

UDC 577.155.2

Мітотична активність анти-гістон H1 sIgA-антитіл молока клінічно здорових породіль

М. О. Старикович, Р. С. Стойка, Ю. Я. Кіт

Інститут біології клітини НАН України
Вул. Драгоманова, 14/16, Львів, Україна, 79005

kit@cellbiol.lviv.ua

Мета. Раніше нами показано, що препарати антитіл (АТ), отримані з молока деяких клінічно здорових породіль осадженням 50 %-розчином сульфату амонію, володіють проліферативною активністю щодо трансформованих і пухлинних клітин *in vitro* (Кім Ю. та ін., 2008). Ми припустили, що мітотична активність цих препаратів АТ може бути пов'язана з присутністю у них анти-гістон H1 sIgA-антитіл. **Методи.** Для перевірки цієї гіпотези з молока клінічно здорових породіль методом поетапних хроматографій білків на білок А-агарозі, білок G-сефарозі і гістон H1-сефарозі одержано електрофоретично гомогенні анти-гістон H1 sIgA і досліджено їхній вплив на життєздатність Т-клітин лінії Jurkat лейкозу людини та клітин лінії SK-MEL меланоми людини. **Результати.** Встановлено, що анти-гістон H1 sIgA стимулюють проліферацію клітин лінії Jurkat, а також клітин лінії SK-MEL *in vitro*. Мітотичний ефект цих АТ підтверджено імуноблотингом за зростанням у клітинах рівня деяких сигнальних білків, залучених до проліферації (с-Мус, MAP- і cdc2-протеїнкінази). Нами також досліджено антигенну реактивність анти-гістон H1 sIgA щодо білків лізатів клітин SK-MEL. Визначено, що ці АТ виявляють спорідненість до низки білків з молекулярною масою 60, 55, 48 і 38 кДа. **Висновки.** Показано, що анти-гістон H1 sIgA-антитіла здатні стимулювати проліферацію Т-клітин ліній лейкозу Jurkat та меланоми SK-MEL людини *in vitro*. Мітотична дія цих АТ може бути пов'язана з їхньою перехресною імунореактивністю.

Ключові слова: молоко породіль, автоантитіла, анти-гістон H1 sIgA, пухлинні клітини, проліферація.

Вступ. Імунна система ссавців не лише забезпечує захист організму від впливу шкідливих чинників довкілля, але й залучена до регуляції біологічних функцій, які визначають його гомеостаз [1]. Важливу роль у підтриманні гомеостазу відіграють антитіла (АТ), направлені як до чужорідних антигенів, так і до антигенів власного організму (авто-АТ) [1, 2]. Авто-АТ виявлені в організмах як хворих на автоімунні та онкологічні захворювання, так і клінічно здорових людей [3]. У здорових людей авто-АТ представлені, головним чином, поліспецифічними низькоафінними імуноглобулінами класу М або високоспецифічними низькоафінними імуноглобулінами класу G (антидіотипові АТ), причетними до регуляції імунної відповіді [3, 4]. У хворих на автоімунні захворювання виявлено високоспецифічні

авто-АТ класу IgG, які можуть брати безпосередню участь у розвитку автоімунних процесів [5]. Визначення вмісту цих авто-АТ у сироватці крові людей стало новим підходом, який широко використовують у діагностиці різних автоімунних захворювань, а також у прогнозуванні розвитку хвороби у пацієнтів [6].

У секреторних рідинах людини також виявлено авто-АТ різної специфічності. Значний рівень секреторного імуноглобуліну А (sIgA) зі спорідненістю до актину, міозину, тубуліну і спектрину людини знайдено в слині і молозиві клінічно здорових жінок [7]. Такі імуноглобуліни отримали назву поліспецифічних sIgA-антитіл (полі-sIgA).

Вважають, що полі-sIgA з широкою антигенною специфічністю продукуються В1-лімфоцитами і забезпечують захист слизових оболонок матері і дитини від дії патогенної мікрофлори [8].

Іншим типом авто-АТ, виявлених у секреторних рідинах людини, є вузькоспецифічні анти-альфа-галактозильні АТ (анти-Gal АТ). Останні взаємодіють з вуглеводними залишками Gal- α -1,3-Gal- β -1,4-GalNAc-R (альфа-галактозильними епітопами) [9, 10]. Вони синтезуються у приблизно 1 % В-лімфоцитів у відповідь на дію антигенів бактерій кишечника. Анти-Gal АТ знайдено у людському молоці, слині, вагінальних змивах і жовчі. Вони здатні викликати аглютинацію еритроцитів кроля (ЕКА-АТ) і зв'язуватися з тироглобулінами бика, які містять альфа-галактозильні епітопи [11].

