

PEPTIDE DIN INSECTE CU ACȚIUNE ANTIVIRALĂ ȘI ANTITUMORALĂ

Nicolae Bacinschi, Victor Ghicavii, Ina Pogonea

Catedra farmacologie și farmacologie clinică

Summary

Insects peptides with antiviral and antitumoral actions

Antimicrobial peptides (AMPs) are among the main effector molecules in host innate immunity and act as a broad spectrum of microbes (bacteria, fungi, protozoa, enveloped viruses) as well as on a variety of tumor cells. The cationic antimicrobial peptides (AMPs), which are toxic to bacteria but not to normal mammalian cells, exhibit a broad spectrum of cytotoxic activity against viral-infected and cancer cells. In the relatively near future, AMPs that have been optimized for antiviral and anticancer activity may be an economically viable and therapeutically superior alternative to the current generation of chemotherapeutic drugs.

Rezumat

Peptidele antimicrobiene (PAM) sunt unele din multiplele celule ale imunității înnăscute ce afectează un larg spectru de microbi (bacterii, fungi, protozoare și virusuri cu membrană), precum și un șir de celule tumorale. Peptidele cationice, care sunt toxice pentru bacterii, dar nu și pentru celulele vertebratelor, exercită o activitate citotoxică variată față de celulele infectate cu virus și tumorale. În viitorul apropiat, PAM cu o activitate antivirală și antitumorală optimizată, vor fi o alternativă economică și terapeutică pentru obținerea unor chimioterapice noi.

Insectele constituie 55% din biodiversitățile totale a vietăților și circa 85% din lumea animalelor. Se consideră că insectele au apărut în epoca Devonian, 350 mln ani în urmă, și colonizează toate nișele terestre și acvatice, toate climatele de la poli la deșerturi. Din cele mai vechi timpuri sunt cunoscute proprietățile curative ale produselor din albine, furnici etc.. În ultimii ani un interes tot mai mare prezintă studiul substanțelor biologice active și al sistemului imun al insectelor.

Sistemul imun al insectelor, la contactul cu microorganismele, sintetizează și eliberează un șir de molecule ale răspunsului imun – peptide cu acțiune antimicrobiană și imunomodulatoare. Descifrarea structurii acestora va permite sinteza chimică și biologică a lor, iar ulterior va servi ca bază pentru obținerea unor medicamente noi de origine entomologică. Actualmente sunt descrise circa 1200 de astfel de peptide de origine naturală, dintre care 50% sunt din insecte. Acestea s-au format pe parcursul evoluției și pretind la rolul de o generație nouă de preparate antibacteriene, antivirale și antifungice. Mecanismele celulare de protecție ale insectelor reprezintă un obiect de studiu în imunologie. Astfel, la insecte s-au depistat chemokine citotoxice (analogi ai kilerilor naturali), care apar înainte de metamorfoză și distruc țesuturile larvelor. Studiile *in vitro* au demonstrat că aceste chemokine manifestă acțiune antitumorală.

Omniprezența insectelor în toate sistemele ecologice stimulează cercetările științifice în vederea obținerii unor agenți terapeutici noi. Printre peptidele/polipeptidele biologice active din insecte au fost caracterizate peptidele cu acțiune antimicrobiană, ce constituie descoperiri științifice fascinante de utilizare în terapeutică. În orice caz relativ puține date au fost găsite despre moleculele din insecte cu activitate antivirală și antitumorală. Din aceste considerente acest domeniu de cercetări reprezintă o sursă importantă de obținere a preparatelor antivirale și antitumorale.

Actualmente biologii au constatat că insectele sunt capabile să producă o mulțime de substanțe biologice active (peptide, hormoni, feromoni etc.) ce pot servi ca un model de imitare sau, ce e și mai important, ca o sursă nouă pentru obținerea preparatelor medicamentoase. Putem menționa că aceste intenții deja au dat primele rezultate soldate prin introducerea în practica medicală a unor suplimente alimentare sau medicamente entomologice cu proprietăți antivirale, imunomodulatoare, antibacteriene, hepatoprotectoare, antitumorale etc. (1, 2, 3, 4, 5, 9, 14, 19, 20, 21).

