

ДЕКСТРАН ПОВЫШАЕТ СООТНОШЕНИЕ ИФН- γ /ИЛ-10 В МАКРОФАГАХ ЧЕЛОВЕКА, ЗАРАЖЕННЫХ МИКОБАКТЕРИЯМИ ТУБЕРКУЛЕЗА

[С. В. Пустыльников](#)

*ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулёза» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

Целью работы было изучение — каким образом декстран в качестве лиганда маннозного рецептора влияет на цитокиновый ответ макрофагов человека при заражении микобактериями. Макрофаги инкубировали с декстраном, а затем заражали микобактериями туберкулеза H37Rv. Через 1 и 7 дней надклеточную жидкость собирали и анализировали концентрации ИФН- γ и ИЛ-10. Декстран повысил соотношение ИФН- γ /ИЛ-10 в 2,4 раза. Это свидетельствует о сдвиге активации макрофагов в сторону классического пути (M1), что способствует формированию Th1 иммунного ответа, необходимого для благоприятного исхода при туберкулезе.

Ключевые слова: декстран, олигодекстран, макрофаги, микобактерия туберкулеза, маннозный рецептор, Th1 иммунный ответ.

Пустыльников Сергей Владиславович — младший научный сотрудник ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулёза», e-mail: sergey.pustynnikov@gmail.com

Введение. Декстран — это полимер глюкозы, остатки которой соединены преимущественно линейно α -1,6-гликозидными связями. В медицине декстран применяют в качестве заменителя плазмы крови. Олигодекстран, смесь изомальтоолигосахаридов, используют как пищевую добавку. Глюкозные остатки декстрана связываются с маннозным рецептором (MR) [1]; олигодекстран имеет аналогичное строение (α -1,6-связанные глюкозные остатки). Рецептор MR при заражении иммунных клеток человека микобактериями туберкулеза (МБТ) участвует в захвате бактерий [2, 3], препятствует их внутриклеточной деградации [4] и ограничивает развитие Th1 иммунного ответа [5], направленного на развитие противотуберкулезной резистентности [6]. Недавно выдвинуто предположение, что декстраны могут быть использованы

в качестве средств терапии при лечении таких инфекционных заболеваний, как СПИД, туберкулез, грипп и ряд др. [7, 8]. В данной работе предпринята попытка выяснить, способны ли декстран и олигодекстран за счет взаимодействия с MR ингибировать взаимодействие MR-МБТ и усиливать подавляемый микобактериями Th1 иммунный ответ.

В настоящем исследовании критерием типа иммунного ответа макрофагов на заражение микобактериями служило соотношение про- и противовоспалительных цитокинов интерферона- γ (ИФН- γ) и интерлейкина-10 (ИЛ-10), используемое в литературе с этой целью [9]. ИФН- γ является фактором, способствующим активации макрофагов по классическому типу (M1), а Т-хелперов — по типу Th1. ИЛ-10, наоборот, приводит к активации макрофагов по альтернативному типу (M2), а Т-хелперных клеток — по Th2 типу. У больных туберкулезом высокие значения соотношения ИФН- γ /ИЛ-10 коррелируют с благоприятным течением заболевания, а низкие значения — с ухудшением прогноза [10].

Целью работы было выяснить, способны ли лиганд MR декстран, а также олигодекстран, модулировать иммунный ответ макрофагов человека при инфицировании МБТ.

Материалы и методы. В работе использовали линейный декстран со средней молекулярной массой 66 000 (MP Biomedicals, США), олигодекстран: смесь изомальтоолигосахаридов со средней молекулярной массой 560 (пищевая добавка Vita Fiber, BioNeutra, Канада) и маннозу (Applichem, Германия). Для культивирования клеток использовали питательную среду RPMI-1640 (Биолот, Россия), L-глутамин (Биолот, Россия), смесь пенициллин-стрептомицин (Биолот, Россия), сыворотку плодов коров (Life technologies, США), фиколл плотностью 1,077 (Биолот, Россия). При проведении иммуноферментного анализа (ИФА) использовали наборы для определения ИФН- γ и ИЛ-10 (Вектор-Бест, Россия).

Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом Новосибирского научно-исследовательского института туберкулеза МЗ РФ, образцы крови получены от здоровых добровольцев, подписавших листы информированного согласия, включая согласие на работу с персональными данными этих лиц. Работу с МБТ проводили в лаборатории биологической безопасности 2-го уровня (Новосибирский НИИ туберкулеза) в соответствии с инструкцией по организации работ с возбудителями III-IV групп патогенности. Макрофаги получали из моноцитов крови здоровых добровольцев. Для выделения мононуклеаров крови свежую кровь разбавляли RPMI-1640 в соотношении 1:1, и смесь наслаивали на фиколл 3:1, после чего центрифугировали в течение 30 мин при 300 g. Затем клетки интерфазы дважды промывали, центрифугируя в охлажденной среде RPMI-1640 при 300 g в течение 10 мин, и переносили в лунки 24-луночного планшета в количестве 2,5 млн на лунку в 500 мкл среды RPMI-1640 с добавлением 10 % сыворотки. Через 2 часа инкубации в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °C неприлипшие клетки удаляли, дважды отмывая монослой средой RPMI-1640. Затем в лунки добавляли RPMI с 2 mM глутамина, 100 ME/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 10 % сыворотки, после чего инкубировали 5 суток в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °C.

В часть лунок добавляли исследуемые вещества (декстран, олигодекстран, маннозу) в конечной концентрации 5000 мкг/мл. Маннозу использовали в качестве известного лиганда MR. Через 30 мин клетки заражали введением 2,5 млн КОЕ МБТ H37Rv в 50 мкл среды. Через 1 и 7 дней надклеточную жидкость собирали, замораживали при —20 °C и хранили до проведения ИФА для определения ИФН- γ и ИЛ-10. В отдельном эксперименте сначала проводили заражение дозой 1 млн КОЕ МБТ H37Rv и лишь затем

добавляли исследуемые вещества декстран и маннозу.

Результаты ИФА обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel. Строили калибровочный график и по формуле линейной зависимости вычисляли концентрации цитокинов. Значимость различий между парами образцов определяли с помощью t-теста Стьюдента. Результаты экспериментов представляли в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Результаты исследований. Инкубация макрофагов с исследуемыми веществами практически не влияла на базальную продукцию ИФН- γ (рис. 1). Концентрация ИФН- γ в среде зараженных клеток на 1-е сутки после заражения оставалась без изменений вне зависимости от добавления исследуемых веществ. На 7-е сутки инфицированные клетки продуцировали в среду примерно в 6 раз больше ИФН- γ , чем неинфицированные. Однако добавление к зараженным клеткам исследуемых веществ приводило к дополнительному росту продукции ИФН- γ еще в 3-4 раза.

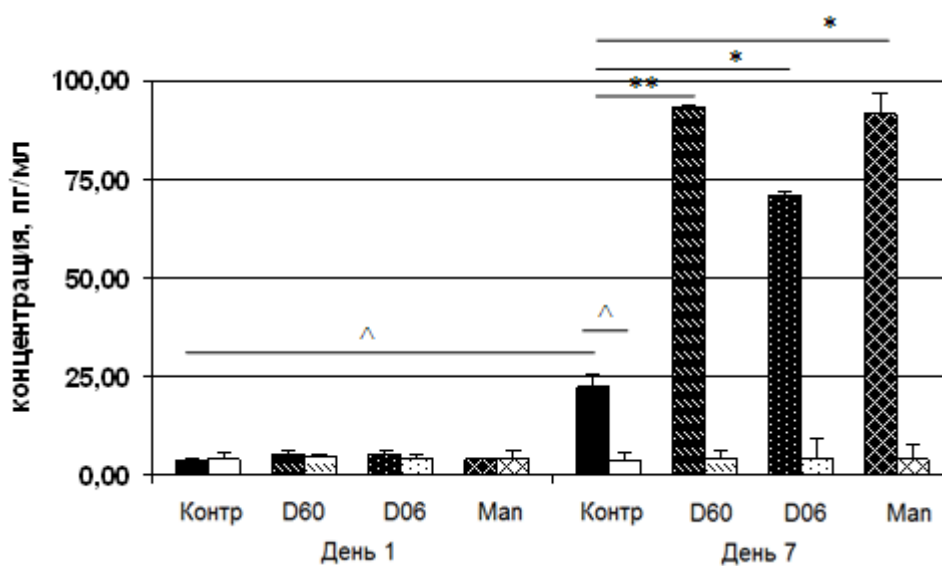


Рис. 1. Изменение концентрации ИФН- γ в культуральной среде макрофагов при заражении МБТ H37Rv через 30 мин после добавления декстрана (D60), олигодекстрана (D06) или маннозы (Man). Светлые столбцы: нет заражения. Темные столбцы: заражение МБТ H37Rv. Результаты представлены в виде среднего значения по двум измерениям $\pm$ стандартное отклонение. Статистическая значимость различий рассчитана с использованием t-теста Стьюдента; $\wedge$ – $P < 0,05$; * – $P < 0,01$; ** – $P < 0,001$

