

УДК 612.1+616.155

А.В. СОРОКА, Н.В. АКУЛИЧ, Н.Г. КРУЧИНСКИЙ

МОРФОДЕНСИТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

В статье проведен морфоденситометрический анализ периферической крови больных хроническим лимфолейкозом. Исследовался общий анализ крови на гемоанализаторе первого поколения и интерфазный хроматин лимфоцитов методом компьютерной морфоденситометрии. Предложены дополнительные диагностические критерии хронического лимфолейкоза. С позиции нарушения межклеточных взаимодействий обсуждаются механизмы патогенеза и терапии хронического лимфолейкоза, основанные на технологии моноклональных антител, белков теплового шока, цитокинов. Рассмотрены особенности протекания иммунных реакций в зависимости от влияния различных цитокинов и коммитирования Т-лимфоцитов.

Введение

В последние годы отмечается прогресс в понимании природы многих актуальных заболеваний и обнадеживающие результаты в их лечении [1; 4; 6]. Во многом это связано с внедрением в медицину и биологию высокотехнологичных методов (использование цитокинов, моноклональных антител и вакцин, рекомбинантных ДНК и белков и др.) и подходов, рассматривающих патогенез многих заболеваний с позиции нарушения межклеточных взаимодействий. Используя данные о роли отдельных цитокинов в жизнедеятельности клетки и организма, предпринимаются попытки создания лекарственных средств для лечения наиболее актуальных заболеваний [1-3].

Общеизвестно, что активация ИКК в большинстве случаев приводит к иммунному ответу, или системной воспалительной реакции, которой дебютируют многие заболевания. Полученные в последние годы данные свидетельствуют о том, что избирательная активация иммунокомпетентных клеток может таким образом модифицировать эволюционно сложившийся характер иммунного ответа, что это окажет противовоспалительный эффект, воспрепятствует развитию патологического процесса [3].

Нами в течение ряда лет развиваются представления о роли иммунокомпетентных клеток (ИКК) в патогенезе различных заболеваний [1; 6]. На протяжении уже более 30 лет объектом наших исследований является интерфазный хроматин лимфоцитов и нейтрофилов, от степени конденсации которого, в первом приближении, зависит суммарный уровень активности генома [6].

Целью настоящего исследования является анализ интерфазного хроматина лимфоцитов с использованием методов морфоденситометрии больных с диагнозом хронический лимфолейкоз (С91.1 по МКБ 10-го пересмотра). Выбор данного метода анализа объясняется тем, что исследование морфологических параметров лимфоцитов может дать дополнительную информацию как о характере процессов, протекающих на уровне генома, так и о большей стабильности морфометрических характеристик по сравнению с другими параметрами.

Материалы и методы исследования. Гематологическое обследование пациентов включало выполнение общего анализа крови и морфоденситометри-

ческого (МДМ) исследования. Для этого бралась венозная кровь с антикоагулянтом (0,9% цитрат натрия) доноров-добровольцев и (группа 1) больных с диагнозом С91.1 (группа 2). Забор крови производился у пациентов, проходивших курс стационарного лечения в учреждении здравоохранения "Могилевская областная больница" при получении информированного согласия на участие в исследовании. Группы обследованных пациентов были рандомизированы по возрасту и отсутствию сопутствующих заболеваний. Среди 18 пациентов с ХЛЛ было 10 мужчин и 8 женщин в возрасте $55 \pm 1,25$ лет. Общий анализ крови производили на полуавтоматическом гемоанализаторе "Abacus" (Австрия).

При архивировании изображений для морфоденситометрического исследования хроматина отбирались малые и средние лимфоциты (ранее архивировались изображения только малых лимфоцитов, но известно, что для больных хроническим лимфолейкозом характерно преобладание лимфоцитов с большим размером, и, хотя при просмотре всего мазка периферической крови встречались малые лимфоциты, они не являлись характерными для этой выборки). Весьма интересным, с нашей точки зрения, оказался факт обнаружения при приготовлении мазков для МДМ "размазанного" лейкоцита (рис. 1), ранее описанный в литературе.