На відміну від секреторних рідин, де рівень sIgA є високим (3–5 мг/мл), у сироватці крові клінічно здорових людей вміст sIgA є низьким і становить в середньому 0,01–0,02 мг/мл. Визначено, що за деяких хронічних захворювань печінки і шлунково-кишкового тракту, автоімунних, онкологічних та низки інфекційних захворювань вірусного і бактерійного походження, а також у період вагітності рівень sIgA у сироватці крові людини значно зростає. Функціональну активність секреторних імунoglobulinів у плазмі крові вивчено недостатньо, хоча є дані, що дія цих антитіл може бути пов'язана з їхнім впливом на клітини імунної системи [11–19].

У попередніх дослідженнях нами встановлено, що препарати антитіл, виділені з молозива породіль, суттєво відрізняються між собою за дією на лейкозні Т-клітини лінії Jurkat. Залежно від донорів вони здатні індукувати апоптоз Т-клітин лінії Jurkat або стимулювати проліферацію цих клітин *in vitro* [20]. Такі дані засвідчують, що секреторні антитіла можуть також впливати на ріст і виживаність пухлинних клітин людини. У наступних дослідженнях нами показано, що цитотоксична активність препаратів секреторних АТ щодо пухлинних клітин пов'язана з присутністю у них анти-ДНК sIgA-антитіл [21].

Раніше нами визначено, що у сироватці крові хворих на множинну мієлому присутні IgG-антитіла зі спорідненістю до гістону H1 (анти-гістон H1 IgG-антитіла), які здатні стимулювати проліферацію Т-клітин лейкемії лінії СЕМ-Т4 *in vitro* [22]. Ми припустили, що молоко деяких породіль може містити анти-гістон H1 sIgA-антитіла з мітогенною активністю, подібно до анти-гістон H1 IgG-антитіл,

виявлених нами у сироватці крові хворих на множинну мієлому.

Мета цієї роботи полягала в отриманні електрофоретично гомогенних препаратів анти-гістон H1 sIgA-антитіл з молока клінічно здорових породіль і дослідженні їхнього впливу на пухлинні клітини *in vitro*.

Матеріали і методи. Молозиво породіль надано Львівським обласним перинатальним центром МОЗ України для проведення спільних досліджень.

Виділення антитіл зі спорідненістю до гістону H1 (анти-гістон H1 АТ) з молока людини. Анти-H1 sIgA виділяли з молозива клінічно здорових породіль методом послідовних хроматографій за наступною схемою [23]. На першому етапі молоко центрифугували при 5000 g, після чого фракцію сумарних АТ (IgG і sIgA) очищували хроматографією на колонці з білок А-агарозою («Sigma», США) згідно з [26]. Далі IgG- і sIgA-антитіла розділяли хроматографією на колонці з білок G-сефарозою. Фракцію sIgA (1–3 мг білка), яка не зв'язалася з сорбентом, діалізували проти 20 мМ трис-НСІ-буфера, рН 7,5, що містить 140 мМ NaCl (трис сольовий буфер, ТБС), протягом 18 год і наносили на колонку з гістон H1-сефарозою (об'єм 1 мл), попередньо зрівноваженою цим же буфером. Колонку промивали буфером для нанесення і анти-гістон H1 АТ елюювали 0,1 М гліцин-НСІ, рН 2,6. Елюат нейтралізували 1,5 М трис-НСІ, рН 7,5, і діалізували проти ТБС упродовж 18 год. Концентрацію білка в препаратах анти-гістон H1 АТ вимірювали на спектрофотометрі NanoDrop ND-1000 («NanoDrop Technologies», США) за довжини хвилі 280 нм.

Вплив препаратів анти-гістон H1 АТ молока людини на пухлинні клітини in vitro. Для дослідження дії препаратів sIgA використовували людські лейкозні Т-лімфоцити ліній Jurkat та клітини меланому людини лінії SK-MEL. Лінії клітин одержано з колекції Інституту експериментальної патології, онкології і радіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Клітини культивували у флаконах Карреля у поживному середовищі RPMI-1640 та DMEM («Sigma Chem. Co.», США) із додаванням 10 % сироватки крові ембріонів ВРХ («Sigma Chem. Co.»), 50 мкг/мл ген-таміцину («Sigma Chem. Co.») до досягнення клітинами субконфлюентного стану. Для досліду клі-

тини Jugkat у концентрації $1,5 \cdot 10^6$ клітин/мл висівали у 96-лункові культуральні пластикові планшети, а клітини SK-MEL – у 24-лункові планшети в концентрації $2,7 \cdot 10^4$ клітин/мл.

Після 2 год інкубації у лунки з суспензією клітин додавали досліджувані препарати анти-Н1 sIgA АТ (кінцева концентрація 0,04 мг/мл) і інкубували впродовж 24, 48 і 72 год. Забарвлення мертвих клітин здійснювали 0,1 %-м водним розчином трипанового синього. Кількість незабарвлених живих і забарвлених мертвих клітин підраховували у гемоцитометричній камері під світловим мікроскопом Біолам Р («ЛЮМО», Російська Федерація).