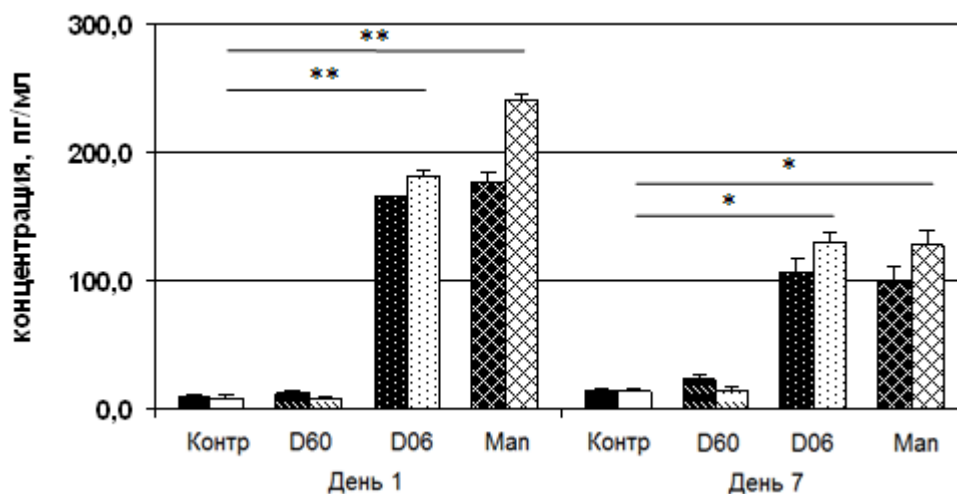


Рис. 2. Изменение концентрации ИЛ-10 в среде макрофагов при заражении МБТ H37Rv через 30 мин после добавления D60, D06 или Man. Светлые столбцы: нет заражения. Темные столбцы: заражение МБТ H37Rv. Результаты представлены в виде среднего значения по двум измерениям $\pm$ стандартное отклонение. Статистическая значимость различий рассчитана с использованием t-теста Стьюдента; * – $P < 0,01$; ** – $P < 0,001$

Добавление к культивируемым клеткам декстрана 60 (D60) не влияло на продукцию ИЛ-10 макрофагами на 1-е и 7-е сутки инкубации (рис. 2). Олигодекстран и манноза вне зависимости от заражения клеток существенно повышали продукцию ИЛ-10 макрофагами, на 1-е сутки примерно в 16–26 раз и на 7-е сутки примерно в 7–9 раз.

Подсчет соотношения концентраций определяемых цитокинов показал, что оно существенно менялось в зависимости от добавляемых к клеточным культурам соединений и от инфицированности культур (рис. 3). Заражение клеток на 1-е сутки не влияло на это соотношение, но на 7-е сутки параметр ИФН- γ /ИЛ-10 был в 4,5 раза больше у зараженных клеток, чем у неинфицированных. Добавление к культуре макрофагов олигодекстрана или маннозы приводило к существенному снижению соотношения ИФН- γ /ИЛ-10 при измерении на 1-е сутки, в незараженных клетках существенное снижение отмечено и на 7-е сутки. Добавление олигодекстрана или маннозы к зараженным клеткам на 7-е сутки снижало параметр ИФН- γ /ИЛ-10 в 1,4–2,4 раза. Добавление декстрана к зараженным клеткам к 7-м суткам инкубации увеличило соотношение ИФН- γ /ИЛ-10 в 2,4 раза.