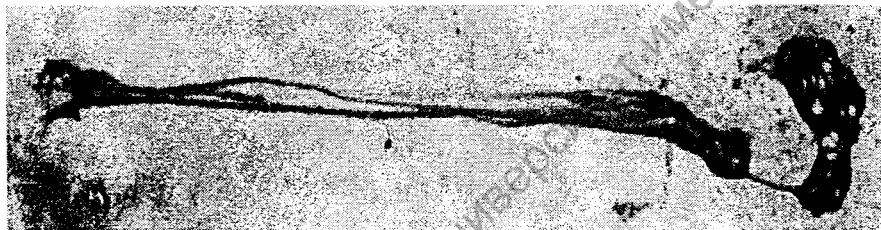


Рис. 1. Пример "размазанного" полиморфноядерного лейкоцита больного М. 57 лет с диагнозом ХЛЛ. Один из сегментов клетки значительно длиннее остальных. Хорошо визуализируются нити хроматина конечной длины ($\times 1000$, окраска галлоцианин-хромовыми квасцами, изображение монтажу не подвергалось)

Предметом МДМ исследования являлся интерфазный хроматин (ИХ) лимфоцитов, который в исследовании подразделялся на 4 компоненты [1]. Две из них были отнесены к компактному, плотному или конденсированному (гетерохроматину), а две – к диффузному, рыхлому или деконденсированному (эухроматин). Наиболее темная, гранулярная, компонента гетерохроматина обозначена q1; светлая компонента гетерохроматина, так называемая перигранулярная зона, – q2; наиболее светлая компонента эухроматина – q4, и, соответственно, промежуточная между q2 и q4 – компонента q3.

Результаты исследования получены с помощью системы анализа изображения, состоящее из микроскопа Axio Imager A1, камеры AxioCam MRc5 и программ "Диаморф-ЦИТО" и ImageJ.

Первоначально создавались изображения ядер, которые компоновались в видеоархивы с сохранением изображения в памяти компьютера. Далее изображения ядер из архивов, отобранные после визуальной оценки, подвергались процессу улучшения изображения (эквализация, фильтр Гаусса, методы матморфологии), а затем проводился их анализ с микроанатомированием ядра на компоненты (рис. 2).

Микроанатомирование производилось методом пороговой сегментации с использованием двух порогов – нижнего и верхнего (нижний порог не больше верхнего). Это имеет преимущества по сравнению с глобальной пороговой сегментацией, для которой нижний порог всегда равен нулю.

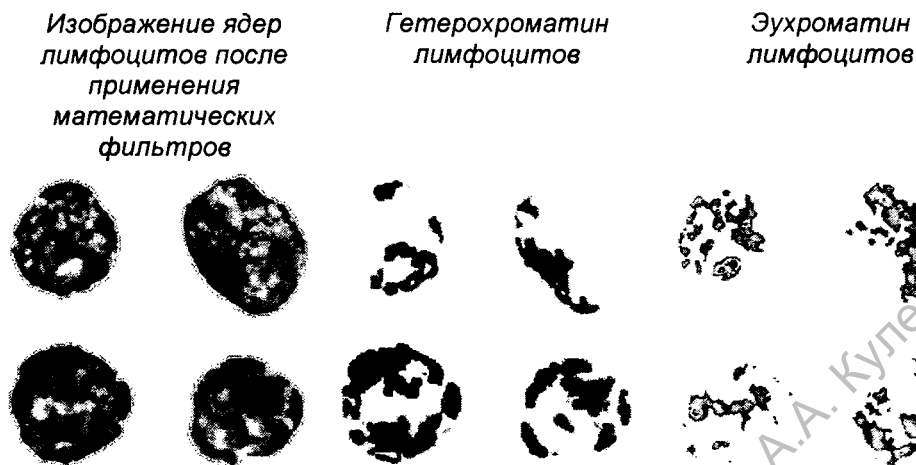


Рис. 2. Пример хроматина ядер лимфоцитов больных с диагнозом С91.1

Статистический анализ включал в себя подсчет средних значений для каждого случая, анализ распределения данных, сравнение серий экспериментальных исследований проводился с использованием непараметрических методов (тест Колмогорова-Смирнова и Mann-Whitney).

