

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН



2015 * № 2

Электронный журнал
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2015

УДК: 547.964:571.27

М.А. Добрынина¹, В.А. Зурочка¹, А.В. Зурочка¹, В.А. Грищенко^{2,3}

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА – ZP2 НА РОСТ МУЗЕЙНЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ РОДОВ *STAPHYLOCOCCUS* И *ESCHERICHIA* IN VITRO

¹ Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

² Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

³ Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель. Сравнить особенности влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) - ZP-2 на рост в жидкой питательной среде музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia*.

Материалы и методы. Опыты in vitro проведены на музейных культурах *Staphylococcus aureus* 209P, *Staphylococcus epidermidis* №711 и *Escherichia coli* K12. В экспериментах использовали синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2, полученный на синтезаторе «Applied Biosystems 430A». Влияние разных концентраций (10, 30 и 100 мкг/мл) данного пептида на рост изученных штаммов бактерий в мясopептонном бульоне (МПБ) определялось путем динамического замера оптической плотности (ОД) бактериальных культур на 0, 2, 4, 6 и 24 часах и расчета Индекса ингибирования их роста.

Результаты. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2 дозозависимо ингибировал рост изученных музейных штаммов стафилококков и эшерихий в жидкой питательной среде. При этом ингибирующий эффект ZP2 зависел от таксономической принадлежности бактерий и фазы роста бактериальной культуры.

Заключение. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2 оказывает на рост стафилококков и эшерихий в жидкой питательной среде ингибирующее действие, особенности которого зависят от концентрации вещества, таксономической принадлежности бактерий и фазы развития бактериальной культуры.

Ключевые слова: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), активный центр, синтетический пептид, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, рост, ингибирование.

М.А. Dobrynina¹, V.A. Zurochka¹, A.V. Zurochka¹, V.A. Gritsenko^{2,3}

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE IMPACT OF SYNTHETIC PEPTIDE THE ACTIVE SITE OF GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR – ZP2 ON GROWTH OF THE MUSEUM'S CULTURES BACTERIA GENERA STAPHYLOCOCCUS AND ESCHERICHIA IN VITRO

¹ Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia

² Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

³ Orenburg Scientific Centre UrB RAS, Orenburg, Russia

Objective. Compare the features of the influence of the synthetic peptide of the active site of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) - ZP-2 on the growth in a liquid medium, the Museum of cultures of bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Escherichia*.

Materials and methods. In vitro experiments conducted on Museum cultures of *Staphylococcus aureus* 209P, *Staphylococcus epidermidis* No. 711 and *Escherichia coli* K12. In the expe-

periments used a synthetic peptide of the active site of GM-CSF - ZP2 obtained by synth "Applied Biosystems 430A". Influence of different concentrations (10, 30 and 100 µg/ml) of the peptide on the growth of studied bacteria strains in meat-peptone broth (BCH) were determined by dynamic measurement of optical density (OD) of bacterial cultures at 0, 2, 4, 6 and 24 hours and calculate the Index of inhibition of their growth.

Results. A synthetic peptide of the active site of GM-CSF - ZP2 dose-dependently inhibited the growth of the studied Museum strains of *Staphylococcus* and *E. coli* in a liquid medium. This inhibitory effect ZP2 depended on taxonomic affiliation of bacteria and growth phases of bacterial culture.

Conclusion. A synthetic peptide of the active site of GM-CSF - ZP2 has on the growth of *Staphylococci* and *E. coli* in a liquid medium, the inhibitory effect, features which depend on the concentration of a species, taxonomic origin, in those particular bacteria and development phases of bacterial culture.

Keywords: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), the active center, synthetic peptide, Gram-positive cocci, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, growth, inhibition.

Введение

В структуре этиологических агентов эндогенных бактериальных инфекций основное место занимают энтеробактерии, в частности эшерихии, и грампозитивная кокковая флора, в том числе золотистые и коагулазоотрицательные стафилококки [1]. Данные микроорганизмы, обладающие комплексом факторов патогенности и персистенции, траслоцируясь из естественных биотопов (кишечник, верхние дыхательные пути и др.) во внутреннюю среду макроорганизма, способны колонизировать инфицированные ткани и органы, вызывая в ряде случаев (на фоне иммунобиологической компрометированности) развитие инфекционно-воспалительного процесса и соответствующей патологии [2, 3]. При этом в формировании воспалительной реакции вовлекаются клетки иммунной системы и синтезируемые ими различные цитокины, выполняющие регуляторную функцию [4].

