

# ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПЕПТИДНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

Л.А. Андреева<sup>1</sup>, М.В. Мезенцева<sup>2</sup>, А.Н. Наровлянский<sup>2</sup>, И.Ю. Нагаев<sup>1</sup>,  
И.М. Шаповал<sup>2</sup>, В.Э. Щербенко<sup>2</sup>, Л.И. Руссу<sup>2</sup>, Н.Ф. Мясоедов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Москва

<sup>2</sup> ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, Москва

**Резюме.** В данной работе исследовали *in vitro* и *in vivo* действия пептидов на синтез цитокинов (IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF $\alpha$ ) на уровне их транскрипции и продукции. Изучение эффекта синтезированных пептидов показало, что практически все они обладали противовирусной активностью по отношению к исследованным патогенам (ВПГ, грипп А H3N2, ВЭМК) в той или иной степени. Объяснение этому нашлось при исследовании индукции цитокинового ответа под действием пептидов в норме и при вирусных инфекциях *in vitro*. Однако данные, полученные *in vivo*, более адекватно характеризуют противовирусную активность синтезированных пептидов. Результаты работы показали, что минимальными фрагментами, обладающими противовирусными свойствами являются дипептиды Thr-Lys и Gly-Pro; большей противовирусной активностью обладал дипептид Gly-Pro. Таким образом, подтверждена наша концепция о возможности выделения минимального фрагмента, обладающего противовирусной активностью из последовательности пептида Селанк, что дает возможность направленного конструирования новых лекарственных пептидов, пригодных для борьбы с социально-значимыми заболеваниями (грипп, герпес и др.).

*Ключевые слова:* пептиды, глипролины, Селанк, цитокины, фармакофор.

## THE PERSPECTIVES OF DEVELOPMENT OF NEW PEPTIDE PREPARATIONS FOR CLINICAL USE WHICH HAVE ANTI-INFECTION AND IMMUNE-MODULATING ACTIVITY

Andreeva L.A., Mezentseva M.V., Narovlianskiy A.N., Nagaev I.Ju., Shapoval I.M., Tcherbenko V.E.,  
Russu L.I., Miasoedov N.F.

**Abstract.** The aim of current work is to study influence of peptides *in vitro* and *in vivo* on cytokines synthesis (IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF $\alpha$ ) on the level of their transcription and production. The study of synthesized peptides has shown that all of them had antiviral activity related to tested pathogens (HSV, influenza H3N2, VEMC) with different grade. It could be explained by induction of cytokine response under the action of peptides in norm and in case of viral infections *in vitro*. However, data obtained *in vivo*, more adequately characterized antiviral activity of synthesized peptides. The results of study have shown that minimal fragments which had antiviral characteristics are dual peptides Thr-Lys and Gly-Pro; more active as antiviral was peptide Gly-Pro. Thus, our conception about possibility of minimal fragment's selection from Selank peptide sequence having antiviral activity has been confirmed. This make possible directional construction of new peptides for clinical use which will be helpful in combating with social related diseases as influenza, herpes viral infection etc. (*Infekc. immun.*, 2011, vol. 1, N 2, p. 171–176)

*Key words:* peptides, glycoprolines, Selank, cytokines, pharmacophor.

поступила в редакцию 11.11.2010  
отправлена на доработку 15.11.2010  
принята к печати 27.01.2011

### Адрес для переписки:

Андреева Людмила Александровна,  
к.х.н., старший научный сотрудник  
Учреждения РАН «Институт  
молекулярной генетики РАН»

123182, Москва, пл. акад. Курчатова, 2,  
Институт молекулярной генетики РАН.  
Тел./факс: (499)196-02-16 (служебн.).  
E-mail: landr@img.ras.ru