Вестерн-блот аналіз білків у лізатах досліджуваних клітин. До осаду клітин, промитих у фосфатно-сольового буфері (PBS), додавали лізувальний буфер (1 %-й тритон X-100, 20 мМ трис-НСІ, рН 7,4, за присутності суміші інгібіторів протеаз (Complete™, «Roche», Франція)) з розрахунку 50 мкл лізувального буфера на 1 млн клітин. Лізис клітин проводили протягом 30 хв на льоду. Лізати клітин центрифугували протягом 15 хв при 12000 g і відбирали надосадову рідину, до якої додавали 1/5 частину 5 × буфера Леммлі та прогрівали у киплячій воді протягом 5 хв. У такому вигляді зразки були готовими для проведення електрофоретичного аналізу й зберігалися за температури -20 °С до використання. Білки розділяли за допомогою денатурувального електрофорезу в 12 %-му поліакриламідному гелі (ПААГ) у присутності 0,1 %-го SDS за Леммлі [24]. Білки з ПААГ переносили на нітроцелюлозну мембрану («Hybond», США) за дії електричного струму з наступною обробкою отриманих блотів антитілами. Вільні центри зв'язування на мембрані блокували за кімнатної температури протягом 1 год 5 %-м розчином сухого знежиреного молока у PBS, який містить 0,05 % твіну-20. Після цього мембрану інкубували за присутності моноспецифічних кролячих антитіл до с-Мус, phospho-p44/42 MAP Kinase (Thr 202/Tyr204), cdc2 (Tyr15) («Cell signaling», США) та β-актину («Sigma») протягом 12 год за температури 4 °С при погоддуванні.

Імунокомплекси на мембрані виявляли за допомогою кон'югатів пероксидази хрому з антитілами кози («Sigma»), специфічними до IgG кроля. Вміст білків нормалізували відносно рівня β-актину піс-

ля обробки отриманих блотів кролячими антитілами, специфічними до β-актину.

Імунореактивні білкові зони виявляли методом хемілюмінесценції.

Визначення перехресної антигенної реактивності анти-гістон Н1 sIgA проводили Вестерн-блот аналізом з використанням двох альтернативних підходів щодо їхньої детекції. У першому випадку лізати клітин розділяли SDS-електрофорезом у 12 %-му ПААГ з наступним електроблотингом на нітроцелюлозну мембрану. Мембрани блокували 3 %-м розчином альбуміну у PBS з 0,05 % твіну-20 впродовж 18 год за температури 40 °С, після чого їх інкубували з попередньо біотинільованими анти-гістон Н1 sIgA-антитілами (60 мкг/мл) у буфері для блокування.

Імунореактивні білки на мембрані детектували за результатами хемілюмінесценції після обробки її впродовж 1,5 год розчином авідин-пероксидази хрому (1:10 000) у буфері для блокування з наступним відмиванням. У другому випадку після електрофорезу білків лізатів клітин SK-MEL і їхнього електроблотингу мембрани після блокування інкубували з нативними анти-гістон Н1 sIgA-антитілами у буфері для блокування. Імунореактивні білки виявляли за хемілюмінесценцією після обробки мембран кон'югованими з пероксидазою хрому антитілами IgG кроля, моноспецифічними щодо важких ланцюгів IgA людини («Sigma-Aldrich», США) у розведенні 1:6 000.

Статистична обробка результатів досліджень. Усі досліди повторювали 3–5 разів. У роботі наведено середні значення величин і стандартні похибки ($M \pm m$). Статистичний аналіз проводили за критерієм Ст'юдента (t). Достовірними вважали дані при $p \leq 0,05$. Побудову графіків і статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерних програм Origin 4.0 та Excel 97.

Результати і обговорення. Раніше встановлено, що sIgA-антитілам притаманна спорідненість до білок А-агарози і, на відміну від IgG-антитіл, вони не здатні зв'язуватися з сорбентом білок G-сефарозою [25]. Згідно з цим, анти-гістон Н1 sIgA виділяли з молока послідовними афінними хроматографіями, які включали: отримання сумарної фракції АТ молока хроматографією на колонці з білок А-