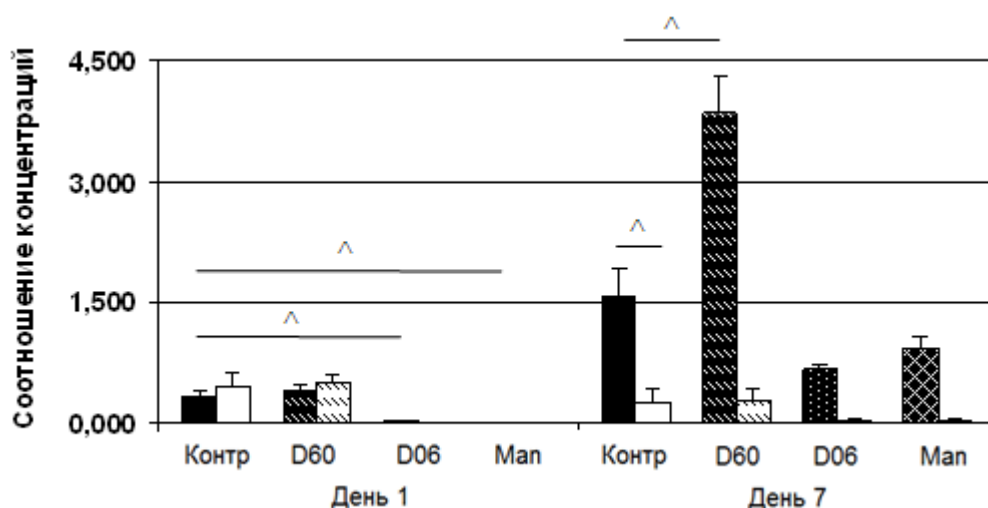


Рис. 3. Изменение соотношения концентраций ИФН- γ и ИЛ-10 в среде макрофагов при заражении МБТ H37Rv через 30 мин после добавления D60, D06 или Man. Светлые столбцы: нет заражения. Темные столбцы: заражение МБТ H37Rv. Результаты представлены в виде среднего значения по двум измерениям $\pm$ стандартное отклонение. Статистическая значимость различий рассчитана с использованием t-теста Стьюдента; ^ – $P < 0,05$

Изменение концентраций ИФН- γ , ИЛ-10 и отношения ИФН- γ /ИЛ-10 в культуре макрофагов, инфицированных микобактериями, было менее выражено, если сначала проводили заражение клеток, а затем добавляли вещества (рис. 4–6). Увеличение соотношения ИФН- γ /ИЛ-10 в уже зараженной культуре макрофагов при добавлении декстрана, а также маннозы не происходит.

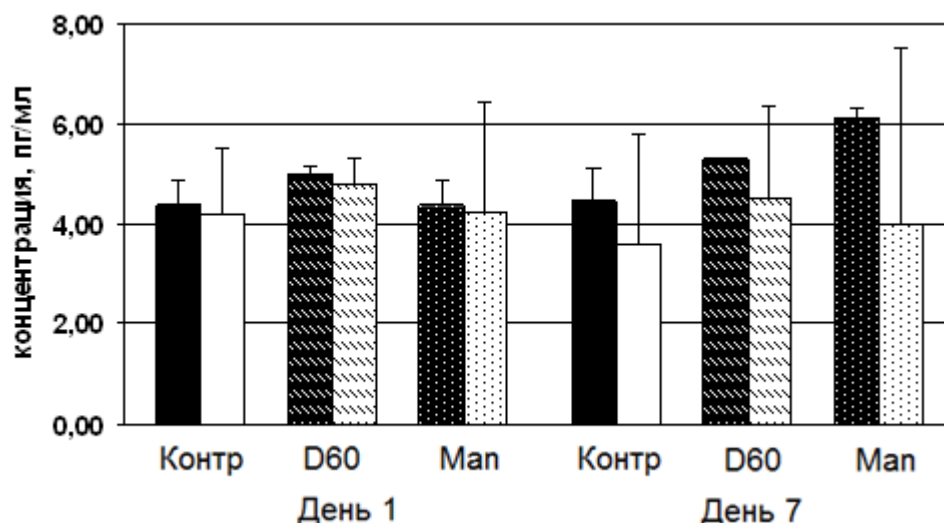


Рис. 4. Изменение концентрации ИФН-γ в среде макрофагов человека при заражении МБТ Н37Rv за 30 мин до добавления D60 и Man. Концентрация ИФН-γ в среде не меняется значительно, различия не выявлены. Светлые столбцы: нет заражения. Темные столбцы: заражение МБТ Н37Rv. Результаты представлены в виде среднего значения по двум измерениям ± стандартное отклонение. Статистическая значимость различий рассчитана с использованием t-теста Стьюдента