© Андреева Л.А. и соавт., 2011

Разработка новых лекарственных препаратов и изучение механизмов их действия обязательно сопровождается исследованиями *in vitro* и *in vivo* в различных модельных системах для предварительной оценки эффективности. Исследование степени воздействия нового препарата, планируемого для применения у людей, на иммунную систему является необходимой частью в комплексе доклинического изучения лекарственных средств, которые можно моделировать в системах *in vitro* и *in vivo* [3]. Известно, что естественный иммунитет является первой линией защиты организма от патогена, осуществляет его детекцию и организует серию иммунных реакций для ограничения репликации патогена и минимизирования повреждения ткани. Роль «дирижера» в таком иммунном ответе играют «сигнальные» молекулы — цитокины [5, 6, 7].

В результате исследований последних лет выделен новый класс регуляторных пептидов — глипролинов [1]. Глипролины относятся к олигопептидам, некоторые из которых перспективны для медицинского применения. Обычно, наряду с тестированием специфической активности препаратов, изучают их влияние на показатели системы иммунитета при различных патологических процессах. И уже после выявления наиболее перспективных пептидов и фармакофора, ответственного за эти свойства, их рекомендуют в качестве кандидатов в новые лекарственные препараты для профилактики и лечения различных заболеваний.

Все исследования специфической активности синтезированных пептидов при инфекциях человека проводились *in vivo* и *in vitro* в соответствии с методическими указаниями [2, 3, 4]. В данной работе исследовали при воздействии пептидов экспрессию генов 11 различных цитокинов (IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF $\alpha$ ) по синтезу их мРНК методами обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в клеточных культурах и в клетках, выделенных из крови и селезенки мышей [8–13]. Изменение продукции цитокинов в клеточных культурах определяли с помощью мультиплексного анализа биомаркеров с применением микросфер (Био-Плекс, Био-Рад Лаборатория).

### Изучение механизмов действия пептидов *in vitro*

Нами были проведены исследования механизмов действия синтезированных пептидов *in vitro* в диплоидных клетках человека (фибробласты эмбриона человека — ФЭЧ), клетках рака мочевого пузыря (U-937), моноцитарного лейкоза (Л-41), почек зеленой мартышки (Vero), почек собак (MDCK) в норме и при заражении различными вирусами. Отдельно такие же исследования были выполнены *in vivo* на здоровых и зараженных вирусом энцефаломиокардита мышах.

В табл. 1 и 2 представлены результаты экспериментов *in vitro* на примере клеток ФЭЧ. Показан синтез цитокинов под действием пептидов

**ТАБЛИЦА 1. СИНТЕЗ мРНК ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ ФЭЧ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕПТИДОВ**

Исследуемые пептиды	IFN $\alpha$	IFN $\gamma$	IL-1 $\beta$	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-18	TNF $\alpha$
Семакс	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
Селанк	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
Thr-Lys-Pro-Gly-Pro	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-
Pro-Arg-Pro-Gly-Pro	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Arg-Pro-Gly-Pro	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Pro-Gly-Pro	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Thr-Lys	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Thr-Lys-Pro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Thr-Lys-Pro-Arg	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Lys-Pro-Arg	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
Arg-Pro	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+
Gly-Pro	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Контроль ФЭЧ	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+

**Примечание:** (+) — наличие мРНК цитокина, (-) — отсутствие мРНК цитокина.

ТАБЛИЦА 2. СИНТЕЗ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ ФЭЧ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕПТИДОВ