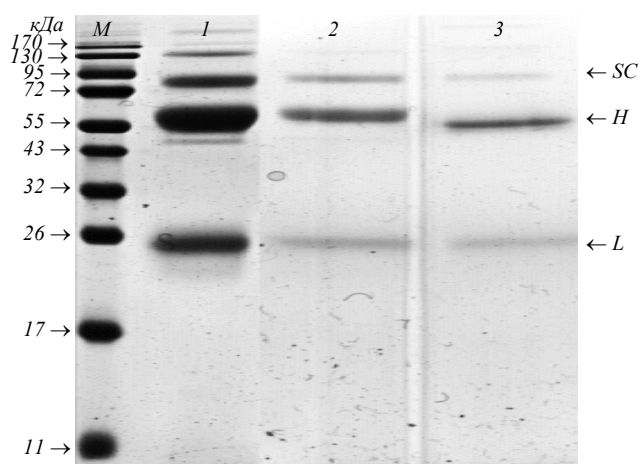


Рис. 1. Електрофорез у 12 %-му ПААГ за присутності додецилсульфату натрію препаратів sIgA, очищених з молока породіль послідовними хроматографіями на колонках з білок А-агарозою (1), білок G-агарозою (2) і гістон H1-сефарозою ((3). М – маркери молекулярної маси білків. Справа стрілками показано розташування на гелі поліпептидів молекул sIgA (SC – секреторний компонент; H – важкий і L – легкий ланцюги)

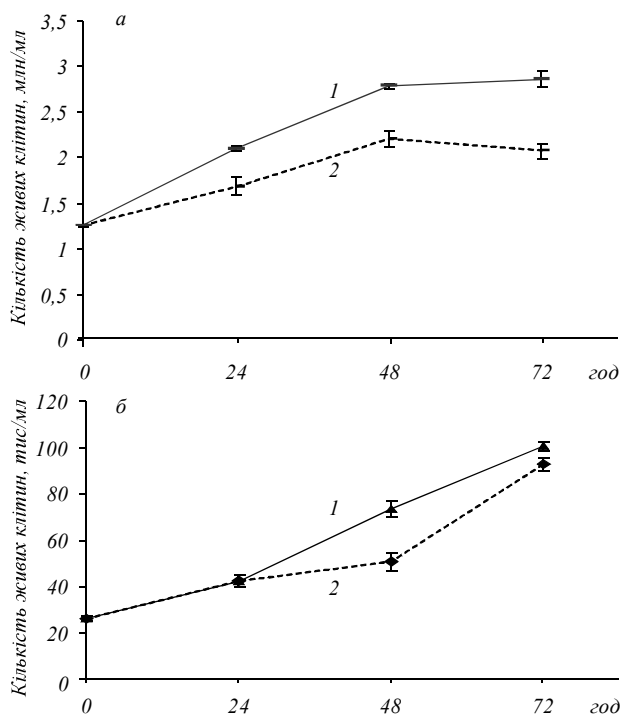


Рис. 2. Вплив анти-гістон H1 sIgA-антитіл на ріст і виживаність Т-клітин лінії Jurkat лейкозу людини (а) і лінії SK-MEL меланоми людини (б)

агарозою (рис. 1, доріжка 1), очищення sIgA антитіл від IgG хроматографією на колонці з білок G-сефарозою (рис. 1, доріжка 2); виділення анти-гістон H1 sIgA-антитіл хроматографією на колонці з гістон H1-сефарозою. Електрофоретичний аналіз очи-

щених таким чином білків показав, що вони складаються з поліпептидів, які за молекулярною масою відповідають секреторному компоненту (SC), а також важким (H) і легким (L) ланцюгам sIgA [26].

Очищені препарати анти-гістон H1 sIgA-антитіл досліджували на здатність впливати на ріст і життєздатність клітин *in vitro*. Клітинами-мішенями слугували Т-клітини лінії Jurkat (лейкоз людини) та SK-MEL (меланома людини). Як видно з даних рис. 2, а, рістстимулювальний ефект анти-гістон H1 sIgA щодо клітин лінії Jurkat спостерігався на 24-ту і 48-му год з максимальним приростом (1,4 разу) на 72-гу год інкубації. Подібний ефект також відмічено у разі, коли як мішені цих антитіл використовували клітини меланоми SK-MEL (рис. 2, б). При цьому максимум приросту клітин реєстрували на 48-му год інкубації.

Наведені дані вказують на те, що очищені з молозива клінічно здорових породіль анти-гістон H1 sIgA-антитіла здатні стимулювати проліферацію обох типів пухлинних клітин. Щоб перевірити це припущення, ми дослідили рівень деяких сигнальних білків, безпосередньо залучених до регуляції проліферації клітин. Для цього використали вестерн-блот аналіз лізатів клітин-мішеней лінії Jurkat та SK-MEL, інкубованих за присутності анти-гістон H1 sIgA-антитіл, або за відсутності цих АТ (рис. 3). Встановлено, що рівень MAP-кінази (p42/p44 Erk 1/2) (42, 44 kDa) в інкубованих з АТ клітинах суттєво зростає у порівнянні з контрольними клітинами. Також за дії анти-гістон H1 sIgA-антитіл у піддослідних клітинах виявлено підвищений рівень транскрипційного фактора c-Myc (57 кДа), який є внутрішньоклітинною молекулярною мішенню для MAP-кінази і бере участь у регуляції клітинного росту, а також може ініціювати проліферацію клітин [27–29].