В системе цитокинов важную роль выполняет гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), активирующий костномозговое кроветворение, в частности рост и дифференцировку гемопоэтических клеток таких линий, как гранулоциты, макрофаги и эозинофилы [5]. Однако, кроме этой основной функции, данный цитокин и синтетические аналоги его активного центра проявляют поливалентное биологическое воздействие, обладая иммуномодулирующей, репарационной и антибактериальной активностью [6, 7]. Указанный плеiotропный эффект данных соединений и, в частности, синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2, который отличался высокой активностью во всем диапазоне указанных биоэф-

фектов [8, 9], определяет перспективность их использования при создании новых лекарственных препаратов для клинической практики, в том числе терапии эндогенных бактериальных инфекций [3].

В то же время характер воздействия синтетического пептида ZP2 на стафилококки и энтеробактерии, отличающиеся между собой по строению клеточной стенки, пока не изучен.

Цель данного исследования – сравнить особенности влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) ZP-2 на рост в жидкой питательной среде музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia*.

Материалы и методы

Опыты *in vitro* проведены на музейных культурах *Staphylococcus aureus* 209P (ATCC 6538-P), *Staphylococcus epidermidis* №711 (из коллекции ИКВС УрО РАН) и *Escherichia coli* K12 (ATCC 25922).

В опытах использован синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2 (химическая формула – THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), синтезированный твердофазным способом на синтезаторе «Applied Biosystems 430A». Влияние данного пептида на рост бактерий в жидкой питательной среде определялось при внесении в нее ZP2 с градиентом концентраций: 10, 30 и 100 мкг/мл.

Исследование влияния ZP-2 на рост музейных штаммов стафилококков и энтеробактерий осуществлялось путем инкубации бактериальных культур в течение 24 часов в микроячейках стерильной пластиковой планшеты в присутствии ZP-2. Для этого 25 мкл бактериальной взвеси, содержащей 5×10^8 КОЕ/мл, приготовленной из суточной агаровой культуры бактерий, и 25 мкл раствора с определенной концентрацией ZP-2 (в контроле использовали 25 мкл изотонического раствора NaCl) вносились в микроячейки, содержащие 200 мкл мясо-пептонного бульона (МПБ), с последующей инкубацией в термостате при 37°C. Развитие бактерий в жидкой питательной среде оценивалось по динамике оптической плотности культуры (ОД), замеряемой в каждой микроячейке при длине волны (λ) 492 нм на Multiscan Accent (Thermo Labsystems, Финляндия). Измерение ОД культур проводилось на 0 (исходный уровень), 2, 4, 6 и 24 часах инкубации. Каждый вариант опыта и контроля делался в 5 повторностях.

Для определения степени влияния ZP-2 на рост бактериальных культур

рассчитывали Индекс ингибирования (ИИ) по формуле [10]:

$$\text{ИИ} = \frac{\text{ОДк} - \text{ОДо}}{\text{ОДк}} * 100\%,$$

где ИИ - Индекс ингибирования (%); ОДк и ОДо – оптическая плотность контрольной и опытной культур соответственно. Индекс ингибирования бактериальных популяций оценивался на 2, 4, 6 и 24 часах.

Экспериментальные данные обработаны методами вариационной статистики с вычислением из 5 измерений средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$). О достоверности отличий между контролем и опытом судили по критерию Стьюдента - t [11].

Результаты и их обсуждение

Из рисунка видно, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2, добавленный в МПБ, существенно и дозо-зависимо влиял на рост всех изученных музейных штаммов бактерий – *S. aureus* 209P, *S. epidermidis* №711 и *E. coli* K12, снижая их биомассу, оцениваемую по величине оптической плотности контрольных и опытных культур в динамике их развития.