Исследуемые пептиды	Количество цитокина, вырабатываемого в клетках (пкг/мл)									
	IFN $\gamma$	IL-1 $\beta$	IL-2	IL-4	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	TNF $\alpha$
Семакс	0	0	0	45,6	25,53	8,95	2886,9	10	0	0
Селанк	0	0	29,26	297,43	108,75	19,97	2307	5,95	0	0
Thr-Lys-Pro-Gly-Pro	0	0	0	338,48	30,31	8,95	2305	0	0	215,85
Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro	0	128,58	0	297,43	16,1	35,13	2451	0	0	0
Pro-Arg-Pro-Gly-Pro	12,06	164,51	19,33	243,58	44,9	29,39	2717	1,97	0	268,48
Arg-Pro-Gly-Pro	0	0	0,02	0	81,57	0	2166	0	0	0
Pro-Gly-Pro	0	0	0	0	2,26	1,77	2509	0,98	0	0
Thr-Lys	0	0	0	0	54,87	16,27	3023	0	0	0
Thr-Lys-Pro	0	0	9,58	0	35,14	0	3109	0	0	0
Thr-Lys-Pro-Arg	14,13	0	0	18,13	49,87	27,49	2486	0	0	0
Lys-Pro-Arg	0	238,5	0	0	44,91	27,49	2794	0	0	190,07
Arg-Pro	0	95,16	0	0	95,1	50,85	3051	0	0	0
Gly-Pro	21,55	115,25	70,13	283,91	168,9	8,95	2833	0	0	0
Контроль ФЭЧ	0	0	0	0	37,57	1,77	2781	0	0	0

на уровне транскрипции и продукции. Пептиды по разному влияют на синтез цитокинов в нормальных первично трипсинизированных клетках человека, что важно при выборе препарата для коррекции нарушений цитокинового профиля, и, в конечном счете, профилактики иммунодефицитных состояний.

Нам бы хотелось обратить внимание на препараты, которые подавляют синтез IL-4, IL-10 и IFN $\gamma$ , т.к. при аутоиммунных заболеваниях, включая аллергические реакции, реактивный артрит, рассеянный склероз и др., повышение продукции именно этих цитокинов коррелирует с обострением процесса. Полученные нами данные показывают, что пептид Arg-Pro отвечает данным требованиям, ингибируя в клетках человека синтез IL-10 и IFN $\gamma$  уже на уровне транскрипции. Отмечено, что пептид Gly-Pro также подавляет транскрипцию IL-10 и IFN $\gamma$ , но продукция IL-4 и IFN $\gamma$  остается на высоком уровне. Следовательно, этот пептид не отвечает поставленным требованиям.

Также нами проведены исследования синтеза цитокинов в динамике в клеточных культурах U-937 и Л-41 в зависимости от времени действия пептидов. Пептиды оказывали разное влияние на синтез цитокинов на транскрипционном уровне в зависимости от вида опухолевых клеток и времени действия препарата. Эти обстоятельства, по-видимому, необходимо учитывать при выборе лечебных средств для коррекции нарушений цитокинового баланса

при опухолевой прогрессии и возможной терапии новообразований.

Далее мы провели исследования влияния пептидов на экспрессию генов цитокинов в клетках Vero при экспериментальной герпесвирусной инфекции, вызванной вирусом простого герпеса 2 типа (ВПГ-2) *in vitro*. Отмечено, что ВПГ-2 вызывал подавление транскрипции IFN $\alpha$  и активацию транскрипции IL-2 (Th1), а также IL-4 (Th2) и IL-6 (Th17). Исследования показали, что среди пептидов можно выбрать препараты, воздействующие на синтез мРНК как противовоспалительных, так и провоспалительных цитокинов, T1 (IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12) и T2 (IL-4, IL-6, IL-10). Также введение ряда пептидов вызывало в клетках, зараженных ВПГ-2, активную транскрипцию цитокинов, вырабатываемых В-лимфоцитами и клетками макрофагально-моноцитарного ряда (IFN $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, TNF $\alpha$ ). То есть, по-видимому, ориентируясь на проведенные исследования, из исследованных препаратов возможно выбрать препарат, который бы мог модулировать экспрессию генов цитокинов в зависимости от нарушений цитокинового баланса.