Крім цього, зафіксовано значне зростання рівня фосфорильованої форми циклін-залежної кінази p-cdc2 (Tyr15) (34 кДа) у клітинах Jurkat та SK-MEL за присутності анти-H1 sIgA. Останнє свідчить про те, що за дії АТ молозива здорових породіль піддослідні клітини перебувають у фазі G1/S мітотичного циклу [30].

Таким чином, нами встановлено, що анти-гістон H1 sIgA-антитіла, очищені з молока клінічно

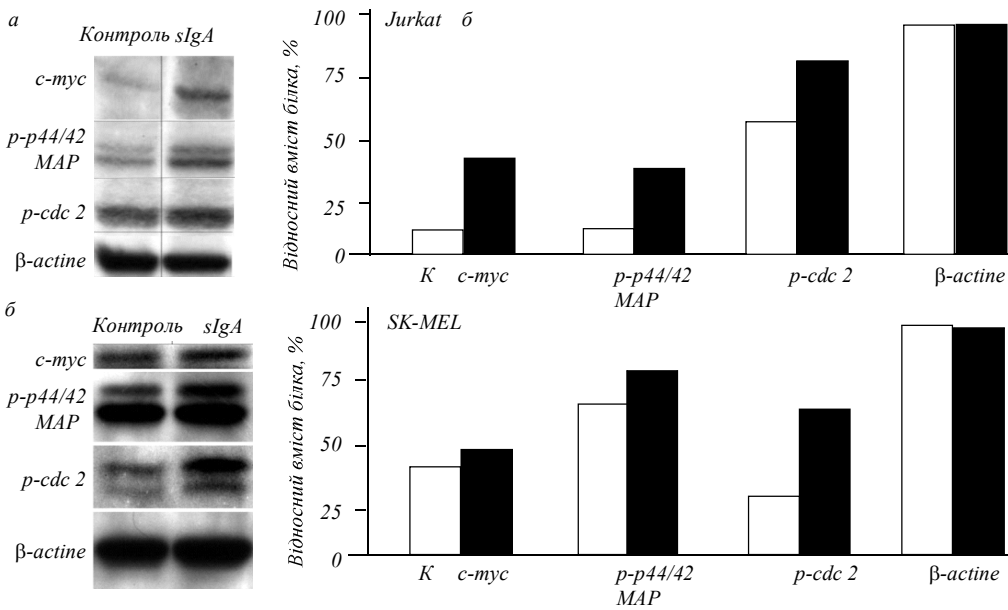


Рис. 3. Вестерн-блот аналіз рівня деяких білків, залучених до регуляції проліферації в клітинах ліній Jurkat і SK-MEL за дії анти-гістон Н1 sIgA-антитіл: а – імуноблот-аналіз білків лізатів клітин; б – відносний вміст регуляторних білків у клітинах

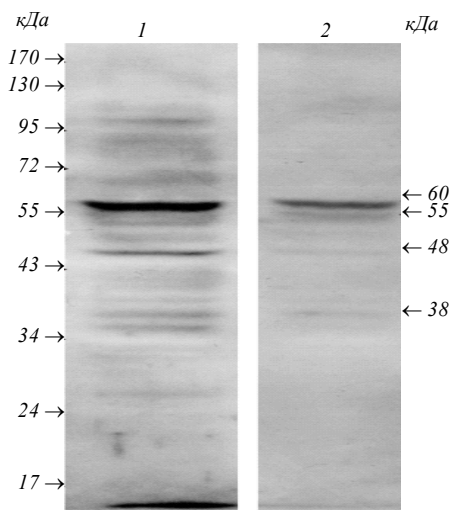


Рис. 4. Вестерн-блот аналіз спорідненості анти-гістон Н1 sIgA-антитіл щодо білків лізатів клітин меланоми лінії SK-MEL: 1 – для детекції антигенів використано попередньо біотинільовані анти-гістон Н1 sIgA-антитіла, виявлені за допомогою авідин-пероксидази хрому; 2 – мембрану обробляли анти-гістон Н1 sIgA-антитілами, а імунні комплекси визначали за допомогою кон'югованих з пероксидазою хрому IgG-антитіл кроля, моноспецифічних до важких ланцюгів в IgA людини

здорових породінь, здатні стимулювати проліферацію як Т-клітин лейкозу людини лінії Jurkat, так і клітин лінії SK-MEL меланоми людини *in vitro* (рис. 3, а, б).

На сьогодні залишається нез'ясованим, який саме механізм залучений до стимуляції проліферації клітин анти-гістон Н1 sIgA-антитілами. Можна припустити, що промітиотична активність цих секре-

торних антитіл базується на механізмах, пов'язаних з перехресною реактивністю антигістонових IgG- і sIgA-антитіл щодо позитивно заряджених білків. Антитіла з подібною антигенною специфічністю раніше виявлені нами у сироватці крові хворих на множинну мієлому системний червоний вовчак [22–31]. Поліреактивність таких АТ дозволяє припустити також можливість взаємодії антигістон Н1 sIgA-антитіл з білковими антигенами клітин-мишеней.