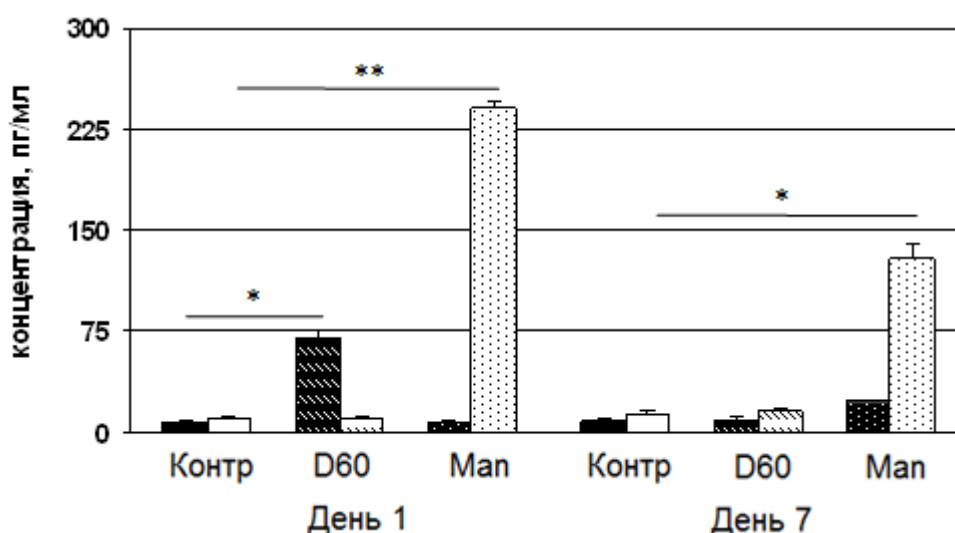


Рис. 5. Изменение концентрации ИЛ-10 в среде макрофагов человека при заражении МБТ Н37Rv за 30 мин до добавления D60 и Man. Зараженные макрофаги отвечали на добавление декстрана увеличением продукции ИЛ-10 на 1-е сутки. Неинфицированные макрофаги также отвечали на добавление маннозы увеличением продукции ИЛ-10. Светлые столбцы: нет заражения. Темные столбцы: заражение МБТ Н37Rv. Результаты представлены в виде среднего значения по двум измерениям ± стандартное отклонение. Статистическая значимость различий рассчитана с использованием t-теста Стьюдента; * – $P < 0,01$; ** – $P < 0,001$

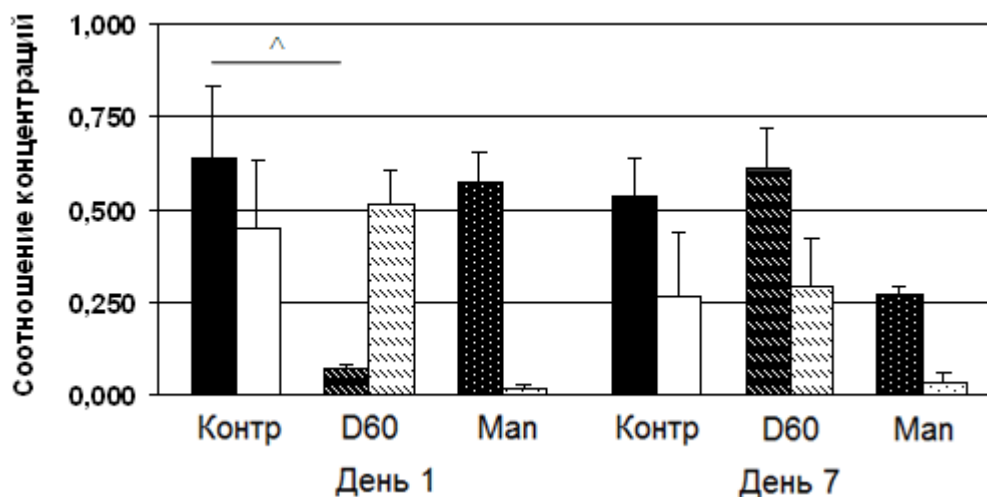


Рис. 6. Изменение соотношения концентраций ИФН- γ и ИЛ-10 в среде макрофагов человека при заражении МБТ H37Rv за 30 мин до добавления D60 и Man. Добавление декстрана после заражения снижает параметр ИФН- γ /ИЛ-10 в 8 раз по сравнению с контролем на 1-е сутки. Светлые столбцы: нет заражения. Темные столбцы: заражение Mtb H37Rv. Результаты представлены в виде среднего значения по двум измерениям $\pm$ стандартное отклонение. Статистическая значимость различий рассчитана с использованием t-теста Стьюдента; ^ – $P = 0,055$

Обсуждение результатов. Макрофаги — основной тип клеток, в которых персистируют микобактерии [11]. Реакция макрофагов на заражение включает активацию, внутриклеточную деградацию (или выживание) микобактерий, регуляцию активности других иммунных клеток. Изменение этой реакции может существенно влиять на жизнеспособность микобактерий и определять течение и исход патологического процесса [11].