Предварительно полученные нами экспериментальные данные показали, что противовирусной активностью обладает даже дипептид Gly-Pro, который присутствует в ряде изученных пептидов. Этот дипептид является фармакофором. Выявлено, что введение Gly-Pro в клетки Vero при экспериментальной инфекции, вы-

**ТАБЛИЦА 3. СИНТЕЗ ЦИТОКИНОВ НА УРОВНЕ ТРАНСКРИПЦИИ В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ, ЗАРАЖЕННЫХ ВИРУСОМ ЭНЦЕФАЛОМИОКАРДИТА МЫШЕЙ, ПРИ ВВЕДЕНИИ ПЕПТИДОВ *IN VIVO***

№ п.п.	Список пептидов	Изменения синтеза цитокинов на уровне транскрипции		Защита мышей от ВЭМК (%)*
		Мыши Селезенка	Мыши Кровь	
1	Семакс	↑ IFN $\gamma$ , IL-4, IL-12	↑ IL-4, IL-8, IL-18	20
		Нет изменений	↓ IL-6, IL-12	
2	Селанк	Нет изменений	Нет изменений	0
		Нет изменений	↓ IL-4, IL-12	
3	Thr-Lys-Pro-Gly-Pro	Нет изменений	Нет изменений	20
		↓ IFN $\gamma$ , IL-12, TNF $\alpha$	↓ IL-6, IL-12,	
4	Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro	↑ IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-12	Нет изменений	40
		↓ IL-6, IL-4, IL-12, TNF $\alpha$	↓ IFN $\gamma$ , IL-12	
5	Pro-Arg-Pro-Gly-Pro	↑ IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10	Нет изменений	20
		Нет изменений	↓ IL-10, IL-12, IL-18	
6	Arg-Pro-Gly-Pro	↑ IL-4, IFN $\gamma$	Нет изменений	80
		↓ IL-2, IL-10	↓ IL-2	
7	Pro-Gly-Pro	↑ IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-10	IFN $\gamma$	60
		↓ IL-4	↓ IL-4, IL-12	
8	Thr-Lys	↑ IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-12	Нет изменений	0
		↓ IFN $\gamma$ , IL-12	↓ IFN $\alpha$ , IL-4, IL-12, IL-10	
9	Thr-Lys-Pro	↑ IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-12, IL-10	Нет изменений	20
		↓ IFN $\gamma$ , IL-12	↓ IL- $\alpha$ , IL-4, TNF, IL-12, IL-18	
10	Thr-Lys-Pro-Arg	↑ IL- $\gamma$ , IL-1 $\beta$	Нет изменений	0
		↓ IL-4, IL-12	↓ IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-18, IL-6, IL-12, TNF $\alpha$	
11	Lys-Pro-Arg	↑ IL-2, IL-12	Нет изменений	20
		↓ IL-4, IL-10	↓ IL-4	
12	Arg-Pro	↑ IL-2	↑ IL-2	20
		↓ IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8, IL-12	↓ IL-4, IL-12	
13	Gly-Pro	↑ IFN $\gamma$ , IL-12	↑ IFN $\gamma$	40
		↓ IL-4, IL-8, TNF $\alpha$	↓ IL-4, TNF $\alpha$	

**Примечание:** ↑ — активация транскрипции цитокина, ↓ — подавление транскрипции цитокина;

\* — в контроле (без препаратов) при инфекции, вызванной ВЭМК, выжило 20% мышей.

званной ВПГ-2, включает как механизмы противовирусной защиты, активируя цитокины, относящиеся к 1 типу участвующих в дифференцировке Th1 (IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12, IL-18), так и, по-видимому, усиливает продукцию антител к ВПГ, т.к. одновременно фиксировалась активация цитокинов, обуславливающих развитие гуморального иммунитета. Наиболее эффективно при герпетической инфекции *in vitro* было использование пептидов по лечебной схеме.