Для перевірки цього припущення клітини SK-MEL лізували у гіпотонічному буфері за присутності 1 %-го тритону X-100, після чого антигенну специфічність анти-ДНК sIgA-антитіл щодо білків лізату визначали Вестерн-блот аналізом із застосуванням двох незалежних способів виявлення імунокомплексів. У першому випадку для детекції імунореактивності використовували попередньо біотинільовані анти-гістон Н1 sIgA з наступною ідентифікацією їх на мембрані за допомогою кон'югату авідин-пероксидази хрому (рис. 4, доріжка 1). У другому випадку для детекції імунокомплексів на мембрані використано антитіла кроля, моноспецифічні до альфа-ланцюгів IgA (рис. 4, доріжка 2). Аналіз одержаних даних показав, що секреторні анти-гістон Н1-sIgA проявляють спорідненість до різних білків лізатів клітин меланоми, серед яких домінують білки з молекулярною масою 60, 55, 48 і 38 кДа. Хоча природу цих білків ще не встановлено, можна спрогнозувати, що серед цих білкових антигенів є рецептори

плазматичної мембрани, залучені до індукції проліферації клітин (наприклад, рецептори поліпептидних факторів росту [32]). Останнє вказує на те, що стимуляція проліферації клітин за дії анти-гістон H1 sIgA-антитіл може відбуватися рецептор-опосередкованим шляхом.

Оскільки молозиво і молоко породіль включають широкий спектр біологічно активних сполук, яким притаманна як рістстимулювальна, так і рістінгібувальна активність щодо клітин різних типів [20, 21, 25], то отримані нами дані не дають підстави вважати, що про-проліферативна активність цих секретів людини пов'язана лише з властивістю антитіл. До цього ефекту можуть бути причетні і стероїдні гормони, і фактори росту, раніше знайдені у складі молока людини [33].

На сьогодні запитання щодо дії анти-гістон H1 sIgA-антитіл на лімфоїдні клітини крові людини залишається нез'ясованим і потребує детального вивчення. Попередньо отримані нами дані вказують на те, що ці антитіла суттєво не впливають на життєздатність лімфоцитів крові людини *in vitro*, але стимулюють диференціацію ізольованих моноцитів у макрофаги за присутності форболміристил-ацетату (неопубліковані результати).

Висновки. Встановлено, що sIgA-антитіла молока клінічно здорових породіль, які очищено хроматографією на колонці з гістон H1-сефарозою (анти-гістон H1-sIgA), здатні стимулювати проліферацію *in vitro* Т-клітин лінії Jurkat лейкозу та лінії SK-MEL меланоми людини. Такий ефект може бути пов'язаний з перехресною імунореактивністю цих антитіл до білкових рецепторів клітин-мішеней.

Автори щиро вдячні головному лікареві Львівського пренатального центру Л. Б. Янів за надані зразки молока породіль.

M. O. Starykovich, R. S. Stoika, Yu. Ya. Kit

Mitotic activity of anti-histone H1 sIgA-antibodies from milk of healthy mothers

Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine
14/16, Drahomanov Str., Lviv, Ukraine, 79005

Summary

Aim. Earlier, we have shown that antibody (AT) preparations obtained by precipitation with 50 % ammonium sulfate from milk of some healthy mothers possess pro-proliferative activity toward transformed and tumor cells *in vitro* (Kit et al., 2008). We hypothesized that this effect is

associated with the presence of the anti-histone H1 sIgAs in AT preparations. **Methods.** To check this hypothesis, we obtained electrophoretically homogeneous anti-histone H1 sIgAs from milk of healthy mothers by sequential chromatography on protein A-Agarose, protein G-Sepharose and histone H1-Sepharose respectively. These Ab were tested on a proliferative activity toward human T-leukemia Jurkat and human melanoma SK-MEL cells. **Results.** It was found that anti-histone H1 sIgAs are able to stimulate proliferation of both tumor cell lines. Mitotic effect of these AB was confirmed with an increase of signal proteins involved in cell proliferation (c-Myc, MAP-and cdc2-protein kinases), detected by Western-blot analysis. We also studied the antigenic reactivity of anti-histone H1 sIgAs toward SK-MEL cell proteins. It was observed that these AB possessed an affinity for a number of melanoma cell proteins with molecular masses of 60, 55, 48 and 38 kDa. **Conclusions.** It has been found that anti-histone H1 sIgA antibodies can stimulate proliferation of human T-leukemia Jurkat and human melanoma SK-MEL cells *in vitro*. The cross reactivity of these AB could serve as an explanation of their mitotic activity toward the target cells.

Keywords: human milk, autoantibodies, anti-histone H1 sIgA, tumor cell, proliferation.