Цитокиновый ответ макрофагов на микобактериальную инфекцию регулирует ауто- и паракринным образом функции иммунокомпетентных клеток в очаге туберкулезного поражения. Для анализа цитокинового ответа макрофагов выбраны цитокины, определяющие антогонистические реакции. ИФН- γ активирует макрофаги по типу M1, а Т-хелперы активирует по типу Th1 [12]. Такой тип активации способствует внутриклеточной гибели микобактерий [6]. ИЛ-10, наоборот, подавляет продукцию ИФН- γ , активирует макрофаги по типу M2, а Т-хелперы — по типу Th2 [12]. Это позволяет микобактериям персистировать внутриклеточно. Th2 ответ активирует механизмы репарации ткани, приводит к появлению повышенного числа фибробластов в зоне поражения и избыточной продукции компонентов межклеточного матрикса (фиброгенезу) [13]. Соотношение ИФН- γ /ИЛ-10 анализируют как параметр, определяющий смещение иммунного ответа в сторону Th1 либо Th2 [9].

На 7-е сутки после заражения макрофагов микобактериями в культуральной среде происходит заметный рост концентрации ИФН- γ (рис. 1), что согласуется с результатами других авторов [14, 15]. Если декстран добавляли к макрофагам до заражения микобактериями, они продуцировали намного больше ИФН- γ , и соотношение ИФН- γ /ИЛ-10 было заметно выше, чем при добавлении декстрана после заражения (рис. 3). Значительно больше ИФН- γ и ИЛ-10 продуцировали клетки, инкубированные с олигодекстраном или маннозой до (рис. 1, 2), но не после (рис. 4, 5) заражения. Интересно, что незараженные клетки не реагируют на добавление декстрана, а добавление олигодекстрана или маннозы значительно повышает продукцию ИЛ-10

(рис. 2).

Ранее нами было показано влияние декстрана на продукцию ИФН- γ и ИЛ-10 в легких мышей через 2-е суток после интраназального введения убитых теплом МБТ [16]. Соотношение ИФН- γ /ИЛ-10 у этих животных, получавших вместе с микобактериями декстран, выросло в 60 раз по сравнению с контролем, что свидетельствует о преимущественной активации Th1 иммунного ответа. Другие авторы ранее сравнивали продукцию ИФН- γ в ответ на введение вакцин БЦЖ разных производителей, одна из которых содержала декстран. Введение вакцины, содержащей декстран, приводило к повышенному уровню продукции ИФН- γ клетками крови при стимуляции антигеном МБТ. Такой результат может свидетельствовать о более выраженной активации Th1 иммунного ответа [17]. Данные этих исследований согласуются с полученными нами результатами.

Выводы. Декстран, вводимый в культуральную среду перед заражением макрофагов человека МБТ вирулентного штамма H37Rv, повышает в 2,4 раза соотношение ИФН- γ /ИЛ-10, которое коррелирует с благоприятным течением туберкулеза [10]. Это соотношение также свидетельствует о преимущественной активации макрофагов по типу M1 (классическому), которая стимулирует Th1 иммунный ответ, наиболее эффективный при туберкулезе. Полученные результаты свидетельствуют о возможности доклинических исследований декстрана в качестве иммуномодулятора при туберкулезе, а также указывают на обоснованность его изучения в качестве адъюванта при создании противотуберкулезных вакцин.

