. 3187–3191.
 33. Стрешинская Г. М., Козлова Ю. И., Евтушенко Л. И. Тейхоевая кислота клеточной стенки *Nocardioopsis* sp. ВКМ Ас-145 // *Биохимия.*—1996.—**61**, № 2.—С. 378–382.
 34. Сквівка Л. М., Путніков А. В., Позур В. В., Позур В. К. Вплив інтактного *S. aureus* на ріст карциноми Л'юїс у мишей // *Вісн. ОНУ.*—2004.—**10**, № 3.—С. 155–162.
 35. Kengatharan K. M., De Kimpe S. J., Thiernemann C. Role of nitric oxide in the circulatory failure and organ injury in a rodent model of gram-positive shock // *Brit. J. Pharmacol.*—1996.—**119**, N 7.—P. 1411–1421.
 36. Nau R., Eiffert H. Minimizing the release of proinflammatory and toxic bacterial products within the host: a promising approach to improve outcome in life-threatening infections // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*—2005.—**44**, N 1.—P. 1–16.
 37. Jassens S., Beyaert R. Role of toll-like receptors in pathogen recognition // *Clin. Microb. Rev.*—2003.—**16**, N 4.—P. 637–646.
 38. Zarembek K. A., Godowski P. J. Tissue expression of human toll-like receptors and differential regulation of toll-like receptors mRNAs in leukocytes in to microbes, their products, and cytokines // *J. Immunol.*—2002.—**168**.—P. 554–561.
 39. Netea M. G., van der Graaf C., van der Meer J. W., Kullberg B. J. Toll-like receptors and the host defense against microbial pathogens: bringing specificity to the innate-immune system // *J. Leuk. Biol.*—2004.—**75**, N 5.—P. 749–755.
 40. Moreno C., Sanchez-Ibarrola A. Toll type receptors: molecular bases of the relationship between innate and adaptation responses of the immune system // *Rev. Med. Univ. Navarra.*—2003.—**47**, N 3.—P. 29–33.
 41. Palaniyar N., Nadesaligam J., Reid K. B. Pulmonary innate immune proteins and receptors that interact with gram-positive bacterial ligands // *Immunobiology.*—2002.—**205**, N 4–5.—P. 575–594.
 42. Middeldveld R. J., Alving K. Synergistic septicemic action of the gram-positive bacterial cell wall components peptidoglycan and lipoteichoic acid in the pig *in vivo* // *Shock.*—2000.—**13**, N 4.—P. 297–306.