M. A. Старикович, Р. С. Стойка, Ю. Я. Кит

Митотическая активность анти-гистон H1 sIgA-антител молока клинически здоровых рожениц

Резюме

Цель. Ранее нами показано, что препараты антител (АТ), полученные из молока некоторых клинически здоровых рожениц осаждением 50 %-м раствором сульфата аммония, обладают пролиферативной активностью в отношении трансформированных и опухолевых клеток *in vitro* (Кит Ю. др., 2008). Мы предположили, что митотическая активность этих препаратов может быть связана с присутствием у них анти-гистон H1 sIgA-антител. **Методы.** Для проверки этой гипотезы из молока клинически здоровых рожениц методом постадийной хроматографии белков на белок А-агарозе, белок G-сефарозе и гистон H1-сефарозе получены электрофoretически гомогенные анти-гистон H1 sIgA и исследовано их влияние на жизнеспособность Т-клеток лейкоза человека линии Jurkat и клеток меланомы человека линии SK-MEL. **Результаты.** Установлено, что анти-гистон H1 sIgA стимулируют пролиферацию клеток линии Jurkat, а также клеток линии SK-MEL *in vitro*. Митотический эффект этих АТ подтвержден иммуноблоттингом по возрастанию в клетках уровня некоторых сигнальных белков, вовлеченных в пролиферацию (c-Myc, MAP- и cdc2-протеинкиназы). Нами также исследована антигенная реактивность анти-гистон H1 sIgA к белкам лизатов клеток SK-MEL. Определено, что эти АТ проявляют сродство к ряду белков с молекулярной массой 60, 55, 48 и 38 кДа. **Выводы.** Показано, что анти-гистон H1 sIgA-антитела способны стимулировать пролиферацию Т-клеток лейкоза линий Jurkat и меланомы SK-MEL человека *in vitro*. Митотическая активность этих АТ может быть связан с их перекрестной иммунореактивностью.

Ключевые слова: молоко рожениц, аутоантитела, анти-гистон H1 sIgA, опухолевые клетки, пролиферация.

REFERENCES

1. Poletaev A. B. The immunological homunculus (Immunculus) in norm and pathology // Biochemistry (Moscow).—2002.—67, N 5.—P. 600–608.