Список литературы

1. Laminin and fibronectin treatment leads to generation of dendritic cells with superior endocytic capacity / S. Garcia-Nieto [et al.] // PLoS ONE. — 2010. — Vol. 5.
2. The mannose receptor mediates uptake of pathogenic and nonpathogenic mycobacteria and bypasses bactericidal responses in human macrophages / C. Astarie-Dequeker [et al.] // Infection and immunity. — 1999. — Vol. 67.
3. Schlesinger L. S. Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of Mycobacterium tuberculosis is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors / L. S. Schlesinger // J. Immunol. — 1993. — Vol. 150, N 7. — P. 2920-30.
4. The human macrophage mannose receptor directs Mycobacterium tuberculosis lipoarabinomannan-mediated phagosome biogenesis / P. B. Kang [et al.] // J. Exp. Med. — 2005. — Vol. 202, N 7. — P. 987-99.
5. Cross-linking of the mannose receptor on monocyte-derived dendritic cells activates an anti-inflammatory immunosuppressive program / M. Chieppa [et al.] // J. Immunol. — 2003. — Vol. 171. — P. 4552-60.
6. Pulmonary M. tuberculosis infection delays Th1 immunity via immunoadaptor DAP12-regulated IRAK-M and IL-10 expression in antigen-presenting cells / M. Jeyanathan [et al.] // Mucosal immunology. — 2014. — Vol. 7, N 3. — P. 670-683.
7. Pustyl'nikov S. Dextran as Ligands of Mannose Receptor and DC-SIGN Family Receptors — A Novel Means of Modulating Th1/Th2 Immune Responses (Abstract Book) / S. Pustyl'nikov // Annals of Allergy, Asthma & Immunology. — 2012. — Vol. 109. — C. A108—P248.
8. Targeting the C-type lectins-mediated host-pathogen interactions with dextran / S. Pustyl'nikov [et al.] // Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences. — 2014. — Vol. 17, N 3. — P. 371-392.
9. Anti-interleukin-10R1 monoclonal antibody in combination with bacillus Calmette—Guerin

- is protective against bladder cancer metastasis in a murine orthotopic tumour model and demonstrates systemic specific anti-tumour immunity / M. R. Newton [et al.] // *Clinical and experimental immunology*. — 2014. — Vol. 177, N 1. — P. 261-268.
10. Interferon-gamma/IL-10 ratio defines the disease severity in pulmonary and extra pulmonary tuberculosis / B. Jamil [et al.] // *Tuberculosis*. — 2007. — Vol. 87, N 4. — P. 279-287.
 11. Immuno-evasion and immunosuppression of the macrophage by *Mycobacterium tuberculosis* / Z. Hmama [et al.] // *Immunological reviews*. — 2014. — Vol. 264, N 1. — P. 220-232.
 12. Martinez F. O. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation : time for reassessment / F. O. Martinez, S. Gordon // *F1000prime reports*. — 2014. — Vol. 6.
 13. Pulmonary overexpression of IL-10 augments lung fibrosis and Th2 responses induced by silica particles / V. Barbarin [et al.] // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. — 2005. — Vol. 288, N 5. — P. L841—L848.
 14. Robinson C. M. Interleukin-12 and interleukin-27 regulate macrophage control of *Mycobacterium tuberculosis* / C. M. Robinson, G. J. Nau // *Journal of Infectious Diseases*. — 2008. — Vol. 198, N 3. — P. 359-366.
 15. Gene expression profiling of human macrophages at late time of infection with *Mycobacterium tuberculosis* / E. Volpe [et al.] // *Immunology*. — 2006. — Vol. 118, N 4. — P. 449-460.
 16. Pustyl'nikov S. Dextran affects the immune response of BALB/c mice to intranasal challenge with inactivated mycobacterium H37Rv — Abstract in Russian / S. Pustyl'nikov, E. Zavjalov, E. Litvinova // Russian Laboratory Animal Science Association Conference, 2013, Novosibirsk, Russia, September 25-28. — Novosibirsk, 2013. — P. 39.
 17. Immunogenicity of Danish-SSI 1331 BCG vaccine in the UK : comparison with Glaxo-Evans 1077 BCG vaccine / P. Gorak-Stolinska [et al.] // *Vaccine*. — 2006. — Vol. 24, N 29. — P. 5726-5733.

DEXTRAN RAISES RATIO IFN- γ / IL-10 IN MACROPHAGES OF THE PERSON INFECTED WITH TUBERCULOSIS MYCOBACTERIA

[*S. V. Pustyl'nikov*](#)

FBHE «Novosibirsk SRI of tuberculosis» of Ministry of Health (Novosibirsk)

The purpose of the research was studying of dextran as ligand of mannose receptor influences on cytokine response of macrophages of the person at infection with micobacteria. Macrophages were incubated with dextran, and then they were infected with H37Rv tuberculosis micobacteria. In 1 and 7 days supracellular liquid was collected and analyzed on concentration of IFN- γ and IL-10. The dextran raised ratio of IFN- γ /IL-10 by 2,4 times. It testifies to shift of activation of macrophages towards a classical way (M1) that promotes formation of Th1 of the immune response that is necessary for a benign outcome at tuberculosis.

Keywords: dextran, oligodextran, macrophages, tuberculosis micobacterium, mannose receptor, Th1 immune answer.