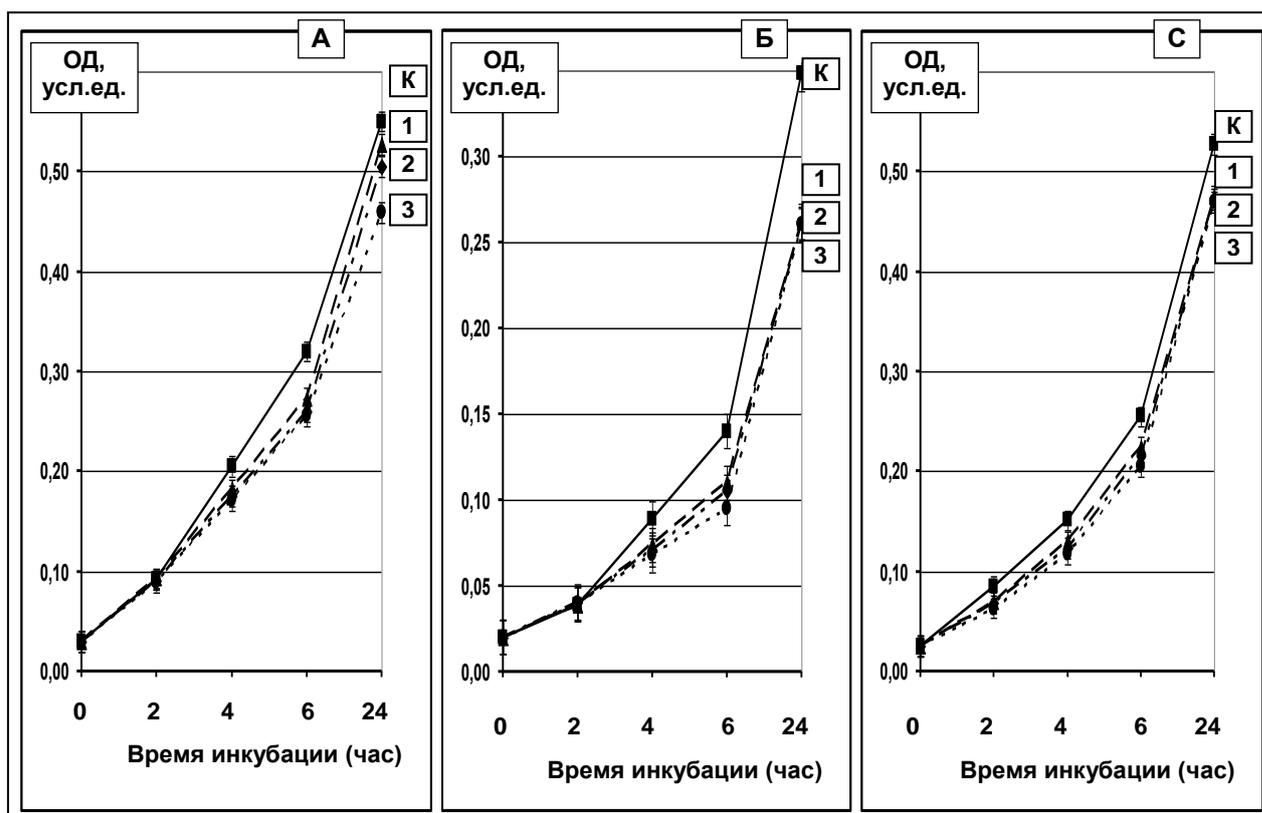


Рис. Влияние на рост популяции *S. aureus* 209P (А), *S. epidermidis* №711 (Б) и *E. coli* K12 (В) в МПБ (ОД, усл. ед.) ZP2 при разной концентрации (мкг/мл): 1 – 10; 2 – 30; 3 – 100; К – контроль; * - достоверные отличия контрольных культур от опытных культур ($p < 0,05$).

Общей закономерностью ингибирующего эффекта ZP2 в отношении стафилококков являлось то, что его выраженность нарастала в промежутке с 2 до 6 часов инкубации (табл. 1).

Таблица 1. Зависимость Индекса ингибирования (ИИ, %) роста в МПБ *S. aureus* 209P и *S. epidermidis* №711 от концентрации ZP2 и фазы культивирования

Время инкубации	Индекс ингибирования (ИИ, %) роста стафилококков при разной концентрации ZP2 в питательной среде					
	10 мкг/мл		30 мкг/мл		100 мкг/мл	
	<i>S. aureus</i> 209P	<i>S. epidermidis</i> №711	<i>S. aureus</i> 209P	<i>S. epidermidis</i> №711	<i>S. aureus</i> 209P	<i>S. epidermidis</i> №711
2 час	-1,1±0,2	0,1±0,1	1,1±0,4	-3,8±0,4	3,3±0,3	-2,6±0,4
4 час	11,2±0,4*	16,9±0,3*	14,6±0,5*	20,2±0,4*	16,6±0,5*	23,6±0,3*
6 час	14,7±0,6*	21,4±0,7*	18,8±0,6*	25,0±0,6*	20,3±0,7*	32,1±0,8*
24 час	4,2±0,5*	24,7±0,7*	8,2±0,8*	25,0±0,5*	16,5±0,7*	25,3±0,6*

Примечание: * - достоверные отличия от контроля (p<0,05).