Protecția organismului de infecția virală se realizează prin factorii nespecifici (omoaară/blochează virusurile, bacteriile, celulele infectate) și specifici (formează răspunsul imun față de virusul concret, inclusiv celulele memorie). Factorii de protecție specifică sunt limfocitele T citotoxice (CD8⁺) și limfocitele B (produc anticorpii specifici), iar cei nespecifici sunt reprezentați prin sistemul kilerilor naturali, fagocitele mononucleare (monocite, macrofage tisulare), granulocite (neutrofile, eozinofile, bazofile), interferonii alfa, beta, gamma, unele interleuchine (TNFalfa, IL-6 etc.) și unele proteine plasmatice (sistemul complementului).

Sistemul kilerilor naturali este grupa factorilor celulari cu rol important în mecanismul imunității naturale (înăscute) reprezentat prin celulele: NK – celulele kiler naturali; K – celulele kiler; LAK – celulele kiler limfochin activate; NK/T-limfocite – verigă intermediară între imunitatea înăscută și dobândită.

Celulele NK sunt o populație a limfocitelor ce provin din celula stem hemopoietică și se maturizează în măduva osoasă. Acestea au o funcție de supraveghere imună prin: liza celulelor infectate de virusuri și alte microorganisme intracelulare, precum și a unor celule tumorale; producerea și secreția unor citokine imunoreglatoare (INF alfa, gamma, IL-1, limfotoxina).

În infecția virală NK-celulele migrează în țesutul infectat sub influența INF tip 1, recunosc și lizează celulele-țintă pe care lipsesc sau sunt modificați markerii caracteristici celulelor sănătoase. Pe suprafața NK-celulelor sunt receptorii kiling activatori și kiling inhibitori. Celulele infectate sunt recunoscute de receptorii kiling activatori, expresia cărora crește sub acțiunea citokinelor. În rezultatul recunoașterii NK-celulele secretă perforine și gransime. Perforinele se infiltrează în membrana celulei-țintă cu formarea porilor, iar gransimele penetrează în celula-țintă cu liza acesteia. Celulele NK pentru realizarea efectului nu au nevoie de proliferare, transcripție sau sinteza proteinelor (nu necesită timp pentru maturare) și nic participarea anticorpilor și complementului. Astfel de citoliză se numește citotoxicitate mediată celular. Activitatea NK-celulelor nu are specificitate imunologică și se manifestă până la includerea factorilor specifici de protecție imună.

Limfocitele NK/T sunt o verigă intermediară între imunitatea înăscută și dobândită și se caracterizează prin prezența markerilor NK-celulelor (CD56 și CD16) și celui a limfocitelor T – un receptor ce recunoaște antigenul, receptor natural format pentru identificarea antigenilor lipidici. Aceste celule au nu numai funcție de kiler, dar și transmit semnalul pentru Th1 și Th2 cu producerea de citokine. Astfel amplifică reglarea răspunsului imun cu includerea mecanismelor imunității specifice (protecția contra virusurilor, bacteriilor, paraziților, imunitatea antitumorală, preîntâmpinarea dezvoltării patologiei autoimune). Limfocitele NK/T sunt rezistente la apoptoză ce permite de a supraviețui după activare și de a menține cantitatea lor la un nivel normal.

Celulele LAK reprezintă limfocite obișnuite care au fost activate de IL-2 și au căpătat capacitatea de a realiza efectul kiling.

Celulele K au pe suprafața sa receptor către Fc-fragmentul IgG și sunt capabile către citotoxicitatea mediată celular dependentă de anticorpi. Interacțiunea dintre aceste elemente este un mecanism cheie al procesului citolitic, în care o celulă K poate liza câteva celule-țintă.

Rolul citokinelor în organism se reduce la: inhibarea transcripției genomului viral și translației ARNm viral cu micșorarea viremiei și creșterea procesului de eliminare; contribuie la răspunsul imun adecvat la infiltrarea agentului infecțios în organism (inițiază cascada reacțiilor imunologice).

În anii 80 ai secolului XX savanții ruși cercetează substanțele biologic active din insecte, inclusiv peptidele antibacteriene izolate din mai multe specii. Studiile s-au axat pe larvele chirurgicale, utilizate de I.Pirogov încă în secolul XIX în războiul ruso-turc în vindecarea plăgilor și ulcerelor. În cele din urmă din hemolimfa insectelor s-au separat câteva familii de compuși proteici capabile să îndrepte sistemul imun la lupta cu infecțiile virale. Cercetările experimentale ale imunității celulare și umorale la larvele *Callophora vicina* au elucidat prezența a trei grupe de substanțe farmacologic active de perspectivă pentru medicină – aloferoni, alostatine și peptide antimicrobiene (21).