Результаты и их обсуждение. Целью нашего исследования являлся морфоденситометрический анализ хроматина лимфоцитов больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ).

Характерной особенностью хронического лимфолейкоза является то, что в 95% случаев пул лимфоцитов представлен в основном В-лимфоцитами различной степени зрелости, которые, отличаясь более продолжительным по сравнению с нормальными клетками периодом жизни, начинают вытеснять другие лимфоциты. Именно это обстоятельство представляет особый интерес, так как до этого времени анализировался в основном интерфазный хроматин Т-лимфоцитов [2; 6-9; 12; 15].

На первом этапе исследования проводился общий анализ крови, который выявил у больных ХЛЛ снижение количества эритроцитов (RBC), уменьшение концентрации гемоглобина (Hb) при сходном объеме эритроцита (MCV) и средней концентрации гемоглобина в эритроците (MCHC).

При анализе клеточного иммунитета больных ХЛЛ отмечен более высокий уровень лейкоцитов (WBC) и абсолютное количество лимфоцитов (LYM), в обоих случаях превышающее норму (табл. 1). Показатели эритрона у больных ХЛЛ можно охарактеризовать как тенденцию к анемии, о чем свидетельствует снижение на 19% относительно уровня нормы концентрации гемоглобина (что согласуется со сложившимися представлениями об иммунном лизисе клеток крови при ХЛЛ).

Таблица 1

Некоторые показатели крови у больных ХЛЛ

Показатели	Норма	Контроль, (\bar{X})	хЛЛ, (\bar{X})
RBC, ($1\text{Ч}10^{12}$)/л	4-5.5	4.34	3.41*
Hb, (г/л)	120-174	128.11	97.34*
MCV, (фл)	72-96	92.50	95.41
MCHC, (г/дл)	30-35	30.99	30.06
WBC, ($1\text{Ч}10^9$)/л	5-10	8.02	16.0*
LYM, ($1\text{Ч}10^9$)/л	1.3-4	3.45	6.24*

Примечание: * – достоверное различие между контролем и 1 группой (Mann-Whitney).

Площадь ядер больных ХЛЛ составила $81,46 \pm 5,06$ мкм², в то время как в контроле – $35,94 \pm 4,71$ мкм². Периметр – составил $20,03 \pm 1,44$ и $35,12 \pm 3,07$ мкм для контрольной и первой группы соответственно. Ядра опухолевых клеток имеют, как правило, большие размеры и измененную структуру хроматина, что и отмечалось в наших исследованиях. Считается, что увеличение размеров обусловлено процессами эндоредупликации ДНК, увеличением числа хромосом, сочетающегося с полиморфизмом ядер и повышением ядерно-цитоплазматического соотношения.

Известно, что в основе ХЛЛ не лежит моноклональная пролиферация Т-лимфоцитов, и большую часть популяции лимфоцитов периферической крови при этой форме патологии составляют В-лимфоциты. Проточная цитометрия ХЛЛ выявила у больных ХЛЛ четкий В-клеточный фенотип¹, который документировался наличием следующих антигенов – CD19, CD20 (слабая), CD22 (слабая), CD79a, CD23, CD43, CD5 (в норме обнаруживаемым лишь на Т-лимфоцитах), рестрикция легких цепей (κ или λ). Но в ряде случаев постановка диагноза осложнена отсутствием четких диагностических критериев, поэтому нами предложен метод, дополняющий существующие методы клинико-лабораторной диагностики.