Следует отметить, что через 2 часа культивирования стафилококков в присутствии ZP2 заметного ингибирования роста бактерий не наблюдалось. Более того в отношении *S. epidermidis* №711 регистрировалась слабо выраженная (3,8±0,4 и 2,6±0,4%) стимуляция роста бактерий под действием ZP2 в концентрациях 30 и 100 мкг/мл соответственно. Такой «парадоксальный», но более выраженный (13,3-15,3%), стимулирующий эффект ZP2 ранее описан нами в отношении *M. luteus var. lysodeikticus* (ATCC 4698) [12]. Очевидно, реакция на данный пептид бактериальных клеток грамположительных кокков, взятых из периодических культур в стационарную фазу развития, отличается от таковой микроорганизмов, находящихся в стадии роста, – первые проявляют к нему большую устойчивость, чем вторые, возможно, за счет тех изменений бактериальной стенки, которые характерны для стафилококков, переходящих в стационарное состояние – увеличение количества слоев муреинового пептидогликана и пептидных «перекрестно-связывающих мостиков», накопление тейхоевых и липотейхоевых кислот и др. [13, 14]. Кстати, подобное явление мы наблюдали в экспериментах по влиянию препарата лейкодефенсинов «Интерцида» на некоторые штаммы кишечной палочки (в частности, *Escherichia coli* K12, *E. coli* M17 из «Колибактерина» и изоляты, выделенные из различных источников, в том числе от больных с эндогенными бактериальными инфекциями – пиелонефритом, простатитом и др.), когда на ранних сроках инкубации у 40,0-80,0% культур наблюдался стимулирую-

щий эффект антибактериального препарата, который затем менялся на ингибирующий [10].

Это явление наблюдалось и у стафилококков при воздействии ZP2 (табл. 1). Так, уже на 4 часах инкубации биомасса опытных культур стафилококков была заметно (на 11,2-23,6%, $p < 0,05$) меньше, чем в контроле, вне зависимости от видовой принадлежности бактерий, хотя Индексы ингибирования *S. epidermidis* №711 превышали таковые *S. aureus* 209P, что свидетельствовало о большей их чувствительности к антибактериальному действию ZP2. К 6-ому часу культивирования ингибирующий эффект синтетического пептида ZP2 нарастал, достигая для *S. aureus* 209P уровня 14,7-20,3%, а для *S. epidermidis* №711 – 21,4-32,1% (в обоих случаях – дозо-зависимо от концентрации пептида).

Отметим одну зарегистрированную особенность действия ZP2 на рост *S. aureus* 209P и *S. epidermidis* №711 – Индексы ингибирования золотистого стафилококка к 24 часам снижались (относительно 6 часов) и не превышали 4,2-16,5%, в то время как значения этого показателя для эпидермального стафилококка оставались практически на тех же уровнях (24,7-25,3%). Возможно, это связано с различиями в репродуктивном потенциале изученных штаммов стафилококков (рис. А и Б) – в контроле после 24 часов культивирования биомасса *S. epidermidis* №711 была на 36,7% ниже, чем биомасса *S. aureus* 209P (ОД – 0,348 против 0,550).

Принципиально иначе синтетический пептид ZP2 влиял на динамику роста в МПБ музейного штамма *Escherichia coli* K12 (рис. В). Как и в случае со стафилококками, он дозо-зависимо (в диапазоне изученных концентраций 10-100 мкг/мл) ингибировал накопление биомассы кишечной палочки, но в отличие от грамположительных кокков максимально сильно тормозил ее прирост на самых ранних этапах развития культуры (на 2 часах – 17,6-25,9%), постепенно снижая свое ингибирующее действие на более поздних сроках инкубации (на 4 и 6 часах) до 13,9-22,5% и 11,8-19,6% соответственно, которое достигало минимума на 24 часах – 9,9-11,0% (табл. 2). Иначе говоря, эшерихии исходно проявляли более выраженную чувствительность к данному пептиду, а затем, очевидно, путем «включения» каких-то адаптивных механизмов (например, за счет изменения химического состава, степени гидрофильности/гидрофобности, архитектоники клеточной стенки и др. [15]) приспособлялись к его антибактериальному действию.