Peptidele izolate din larvele chirurgicale (ce lezează bacteriile) sau din hemolimfa muștei *Calliphora vicina* au o lungă istorie de utilizare în medicină. *Calliphora vicina* este cunoscută, de asemenea, prin capacitatea de a produce, după o modelare experimentală, o serie de substanțe cu efect potențial antimicrobian cu o structură primară similară a celor descrise din alte insecte precum defensine, cecropine, diptericine și proteine bogate în prolină. Experimentele, ce au precedat descoperirea aloferonilor, au notat că hemolimfa primară (prospătă) de *Calliphora* conține un factor capabil să stimuleze rezistența antivirală și antitumorală la șoricei. În acest caz s-a constatat o majorarea în splină a NK-celulelor, elemente cheie în imunitatea înăscută antivirală și antitumorală la vertebrate și unele nevertebrate. S-a presupus că hemolimfa din *Calliphora* poate conține material asemănător citokinelor, care interacționează cu NK-celulele șoriceilor ce protejează de infectarea virală sau modificarea tumorală. După extragerea și purificarea hemolimfei s-au obținut 2 peptide cu 13 și 12 reziduri de aminoacizi. Peptida cu 13 reziduri a fost numită aloferon 1, care ulterior a fost sintetizată și studiată activitatea biologică. Ulterior s-au sintetizat aloferon 2 (rezid de 12 aminoacizi) și aloferon 3 și 4 cu un lanț mai scurt de aminoacizi dar care manifestau o acțiune biologică similară, determinată de secvența Ser-Gly-His-Gly-Gln-His-Gly-Val ce corespunde aloferon 4. Structura aloferon 1 (HGVSQHGHGVHG) și aloferon 2 (GVSGHGHGVHG) au secvențe comune cu cele din hemaglutinina virusului gripei B, proteinei antifungice din *Sarcophaga peregrina* (musca de carne), kininogenul din bovine și colagenul uman endotelial.

Aloferonii – peptide ale sistemului imun, similare citokinelor, ce reglează imunitatea specifică antivirală și antitumorală. Acestea sunt peptide liniare din 12-13 L-aminoacizi ce interacționează cu celulele imunocompetente umane (neutrofile, limfocite și monocite) cu creșterea activității citotoxice și stimularea producerii interferoniilor. Aloferonii sunt peptide ce selectiv stimulează activitatea citotoxică a kilerilor naturali cu rol important în imunitatea antivirală și antitumorală a vertebratelor. Datorită dimensiunilor mici a fost posibilă sinteza aloferonilor fără impurități. În baza aloferonilor s-au sintetizat un șir de substanțe, printre care și aloferonul alfa, înregistrat în Rusia în 2003 în calitate de preparat antiviral. Aloferonul alfa reprezintă o oligopeptidă liniară din 13 L-aminoacizi (His-Gly-Val-Ser-Gly-His-Gly-Gln-His-Gly-Val-His-Gly), reprezentatului unei clase noi de stimulatori selectivi ai factorilor imunității înăscute cu proprietăți antivirale și antitumorale (1, 19, 20). Preparatul este reprezentantul unei noi grupe de antivirale (numite – preparate ce preîntâmpină evitarea citokinelor), bazate pe capacitatea oligopeptidelor sistemului imun al insectelor de a include citokinele în lupta cu virusurile. S-a demonstrat eficacitatea înaltă în tratamentul infecțiilor virale (hepatite, herpes, infecții cu papilomavirus) și posibilitatea de a le utiliza ca monoterapie.

Studiul aloferonilor a permis de a modifica țintit sinteza și de a obține alostatine – oligopeptide din 10-15 aminoacizi. Alostatinele sunt peptide sintetice ce îmbină caracteristici structurale pentru aloferoni și unele proteine imunologic active ale vertebratelor. Acestea, ca și aloferonii, manifestă efect stimulator asupra activității citotoxice ale kilerilor naturali și producerea interferonilor, iar unele din ele au proprietăți adjuvante – abilitatea de a crește recunoașterea imună a antigenelor. Aceste peptide posedă efect antiviral și antitumoral. Ultimul se bazează pe inhibarea directă a proliferării celulelor canceroase și activarea mecanismelor imunologice de respingere a tumorii. Alostatinele întrunesc proprietățile de imunomodulator (mobilizarea limfocitelor citotoxice, interferonilor și, posibil, altor mecanisme ale imunității antitumorale și antivirale) și cele de citostatic (inhibarea nemijlocită a proliferării celulelor canceroase). Actualmente aceste substanțe sunt efective în creșterea rezistenței pielii și mucoaselor la infecțiile virale, iar în viitorul apropiat își vor găsi utilizarea în imunoterapia cancerului și altor maladii. (21).