About authors:

Pustyl'nikov Sergey Vladislavovich — junior researcher at FBHE «Novosibirsk SRI of tuberculosis» of Ministry of Health, e-mail: sergey.pustyl'nikov@gmail.com

List of the Literature:

1. Laminin and fibronectin treatment leads to generation of dendritic cells with superior endocytic capacity / S. Garcia-Nieto [et al.] // PLoS ONE. — 2010. — Vol. 5.
2. The mannose receptor mediates uptake of pathogenic and nonpathogenic mycobacteria and bypasses bactericidal responses in human macrophages / C. Astarie-Dequeker [et al.] // Infection and immunity. — 1999. — Vol. 67.
3. Schlesinger L. S. Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of Mycobacterium tuberculosis is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors / L. S. Schlesinger // J. Immunol. — 1993. — Vol. 150, N 7. — P. 2920-30.
4. The human macrophage mannose receptor directs Mycobacterium tuberculosis lipoarabinomannan-mediated phagosome biogenesis / P. B. Kang [et al.] // J. Exp. Med. — 2005. — Vol. 202, N 7. — P. 987-99.
5. Cross-linking of the mannose receptor on monocyte-derived dendritic cells activates an anti-inflammatory immunosuppressive program / M. Chieppa [et al.] // J. Immunol. — 2003. — Vol. 171. — P. 4552-60.
6. Pulmonary M. tuberculosis infection delays Th1 immunity via immunoadaptor DAP12-regulated IRAK-M and IL-10 expression in antigen-presenting cells / M. Jeyanathan [et al.] // Mucosal immunology. — 2014. — Vol. 7, N 3. — P. 670-683.

7. Pustyl'nikov S. Dextran as Ligands of Mannose Receptor and DC-SIGN Family Receptors — A Novel Means of Modulating Th1/Th2 Immune Responses (Abstract Book) / S. Pustyl'nikov // *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. — 2012. — Vol. 109. — C. A108—P248.
8. Targeting the C-type lectins-mediated host-pathogen interactions with dextran / S. Pustyl'nikov [et al.] // *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. — 2014. — Vol. 17, N 3. — P. 371–392.
9. Anti-interleukin-10R1 monoclonal antibody in combination with bacillus Calmette-Guerin is protective against bladder cancer metastasis in a murine orthotopic tumour model and demonstrates systemic specific anti-tumour immunity / M. R. Newton [et al.] // *Clinical and experimental immunology*. — 2014. — Vol. 177, N 1. — P. 261–268.
10. Interferon-gamma/IL-10 ratio defines the disease severity in pulmonary and extra pulmonary tuberculosis / B. Jamil [et al.] // *Tuberculosis*. — 2007. — Vol. 87, N 4. — P. 279–287.
11. Immuno-evasion and immunosuppression of the macrophage by *Mycobacterium tuberculosis* / Z. Hmama [et al.] // *Immunological reviews*. — 2014. — Vol. 264, N 1. — P. 220–232.
12. Martinez F. O. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation : time for reassessment / F. O. Martinez, S. Gordon // *F1000prime reports*. — 2014. — Vol. 6.
13. Pulmonary overexpression of IL-10 augments lung fibrosis and Th2 responses induced by silica particles / V. Barbarin [et al.] // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. — 2005. — Vol. 288, N 5. — P. L841—L848.
14. Robinson C. M. Interleukin-12 and interleukin-27 regulate macrophage control of *Mycobacterium tuberculosis* / C. M. Robinson, G. J. Nau // *Journal of Infectious Diseases*. — 2008. — Vol. 198, N 3. — P. 359–366.
15. Gene expression profiling of human macrophages at late time of infection with *Mycobacterium tuberculosis* / E. Volpe [et al.] // *Immunology*. — 2006. — Vol. 118, N 4. — P. 449–460.
16. Pustyl'nikov S. Dextran affects the immune response of BALB/c mice to intranasal challenge with inactivated mycobacterium H37Rv — Abstract in Russian / S. Pustyl'nikov, E. Zavjalov, E. Litvinova // *Russian Laboratory Animal Science Association Conference*, 2013, Novosibirsk, Russia, September 25–28. — Novosibirsk, 2013. — P. 39.
17. Immunogenicity of Danish-SSI 1331 BCG vaccine in the UK : comparison with Glaxo-Evans 1077 BCG vaccine / P. Gorak-Stolinska [et al.] // *Vaccine*. — 2006. — Vol. 24, N 29. — P. 5726–5733.