Таблица 2

Морфоденситометрические параметры интерфазного хроматина лимфоцитов периферической крови

Параметр	Контроль ($\bar{X} \pm \sigma$)	ХЛЛ ($\bar{X} \pm \sigma$)
Доля q1	1.75±0.42	1.67±0.10
Доля q2	3.50±0.97	4.47±0.17
Доля q4	5.53±2.61	3.83±0.27*
Изрезанность q1	4.08±0.72	3.91±0.23*
Изрезанность q 2	8.03±2.21	6.98±0.42*
Изрезанность q 4	4.80±0.28	3.34±0.49*
Изрезанность ядра	0.56±0.04	0.43±0.03*
Гетерохроматин/эухроматин	34.68±7.13	78.07±5.22*

Примечание: * – достоверное различие между контролем и 1 группой (Колмогоров-Смирнов).

Литературные данные и результаты наших исследований свидетельствуют о том (анализ на уровне экспертных оценок), что у этой категории больных отмечаются нарушения структуры хроматина, связанные с неупорядоченным распределением хроматина и его конденсацией под кариолеммой в виде глыбок. При этом увеличивается количество гетерохроматина по сравнению с эухроматином (табл. 2). Такое изменение соотношения типов хроматина может служить косвенным признаком повреждения генома опухолевой клетки, поскольку известно, что гетерохроматину соответствует неактивная ДНК – а эухроматину – активная [5]. Изменения хроматина мы характеризуем как признак снижения транскрипционной активности, поскольку снизилась изрезанность и ядра, и компонент хроматина, что согласуется с литературными данными о репрессии генома при подобном фенотипе клетки [5].

При выполнении задания БРФФИ Б04М-203 нам удалось создать алгоритм и программу для количественного топологического анализа хроматина лимфо-

¹ Данные предоставлены лабораторией клинической иммунологии УЗ "Могилевский областной диагностический центр".

цитов для выявления признаков апоптоза². Определение – основывалось на вычислении коэффициента "ОТ" по формуле: $OT = r/R$, где r – радиусы центра масс гранул гетерохроматина, R – радиус ядра, ОТ – отношение радиуса центра масс гетерохроматина к центру масс ядра. Поскольку площади лимфоцитов в проведенном исследовании различались (для апоптоза характерна конденсация хроматина и значительное уменьшение ядра), и мы не могли ограничиться координатами компоненты и ядра, то был введен коэффициент, позволяющий производить оценку расположения гетерохроматина в ядре (табл. 2).

Поскольку наименьшей величиной отношения радиуса ядра к центру масс гетерохроматина отмечено у больных ХЛЛ, то у этой группы гетерохроматин находится ближе к ядерной мембране.

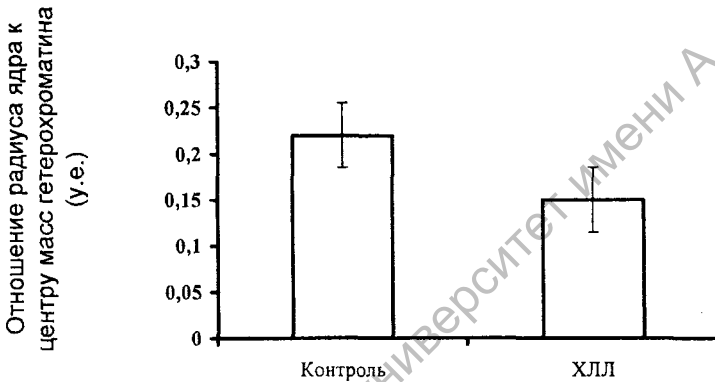


Рис. 3. Топологический анализ хроматина лимфоцитов

Нарушения взаимодействий клетки с окружением при гемобластозах вызывают изменения и в цитоплазме, и в ядре. Как правило, они проявляются на молекулярно-генетическом уровне, а на уровне ткани и клетки их выявить не удастся. Тот факт, что нам удалось установить количественные изменения топологии гетерохроматина при хроническом лейкоцитарном лейкозе, может стать дополнительным диагностическим признаком ХЛЛ.