Studiile experimentale au demonstrat că aloferonii nu sunt toxici (în cadrul toxicității acute și cronice) și nu manifestă acțiune sensibilizantă, alergizantă, embriotoxică, teratogenă și mutagenă. Se supune rapid și complet biodegradării prin proteazele extra și intracelulare.

Aloferonul este o peptidă asemănătoare citokinelor și se poate considera ca un interferonomimetic deoarece activitatea farmacologică este similară cu cea a interferonului alfa

referitoare la influența asupra sistemului kilerilor naturali și rezistenței la infecția virală. Acțiunea alloferonului se realizează în concentrații foarte mici – 0,05-0,5 ng/ml. Alloferonul se consideră un inductor al sintezei interferonilor, efect caracterizat prin 2 picuri (6 și 24 ore), în deosebi la 24 ore spre deosebire de alți interferonoinductori (cicloferon). Proprietățile de interferonomimetic și interferonoinductor sunt importante pentru tratamentul deficiențelor sistemului kilerilor naturali și interferonului întâlnite în maladiile virale, micotice și oncologice.

Alloferonul (intranazal și subcutan) s-a dovedit efectiv în tratamentul infecțiilor virale la șoricea cauzate de virusul gripei A și B în doze cu mult mai mici în comparație cu preparatele de referință, remantadina și ribavirina respectiv.

Studiul activității antitumorale a remarcat proprietatea alloferonului de a potența capacitatea limfocitelor din sângele periferic a persoanelor sănătoase de a liza celulele tumorale, acțiune ce nu ceda interferonului alfa. Concomitent preparatul a stimulat liza celulelor tumorale de limfocitele citotoxice al bolnavilor oncologici. Efectul era mai manifest asupra NK-celulelor și mai marcat la bolnavii cu leucoză acută și cronică, dar mai mică la cei cu limfoame. Acțiunea stimuloare a alloferonului și interferonului alfa corela cu citotoxicitatea redusă sau nulă a limfocitelor. Alloferon 1 și analogii lui 3 și 4, similar cu interferonul alfa, stimulau activitatea citotoxică a limfocitelor persoanelor sănătoase și pacienților cu maladii oncologice. (1).

Allochin alfa este un preparat antiviral ce simulează selectiv factorii imunității naturale. Substanța activă a preparatului este alloferonul, oligopeptid sintetic în baza peptidului insectelor, veriga principală a protecției antivirale (1, 20).

Mecanismul de acțiune al preparatului constă din: a) stimularea recunoașterii antigenelor virale și celulelor afectate de kilerii naturali (NK), neutrofile și alte sisteme efectoare ale imunității naturale (înăscute); b) stimularea sintezei interferonilor (1, 8, 11, 16, 20).

Activarea sistemului kilerilor naturali (NK-celulelor și NK/T-limfocitelor). Allochin alfa este un stimulator selectiv al activității funcționale a NK-celulelor și NK/T-limfocitelor, limfocite citotoxice ce recunosc și lizează celulele afectate de virus. Aceasta se realizează prin amplificarea expresiei receptorilor activați kiler al NK-celulelor și activării lor funcționale (recunoașterii celulelor infectate de virus), precum și majorarea producerii de către acestea a citokinelor (interferon alfa și gamma, interleukinelor 1 și 2 (IL-1, IL-2), limfotoxinei). Celulele NK în rezultatul recunoașterii celulelor-țintă și contactului cu ele eliberează din granule perforine și gransime. Perforimele se infiltrează în membrana celulelor afectate și formează pori prin care permit gransimelor să pătrundă în celulă ca în cele din urmă să ducă la liza celulelor afectate. Preparatul contribuia la restabilirea activității funcționale a imunității celulare relevantă prin expresia genelor citokinelor cu creșterea producției IL-6, IL-10, IL-12, IL-18. E necesar de menționat că Allochinul alfa selectiv stimulează activitatea funcțională a NK-celulelor prin creșterea citotoxicității lor, dar nu a numărului lor. Tot odată preparatul acționează în focarul infecției fără o activare a cascadei reacțiilor imune ale organismului, deoarece pentru realizarea efectului este necesară prezența antigenului viral sau a celulei afectate. Acest mecanism este important în tratamentul infecțiilor virale (herpetice etc.) deoarece virusurile protejează celulele infectate ale gazdei de acțiunea limfocitelor citotoxice prin blocarea activității T și NK-celulelor (1, 8, 20).