Те же механизмы характерны для другой экспериментальной вирусной инфекции, вызванной вирусом гриппа H3N2 (A/Aichi 1/68). При этом было отмечено, что Gly-Pro и другие пептиды также могли активировать или, по крайней мере, не подавлять транскрипцию генов цитокинов, определяющих антивирусную защиту (IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12, IL-18) и антительный ответ (IL-4, IL-6). Мы проверили 13 пептидов и полученные результаты показали,

что исследованные глипролины, в зависимости от их формулы, могут быть применены как для профилактики, так и для лечения гриппозной инфекции.

## Изучение механизмов действия пептидов *in vivo*

В табл. 3 приведен пример влияния пептидов на транскрипцию цитокинов у животных при инфекции, вызванной вирусом энцефаломиокардита мышей (ВЭМК). Эксперименты, показали, что применение пептида Arg-Pro-Gly-Pro защищало всех мышей от инфекции. При этом у мышей, получавших Arg-Pro-Gly-Pro, по сравнению с контролем активировалась экспрессия генов IL-4, IFN $\gamma$  и не регистрировался синтез мРНК IL-2, IL-10.

Препарат Pro-Gly-Pro защищал животных от ВЭМК в 60% случаев. При этом у выживших мышей обнаруживали мРНК IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 и отмечали исчезновение мРНК IL-4, IL-12.

Другие исследованные пептиды либо не влияли на транскрипцию цитокинов, либо их действие активировало защитные свойства у животных в меньшей степени.

Дальнейшее изучение притивовирусного эффекта синтезированных пептидов показало, что практически все они обладали противовирусной активностью по отношению к исследованным патогенам (ВПГ, грипп А Н3N2, ВЭМК) в той или иной степени. Объяснение этому нашлось при исследовании индукции цитокинового ответа под действием пептидов в норме и при вирусных инфекциях *in vitro*. Однако данные, полученные на клеточных культурах, не позволяют однозначно определить наиболее активные в отношении вирусов пептиды. В этой связи данные *in vivo* более адекватно характеризуют противовирусную активность синтезированных пептидов.

Полученные данные позволяют предположить, что при введении препаратов в макроорганизм, в дополнение к прямому повышению устойчивости клеток к инфекции (грипп, герпетическая инфекция), через изменение спектра продуцирующихся цитокинов может происходить активация противоинфекционного иммунитета.

Полученные результаты показали, что минимальными фрагментами, обладающими противовирусными свойствами являются дипептиды Thr-Lys и Gly-Pro. Это хорошо согласуется с известным фактом большой активности N- и C-концевых экзопротеаз, а также результатами наших исследований по протеолизу *in vivo* и *in vitro* пептидов Семакса, Селанка, глипролинов [1]. Из двух выше приведенных пептидов большей противовирусной активностью обладал дипептид Gly-Pro. Данный аминокислотный мотив присутствует в ряде изучен-

ных пептидов, что, вероятно, и определяет их противовирусную активность. Таким образом, дипептид Gly-Pro является фармакофором противовирусной активности характерной для Селанка и его фрагментов.

Обнаруженные свойства этого уникального мотива, ответственного за противовирусный эффект исследованных пептидов, дали нам возможность охарактеризовать группу пептидов общей формулы А-Б-В-Г-Gly-Pro-X (I), где:

А – 0, Met, Ala, Lys, Gly, Glu, Arg, His, Phe, Thr;  
 Б – 0, Ala, Asp, Gly, Glu, Phe, Pro, Arg, Tyr, His, Lys;  
 В – 0, Arg, Asp, Gly, Glu, Tyr, Val, Phe;  
 Г – 0, Pro, His, Arg, Lys, Tyr, Thr;  
 X – 0, Arg, Gly, Glu, Asp, Leu.

Аминокислоты отвечающие символам А, Б, В, Г, X отобраны из встречаемости их в базах данных эндогенных физиологически активных пептидов в положениях 1, 2, 3, 4 N-концевых фрагментов и в положении 1 C-концевого фрагмента. Выделение этой группы пептидов подтверждено синтезом ~20 пептидов. Эти данные послужили основой патента на группу пептидов с противовирусными свойствами [Заявка на Патент РФ № 2008148880, приоритет от 11.12.2008 г. «Семейство пептидов, обладающее противовирусной активностью»].