Относительно компоненты q2 (т.н. перигранулярной зоны), то выявленные ее изменения, на наш взгляд связаны с процессами конденсации/деконденсации хроматиновых фибрилл, выполняющих регуляторную роль.

На основании приведенных выше данных можно предположить несколько возможных механизмов контроля развития и гемобластозов путем воздействия на некоторые звенья иммунного ответа. Так, например, большие надежды в терапии рака связаны с использованием интерлейкина (IL)-12, одного из главных активаторов клеточного звена иммунитета и индуктора синтеза таких цитокинов, как интерферон (IFN) γ , IL-2 и фактор некроза опухолей (TNF). Исследования на животных продемонстрировали высокую противоопухолевую активность IL-12, зависящую от дозы цитокина.

При введении опухоленосителям IL-12 активировал функции натуральных киллеров (NK), CD4⁺ Т-хелперов и CD8⁺ цитотоксических лимфоцитов. Большинство эффектов IL-12 оказались зависимыми от синтеза IFN γ , поэтому роль IL-12 в противоопухолевом иммунитете может быть связана с индукцией синтеза интерферона [10].

² Автор алгоритма программы к.ф.-м. наук доцент А.С. Платонов.

Активируя синтез эндогенного IFN γ , IL-12 вызывал продукцию NO и свободных форм кислорода, которые проявляли токсичность в отношении ряда опухолей. IL-23 имеет сходную с IL-12 биологическую активность, индуцируя продукцию активированными Т-лимфоцитами IFN γ , TNF и IL-12. На мышинных моделях рака IL-23 обладал выраженной противоопухолевой и антиметастатической активностью [7, 15].

Тот факт, что белки теплового шока (Hsp) способны оказывать выраженный терапевтический эффект, послужило поводом для попыток создания препаратов на их основе [7]. Hsp 70 способен связывать поврежденные и вновь синтезированные полипептиды, что продемонстрировано *in vivo* и *in vitro*. Многие злокачественные новообразования отличаются повышенным содержанием Hsp70, причем и сами противоопухолевые препараты способны повышать экспрессию Hsp70 [7].

При повышении его внутриклеточной концентрации Hsp70 выходит на поверхность опухолевых клеток сам или в сопровождении опухолевых антигенов, представляя последние клеткам иммунной системы: Т-лимфоцитам и NK, что делает этот белок перспективным инструментом для создания противоопухолевых вакцин. Hsp связываются с антигенными полипептидами, способствуя их проникновению в антигенпредставляющую клетку и образованию комплекса пептид-HLA I класса, что является необходимым этапом раз вития специфических Т-клеточных иммунных реакций. Известно, что воздействие HSP индуцирует созревание дендритных клеток, приводящее к повышению экспрессии молекул ко-стимуляции (CD80, CD86), адгезии (CD54), MHC II класса, а также к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов (IL-12, IL-1 β , TNF- α , GM-CSF).