Таблица 2. Зависимость Индекса ингибирования (ИИ, %) роста *E. coli* K12 в МПБ от концентрации ZP2 и фазы культивирования

Время культивирования	Индекс ингибирования (ИИ, %) роста бактерий при разной концентрации ZP2 в питательной среде		
	10 мкг/мл	30 мкг/мл	100 мкг/мл
2 час	17,6±1,1*	20,0±1,2*	25,9±1,0*
4 час	13,9±1,2*	18,5±1,4*	22,5±1,3*
6 час	11,8±1,0*	15,7±1,1*	19,6±1,5*
24 час	9,9±0,9*	10,4±1,1*	11,0±0,8*

Примечание: * - достоверные отличия от контроля ($p < 0,05$).

Анализируя характер влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ - ZP2 на рост музейных штаммов стафилококков и кишечной палочки, следует подчеркнуть имеющееся сходство и выявленные таксономические отличия реакции этих бактерий на данный пептид. Вне зависимости от родовой/видовой принадлежности микроорганизмов они реагировали на присутствие в жидкой питательной среде синтетического пептида ZP2, который дозо-зависимо ингибировал их рост. Однако динамика ингибирующего эффекта ZP2 была, в известном смысле, видо- (или штаммо-) специфична, поскольку каждая изученная культура бактерий демонстрировала своеобразную (фазо-зависимую) кинетику накопления биомассы в присутствии указанного пептида.

Заключение

Представленные данные о влиянии синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ - ZP2 на рост музейных штаммов стафилококков и эшерихий в жидкой питательной среде свидетельствуют о дозо-зависимом и «видоспецифичном» ингибировании развития бактериальных культур в присутствии этого пептида, что в целом согласуется с ранее полученными результатами [12]. Важно отметить, что клетки *E. coli* K12, взятые из «стационарных» (суточных) агаровых культур оказались более чувствительными к антибактериальному действию пептида ZP2, чем стафилококки.

Поскольку стафилококки и энтеробактерии, вызывающие многие инфекционно-воспалительные заболевания, в том числе эндогенной природы, нередко проявляют устойчивость к используемым в клинике антибиотикам и химиопрепаратам, разработка новых эффективных лекарственных препара-

тов для борьбы с данной патологией остается актуальной проблемой. В этом плане синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2 является весьма перспективным кандидатом, так как обладает не только антибактериальной активностью в отношении грампозитивной и грамотрицательной микрофлоры, но и проявляет широкий спектр иных «полезных» биоэффектов [3, 6-9].

В то же время изложенный фактический материал следует оценивать как исходную (методически ценную) информацию для планирования и выполнения дальнейших исследований по изучению влияния указанного синтетического пептида на бактерии, в том числе возбудителей эндогенных бактериальных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2009. 4: 66-71.
2. Мавзютов А.Р., Бондаренко В.М., Жеребцова Н.Ю., Валишин Д.А. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2007. 1: 89-96.
3. Гриценко В.А., Аминин Д.Л., Зурочка А.В. и др. Некоторые биологические эффекты иммуномодуляторов естественного и синтетического происхождения *in vitro* как основа создания новых лекарственных средств для борьбы с эндогенными инфекциями. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2012. 3: 1-17 (URL: <http://el-mag.uran.ru/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf>).
4. Иммунология: структура и функции иммунной системы / Под ред. Р.М. Хаитова. М., 2013. 280 с.
5. Murphy J.M., Young I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. *Vitam. Horm.* 2006. 74: 1-30. DOI:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
6. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Суховой Ю.Г. и др. Иммунотропные и биологические эффекты синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. Вестник уральской медицинской академической науки. 2011. 2/2 (35): 23-24.
7. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Костоломова Е.Г. и др. Антибактериальные, иммунотропные и репарационные свойства пептидов активного центра ГМ-КСФ, различных дефензинов и веществ, полученных из супернатантов CD34⁺45⁻-клеток - предшественников гемопоэза. Российский иммунологический журнал. 2012. Т. 6 (14). 3 (1): 78-79.
8. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Костоломова Е.Г. и др. Сравнительная характеристика антибактериальных свойств синтетических пептидов активного центра GM-CSF и веществ, полученных из супернатантов CD34⁺45^{dim} клеток-предшественников гемопоэза. Цитокины и воспаление. 2012. 11 (2): 96-99.
9. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гольцова И.А., Гриценко В.А. Новые подходы к изучению спектра биологической активности синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. Российский иммунологический журнал 2014. Т. 8 (17). 3: 690-693.
10. Бухарин О.В., Гриценко В.А. Влияние *in vitro* препарата лейкоцитарного катионного белка "Интерцид" на *Escherichia coli*. Антибиот. и химиотер. 2000. 45 (1): 16-20.
11. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
12. Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на рост грамположительных кокков *in vitro*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 1: 1-10 (URL: <http://el-mag.uran.ru/magazine/Numbers/2015-1%20/Articles/12ZuruchkaVA-DobrynninaMA-ZuruchkaAV-GricenkoVA.pdf>).