2. Mackay I. R. Burnet oration. Autoimmunity: paradigms of Burnet and complexities of today // *Immunol. Cell. Biol.*–1992.–**70**, Pt 3.–P. 159–171.
3. Avrameas S. Natural autoantibodies. from «horror autotoxicus» to «gnostic seauton» // *Immunol. Today.*–1991.–**12**, N 5.–P. 154–159.
4. Bouvet J. P., Dighiero G. From natural polyreactive autoantibodies to a la carte monoreactive antibodies to infection agents: is it a small world after all? // *Infect. Immun.*–1998.–**66**, N 1.–P. 1–4.
5. Dawson K. H., Bell D. A. Production and pathogenic effect of anti-DNA antibodies: relevance to antisense research // *Antisense Res. Dev.*–1991.–**1**, N 4.–P. 351–360.
6. Kurien B. T., Scofield R. H. Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus // *Scan. J. Immunol.*–2006.–**64**, N 3.–P. 227–235.
7. Bouvet J. P., Pires R., Iscaki S., Pillot J. Nonimmune macromolecular complexes of Ig in human gut lumen. Probable enhancement of antibody functions // *J. Immunol.*–1993.–**151**, N 5.–P. 2562–2571.
8. Quan C. P., Berneman A., Pires R., Avrameas S., Bouvet J. P. Natural polyreactive secretory immunoglobulin A autoantibodies as a possible barrier to infection in humans // *Infect. Immun.*–1997.–**65**, N 10.–P. 3997–4004.
9. Hamadeh R. M., Galili U., Zhou P., Griffiss J. M. Anti-alpha-galactosyl immunoglobulin A (IgA), IgG, and IgM in human secretions // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*–1995.–**2**, N 2.–P. 125–131.
10. Davin J. C., Malaise M., Foidart J., Mahieu P. Anti-alpha-galactosyl antibodies and immune complexes in children with Henoch-Schonlein purpura or IgA nephropathy // *Kidney Int.*–1987.–**31**, N 5.–P. 1132–1139.
11. Cheng H. M., Sam C. K. Bacterial immunity and immunogenesis of normal human salivary IgA and serum IgG2 antiphospholipid autoantibody: a link? // *Immunol. Lett.*–1990.–**26**, N 1.–P. 7–10.
12. Hanson L. A., Adlerberth I., Carlsson B., Zaman S. Hahn-Zoric M., Jalil F. Antibody-mediated immunity in the neonate // *Pediatr. Padol.*–1990.–**25**, N 5.–P. 371–376.
13. Jorgensen C., Bologna C., Gutierrez M., Anaya J. M., Reme T., Sany J. Serum levels of secretory IgA and *in vitro* production of IgA in rheumatoid arthritis // *Clin. Exp. Rheumatol.*–1993.–**11**, N 5.–P. 541–544.
14. Wilson T., Ganendren R. Serum concentration of secretory IgA in pregnancies delivering at term or preterm // *Prostaglandins.*–1992.–**44**, N 4.–P. 373–378.
15. Vincent C., Cozon G., Zittoun V., Mellquist M., Kazatchkine M. D., Czerkinsky C., Revillard J. P. Secretory immunoglobulins in serum from human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients // *J. Clin. Immunol.*–1992.–**12**, N 5.–P. 381–388.
16. Kuliha V. N., Malov Y. S., Dudarenko S. V., Pashyna M. H. Changes in the level of secretory immunoglobulin A in the blood of patients with whey ulcer // *Practical medicine.*–1999.–**69**, N 7.–P. 60–61.
17. Collado A., Sanmarti R., Serra C., Gallart T., Canete J. D., Gratacos J., Vives J., Munoz-Gomez J. Serum levels of secretory IgA in ankylosing spondylitis // *Scand. J. Rheumatol.*–1991.–**20**, N 3.–P. 153–158.
18. Fukuda Y., Imoto M., Hayakawa T. Serum levels of secretory immunoglobulin A in liver disease // *Am. J. Gastroenterol.*–1985.–**80**, N 4.–P. 237–241.
19. Kvale D., Rognum T. O., Brandtzaeg P. Elevated levels of secretory immunoglobulins A and M in serum of patient with large bowel carcinoma indicate liver metastasis // *Cancer.*–1985.–**59**, N 2.–P. 203–207.
20. Kit Yu. Ya., Starykovich M. O., Bilyy R. O., Skorohyd N. R., Yanyv L. B., Stoika R. S. Immunoglobulins of colostrum as novel molecular markers of preclinical diagnostics of autoimmune disorders in parturient women // *Biotechnology.*–2008.–**1**, N 3.–P. 37–46.
21. Starykovich M., Kit Yu., Stoika R. Cytotoxic activity of anti-DNA antibody sIgA in milk of clinically healthy mothers // *Studia Biologica.*–2011.–**5**, N 3.–P. 29–40.
22. Magorivska I., Bilyy R., Shalay O., Loginsky V., Kit Y., Stoika R. Blood serum immunoglobulins of patients with multiple myeloma are capable of hydrolysing histone H1 // *Exp. Oncol.*–2009.–**31**, N 2.–P. 97–101.
23. Kit Yu., Starykovich M., Mahorivska I., Bilyy R., Stoika R. Novel serine-protease like catalytic antibodies with double substrate proteolytic activity in human blood serum and colostrums // *Serine proteases: Mechanism, structure and evolution / Eds I. Chiba, T. Kamio.*–New York: Nova Sci. Publ. Inc., 2012.–P. 71–89.
24. Laemmly U.K. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.*–1970.–**227**, N 5259.–P. 680–685.
25. Kit Y., Stoika R. Catalytically active antibodies (abzymes) of human milk // *Ukr. Biokhim. Zh.*–2007.–**79**, N 2.–P. 5–16.
26. *Immunoglobulins* / Eds G. Litmen, R. Gud.–Moscow: Mir, 1981.–212 p.
27. Dhanasekaran N., Premkumar Reddy E. Signaling by dual specificity kinases // *Oncogene.*–1998.–**17**, N 11.–P. 1447–1455.
28. Chou T. Y., Hart G. W., Dang C. V. c-Myc is glycosylated at threonine 58, a known phosphorylation site and a mutational hot spot in lymphomas // *J. Biol. Chem.*–1995.–**270**, N 32.–P. 18961–18965.
29. Wasylischen A. R., Penn L. Z. Myc: the beauty and the beast // *Genes Cancer.*–2010.–**1**, N 6.–P. 532–541.
30. Galaktionov K., Chen X., Beach D. Cdc25 cell-cycle phosphatase as a target of c-myc // *Nature.*–1996.–**382**, N 6591.–P. 511–517.
31. Magorivska I. B., Bilyy R. O., Havryluk A. M., Chop'yak V. V., Stoika R. S., Kit Y. Y. Anti-histone H1 IgGs from blood serum of systemic lupus erythematosus patients are capable of hydrolyzing histone H1 and myelin basic protein // *J. Mol. Recognit.*–2010.–**23**, N 5.–P. 495–502.
32. Volodko N. A. Metastasis of cancer: the role of tumor environment factors.– L'viv: Missioner, 2002.–177 p.
33. Takeda T., Sakata M., Minekawa R., Yamamoto T., Hayashi M., Tasaka K., Murata Y. J. Human milk induces fetal small intestinal cell proliferation involvement of a different tyrosine kinase signaling pathway from epidermal growth factor receptor // *J. Endocrinol.*–2004.–**181**, N 10.–P. 449–457.

Received 20.10.12