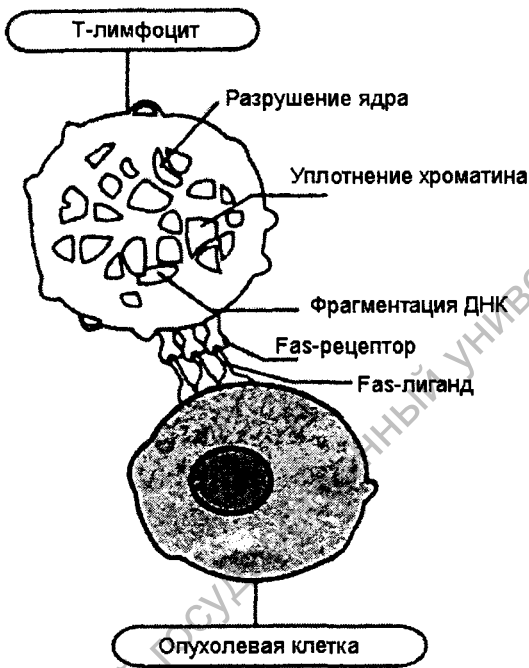


Рис. 4. Апоптоз цитотоксических Т-лимфоцитов при контакте с опухолевой клеткой

Вследствие этого повышается эффективность взаимодействия ДК с «наивными» лимфоцитами и индуцируется развитие специфического иммунного ответа. Продемонстрированная на модели *in vitro* эффективность препаратов на основе ДК, нагруженных синтетическим пептидами в комбинации с Hsp70, позволяет надеяться на высокий терапевтический эффект при лечении онкологических заболеваний [7].

Опухолевые клетки способны индуцировать апоптоз цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-клеток с помощью FasL, экспрессирующегося на цитоплазматической мембране злокачественно трансформированных клеток. При контакте активированного лимфоцита с опухолевой клеткой осуществляется взаимодействие между Fas-лигандом и Fas-рецептором (рис. 4), после чего – генерация

управляющего сигнала и его последующее движение по внутриклеточной сигнальной системе, что приводит к апоптозу Т-лимфоцитов. Таким образом выявленный нами у больных ХЛЛ феномен маргинального расположения хроматина может являться вовсе не маркером опухолевых клеток. Описанные нами клетки де-факто – лимфоциты, не несущие на своей поверхности опухолевых маркеров, в которых при контакте с малигнизированной клеткой запускаются процессы программированной клеточной гибели.

Белки теплового шока совместно с фагоцитирующими и антигенпрезентирующими клетками формируют единую систему биологического сопряжения естественной резистентности и адаптивного иммунитета. Hsp, образуя комплекс из экзоантигена и самого белка на предшествующем распознаванию опухолевого антигена этапе, играют роль гуморальных факторов сопряжения между неспецифической и адаптивной составляющими иммунитета. Внеклеточный комплекс "экзоантиген – HSP" распознается антигенпрезентирующими клетками как специфический лиганд, а затем с участием цитоплазматических HSP ассоциируется с MHC1 и презентуется ими для распознавания CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитом [3].

Формирование взглядов на патогенез многих заболеваний до недавнего времени складывалось с учетом того, что нормальное функционирование иммунной системы строится на балансе Th₁ и Th₂, основанном на продукции ими регуляторных цитокинов, а избыточная активация какого-либо из типов Т-хелперных клонов может направить иммунный ответ по одному из путей развития [3; 8-11]. По нашему мнению, при хроническом воздействии активирующих факторов происходит перенапряжение координационных связей в иммунной системе, снижение адаптационных возможностей, утрата способности формирования адекватного специфического и неспецифического иммунного ответа. В результате хронической несбалансированности активации Т-хелперных клонов это ведет к развитию иммунопатологических состояний, связанных, например, с преимущественной активацией Th₂, продуцирующих IL-4 и IL-5, которые стимулируют синтез антител класса IgG₁ и IgE, играющих (особенно последний) решающую роль в развитии аллергических реакций.

В настоящее время общеизвестно, что типы иммунного ответа не ограничиваются двумя вариантами активации лимфоцитов, с преимущественным участием клонов Т-лимфоцитов хелперов 1-го типа (Th₁) или 2-го типа, которые различаются по паттернам продуцируемых цитокинов и ролью в стимулировании развития иммунного ответа – по клеточному или гуморальному типу (рис. 5), и CD4⁺-Т клетки не ограничиваются делением на Th₁- и Th₂-популяции.

Обнаружена регуляторная субпопуляция Т-клеток (T_{reg}), которые экспрессируют CD25 и выполняют функцию ингибиторов активации других Т-клеток, и активация T_{reg} клеток сопровождается продукцией IL-10, который подавляет антигениндуцируемую активацию CD4⁺ Т клеток [5]. Кроме того, регуляторные Т-лимфоциты секретируют трансформирующий фактор в (TGF β), супрессирующий как Th₁-тип иммунного ответа, так и провоспалительные функции макрофагов [8].