Таким образом, подтверждена наша концепция о возможности выделения минимального фрагмента, обладающего определенным физиологическим действием на примере выделения фармакофора с противовирусной активностью из последовательности пептида Селанк, что дает возможность направленного конструирования новых пептидов. Это позволяет разрабатывать новые безопасные без побочных эффектов лекарственные препараты на основе пептидов, пригодных для борьбы с социально-значимыми заболеваниями (грипп, герпес и др.).

Таким образом, кандидатными пептидами с противовирусной активностью для дальнейших исследований нами были выбраны: Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro, Thr-Lys-Gly-Pro, а в качестве пептидов сравнения Селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) и тафтцин (Thr-Lys-Pro-Arg).

## Список литературы

1. Ашмарин И.П., Каменский А.А., Ляпина Л.А., Мясоедов Н.Ф., Самонина Г.Е. Глипролины как самостоятельные регуляторы и стабилизаторы других пептидов / *Вопр. биол. мед. и фармацевт. химии.* — 2002. — № 1. — С. 24–27.
2. Ершов Ф.И., Мезенцева М.В., Васильев А.Н., Щербенко В.Э., Наровлянский А.Н. Методические указания по проведению доклинических исследований цитокин-индуцирующей активности антивирусных препаратов // *Ведомости научного центра экспертизы и государственного*

- контроля лекарственных средств. — 2002. — № 1 (9). — С. 26–29.
3. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., Дерябин П.Г., Березина Л.К., Гуськова Т.А., Николаева И.С., Мезенцева М.В., Григорян С.С., Ожерелков С.В., Васильев А.Н., Щербенко В.Э., Ленева И.А. Метод. указания по изучению специфической противовирусной активности фармакологических средств // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. — М.: 2005. — С. 532–557.
  4. Ершов Ф.И., Тазулахова Э.Б., Наровлянский А.Н., Григорян С.С., Мезенцева М.В., Щербенко В.Э. Метод. указания по изучению специфической активности индукторов интерферона // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. — М.: 2005. — С. 558–571.
  5. Носик Н.Н. Цитокины при вирусных инфекциях / *Вопр. вирусол.* — 2000. — № 1. — С. 4–9.
  6. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. — М.: Мир, 2000. — 582 с.
  7. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты. — СПб., 1998. — 113 с.
  8. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem.* — 1987. — Vol. 162. — P. 156–159.
  9. Gaede K.I., Mamat U., Schlaak M., Müller-Quernheim J. Analysis of differentially regulated mRNAs in monocytic cells induced by in vitro stimulation // *J. Mol. Med.* — 1999. — Vol. 77, N 12. — P. 847–852.
  10. Gelder C.M., Thomas P.S., Yates D.H., Adcock I.M., Morrison J.F., Barnes P.J. Cytokine expression in normal, atopic, and asthmatic subject using the combination of sputum induction and the polymerase chain reaction // *Thorax.* — 1995. — Vol. 50. — P. 1033–1037.
  11. Lin Y., Zhang M., Barnes P.F. Chemokine production by a human alveolar epithelial cell line in response to *Mycobacterium tuberculosis* // *Infect. Immun.* — 1998. — Vol. 66, N 3. — P. 1121–1126.
  12. Thomas S., Harrison S., Levitz S.M. Role of IL-12 in PBMC responses to fungi in persons with and without HIV infection // *J. Immunol.* — 1996. — N 3. — P. 4492–4497.
  13. Yamamura M., Uyemura K., Deans R.J., Weinberg K., Rea T.H., Bloom B.R., Modlin R.L. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in Leprosy lesions // *Science.* — 1991. — Vol. 254, N 11. — P. 277–279.