<http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).

13. Кислухина О.В., Калунянц К.А., Аленова Д.Ж. Ферментативный лизис микроорганизмов. Алма-Ата: Рауан, 1990. 200 с.
14. Дерябин Д.Г. Функциональная морфология клетки. М.: КДУ, 2005. 320 с.
15. Yeaman M.R., Yount N.Y. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. *Pharmacol. Rev.* 2003. 55: 27-55.

Поступила 9.06.2015

(Контактная информация: Добрынина Мария Александровна – аспирант Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: secretar@iip.uran.ru;

Зурочка Владимир Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: v_zurochka@mail.ru;

Зурочка Александр Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: av_zurochka@mail.ru;

Гриценко Виктор Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, ученый секретарь Президиума Оренбургского научного центра УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел.: +7(3532)77-05-12; E-mail: vag59@mail.ru

LITERATURA

1. Gricenko V.A., Ivanov Ju.B. Rol' persistentnyh svojstv v patogeneze jendogennyh infekcij. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii.* 2009. 4: 66-71.
2. Mavzjutov A.R., Bondarenko V.M., Zherebcova N.Ju., Valishin D.A. Faktory patogennosti opportunisticheskikh jenterobakterij i ih rol' v razvitii diarei. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii.* 2007. 1: 89-96.
3. Gricenko V.A., Aminin D.L., Zurochka A.V. i dr. Nekotorye biologicheskie jeffekty immunomoduljatorov estestvennogo i sinteticheskogo proishozhdenija in vitro kak osno-va sozdaniya novyh lekarstvennyh sredstv dlja bor'by s jendogennymi infekcijami. *Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN.* 2012. 3: 1-17 (URL: [http:// elmag.uran.ru/ magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf](http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf)).
4. *Immunologija: struktura i funkcii immunnoj sistemy / Pod red. R.M. Haitova. M., 2013. 280 s.*
5. Murphy J.M., Young I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. *Vitam. Horm.* 2006. 74: 1-30. DOI:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
6. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Suhovej Ju.G. i dr. Immunotropnye i biologicheskie jeffekty sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF. *Vestnik ural'skoj medicinskoj akademicheskoy nauki.* 2011. 2/2 (35): 23-24.
7. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Kostolomova E.G. i dr. Antibakterial'nye, immunotropnye i reparacionnye svojstva peptidov aktivnogo centra GM-KSF, razlichnyh defensinov i veshhestv, poluchennyh iz supernatantov CD34+45--kletok - predshestvennikov gemopojeza. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2012. T. 6 (14). 3 (1): 78-79.
8. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Kostolomova E.G. i dr. Sravnitel'naja harakteristika antibakterial'nyh svojstv sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-CSF i veshhestv, poluchennyh iz supernatantov CD34+45dim kletok-predshestvennikov gemopojeza. *Citokiny i vospalenie.* 2012. 11 (2): 96-99.
9. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gol'cova I.A., Gricenko V.A.

- Novye podhody k izucheniju spektra biologicheskoy aktivnosti sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF. Rossijskij immunologicheskij zhurnal 2014. T. 8 (17). 3: 690-693.
10. Buharin O.V., Gricenko V.A. Vlijanie in vitro preparata lejkocitarnogo kationnogo belka "Interacid" na Escherichia coli. Antibiot. i himioter. 2000. 45 (1): 16-20.
 11. Lakin G.F. Biometrija. M.: Vysshaja shkola, 1990. 352 s.
 12. Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Gricenko V.A. Osobennosti vlijanija sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF na rost grampolozhitel'nyh kokkov in vitro. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 1: 1-10 (URL: <http://el-mag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
 13. Kisluhina O.V., Kalunjanc K.A., Alenova D.Zh. Fermentativnyj lizis mikroorganizmov. Alma-Ata: Rauan, 1990. 200 s.
 14. Derjabin D.G. Funkcional'naja morfologija kletki. M.: KDU, 2005. 320 s.
 15. Yeaman M.R., Yount N.Y. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. Pharmacol. Rev. 2003. 55: 27-55.