В зависимости от микроокружения и особенностей опухолевых клеток, TGF β1 играет двоякую роль в канцерогенезе, обладая способностью как подавлять рост опухолей, так и являться онкогенным фактором.

В отличие от нормальных, опухолевые клетки не подвержены антипролиферативному действию TGF β1 в результате мутационной инактивации либо дизрегуляции экспрессии компонентов его сигнального пути [12-14]. И вообще, онкогенез во многом зависит от состояния микроокружения и медиаторов, синтезируемых стромальными клетками, среди которых всегда присутствуют цитокины семейства TGF.

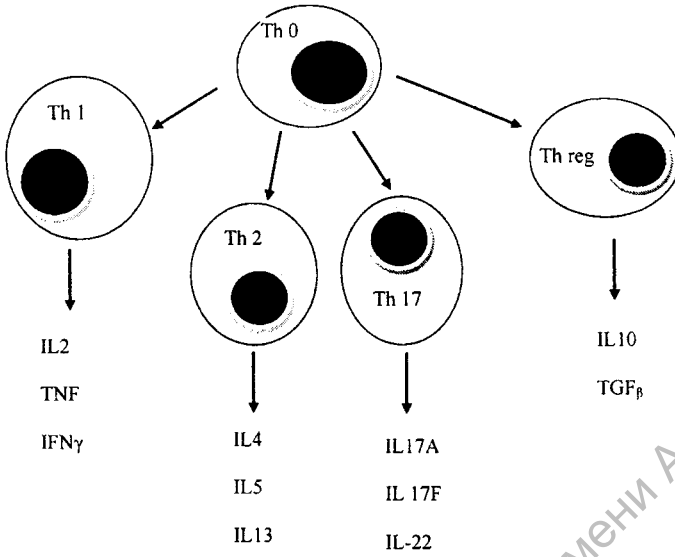


Рис. 5. Современная схема Т-хелперных ответов

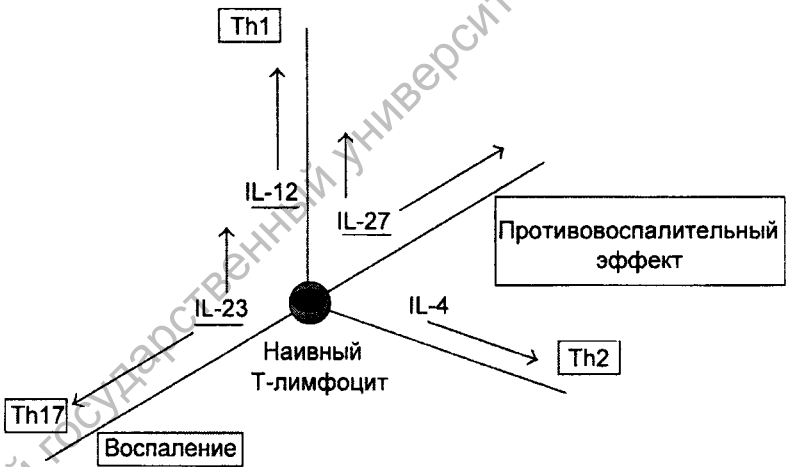


Рис. 5. Многовекторная регуляция дифференцировки Т-хелперов. Интерлейкины семейства IL-12 подчеркнуты

Несколько слов о клоне Th, продуцирующих IL-17, и получивших название Th₁₇. Известно, что вместе с IL-23 в дифференцировке Th₁₇ принимают участие IL-1 α и IL-1 β . Цитокины семейства IL-17 стимулируют синтез ряда провоспалительных цитокинов макрофагами и за счет этого усиливают воспалительную реакцию, изначально вызванную патогеном. Интерлейкины семейства IL-12 играют ключевую роль в Th реакциях 1 типа, а IL-27 важен в коммитировании Th₀ (рис. 5). Дефицит рецептора к IL-27 приводит к снижению клеточного иммунитета и повышению вероятности новообразований. Таким образом, представляя наивным Т-клеткам определенные цитокины, можно менять вектор коммитирования Th₀, целенаправленно меняя характер иммунного ответа.

Заключение

Иммунологическая идентичность патофизиологических механизмов многих заболеваний создает достаточно широкие возможности для компенсации недостаточности или дефицита одних медиаторов другими, и именно это обстоятельство объясняет нередкое отсутствие корреляции между содержанием тех или иных цитокинов и клиническими особенностями течения патологического процесса. В равной степени это относится и к возможному отсутствию корреляции между уровнями цитокинов и эффективностью терапии.

Проведенный анализ хроматина лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе показал, что морфоденситометрические параметры хроматина лимфоцитов могут служить чувствительными диагностическими маркерами.

Компьютерная морфоденситометрия может являться дополнительным методом диагностики ХЛЛ, позволяя выявлять тонкие структурно-функциональные изменения эпигенома иммунокомпетентных клеток.

Работа поддержана грантами Б04М-203 и Б07М-035 Фонда фундаментальных исследований Республики Беларусь.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Акулич, Н.В.** Гомеостазис: анализ концепции с позиции межклеточных взаимодействий / Н.В. Акулич, Н.Г. Кручинский. – Могилев: МГУ им. А.А. Кулешова, 2004. – 176 с.
2. **Душкин, М.И.** Интеграция сигнальных путей регуляции липидного обмена и воспалительного ответа / М.И. Душкин, Е.Н. Кудимова, Я.Ш. Шварц // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6. – № 2. – С. 12-18.
3. **Кетлинский, С.А.** Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: ООО "Издательство Фолиант", 2008. – 552 с.
4. Клетки крови – современные технологии их анализа / Г.И. Козинец [и др.]; Москва: Триада-фарм, 2002. – 200 с.
5. **Мантейфель, В.М.** Сравнительное исследование хроматина ядер лимфоцитов при активации транскрипции действием излучения He-Ne-лазера или фитогемаглютинина / В.М. Мантейфель, Т.Н. Андрейчук, Т.И. Кару // Молекулярная биология. – 1992. – Т. 26. – С. 1051-1056.
6. Морфометрический анализ ядер лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе / В.А. Остапенко [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 1994. – Т. 39. – № 4. – С. 15-17.
7. **Северин, Е.С.** Проблемы и перспективы современной противоопухолевой терапии / Е.С. Северин, А.В. Родина // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – С. 43-64.
8. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 / H. Park [et al.] // Nature Immunology. – 2005. – Vol. 6. – № 11. – P. 1133-1141.
9. **Benczik, M.** The interleukin (IL)-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes / M. Benczik, S.L. Gaffen // Immunol. Invest. – 2004. – Vol. 33. – № 2. – P. 109-142.
10. IL-23 up-regulates IL-10 and induces IL-17 synthesis by polyclonally activated naive T cells in human / S.V. Eijnden // Eur. J. Immunol. – 2005. – Vol. 35. – № 2. – P. 469-475.
11. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages / L. E. Harrington [et al.] // Nature Immunology. – 2005. – Vol. 6. – № 11. – P. 1123-1132.
12. mda-7/IL-24: Multifunctional cancer-specific apoptosis-inducing cytokine / P.Gupta [et al.] // Pharmacol. Ther. – 2006. – Vol. 111. – P. 596-628.
13. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells / E. Bettelli [et al.]. – Nature. – 2006. – Vol. 441. – № 7090. – P. 235-238.
14. TGF β in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells / M. Veldhoen [et al.] // Immunity. – 2006. – Vol. 24. – No. 2. – Pp. 179-189.
15. **Zlotnik, A.** Chemokines and cancer // Int J Cancer, 2006. – Vol. 119. – P. 2026-2029