Inducerea sintezei interferonilor. Allochin alfa manifestă proprietăți imunotrope în calitate de cofactor al creșterii producerii INF-gamma de NK-celule, INF-alfa de leucocite în focarul infecției datorită reacției la antigenul viral. Astfel, inducția sintezei INF este rezultatul acțiunii virusului și nu a allochinului alfa. Aceasta este o particularitate specifică a preparatului cu localizarea acțiunii și reducerea efectelor sistemice nedorite cauzate de răspunsul nespecific generalizat, constatat la utilizarea preparatelor imunomodulatoare (1, 8, 20).

Studiile clinice au demonstrat eficacitate allochinului alfa în tratamentul și profilaxia infecțiilor herpetice (8, 10, 12, 18), infecțiilor cu papilomavirusuri (7, 8, 11, 16, 17, 20), hepatitelor virale B și C (6, 8, 15, 22), gripei A și B (1, 8, 20).

În infecțiile herpetice s-a constatat capacitatea virusurilor herpetice de a proteja celulele infectate ale gazdei de acțiunea limfocitelor citotoxice prin blocarea activării NK-celulelor și

limfocitelor T ce determină cronicizarea procesului (8, 10, 18). Utilizarea allochinului alfa a contribuit la reducerea duratei, frecvenței și intensității recidivelor cu ameliorarea calității vieții, precum și creșterea numărului și activității NK-celulelor. Autorii recomandă preparatul în calitate de monoterapie sau tratament complex al afecțiunilor herpetice (herpesului genital, herpesului simplex, varicelozosterian, citomegalic și Epștein-Bar).

Virusurile papilomei la om se consideră factorul etiologic principal al cancerului ce col uterin. Tratamentul complex cu alloferon, și anume alloferonul 3 (alostatina sub forma externă de preparat allomedin), a demonstrat o eficacitate în 70-98% cazuri și poate fi recomandat în dermatologie, ginecologie și urologie pentru tratamentul infecțiilor papilomatoase, displaziilor intraepiteliale ale mucoaselor de origine virală, candiloamelor etc. (8, 17, 20). S-a demonstrat că allomedinul (alloferon 3) spre deosebire de allochin alfa manifesta și un efect antiinflamator determinat de modificarea reacției inflamatoare nespecifice în mecanisme mai fine caracteristice sistemului imun antiviral.

Allochin alfa la tratamentul pacienților cu hepatită acută virală B și C a contribuit la ameliorarea simptomelor clinice (intoxicației, icterului etc.), parametrilor biochimici (AlAT, AsAT, FA, GGTP etc.) și eliminarea markerilor virali (8, 22). Autorii consideră că efectul benefic al preparatului este determinat de activarea sistemului interferonilor și normalizarea: T și B-imunității, expresiei genelor citokinelor (INFalfa, INF gamma, TNF alfa, IL-12, IL-18, IL-8), producerii INF-gama cu restabilirea activității funcționale a limfocitelor T, capacității de activare a sistemului imun și răspunsului imun după tipul Th-1. La pacienții cu hepatită virală C s-a constatat creșterea numărului celor cu ARNm, citochinelor INF alfa, IL-1 beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-18 în comparație cu voluntarii. Concomitent în perioada de acutizare s-a determinat micșorarea pacienților cu ARNm la INF-gamma, TNF alfa, IL-12 față de voluntari. Pe fondalul tratamentului cu allochin alfa se menținea producerea ARNm, INF alfa, IL-1 beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-18 cu o majorare celui a INF gamma, IL-10. Activitatea limfocitelor B se caracteriza prin capacitatea lor de a crește sinteza INF alfa, IL-1beta, IL-4, IL-2, IL-10, iar a Th2 de a produce IL-4 și IL-10, ial allochinul alfa stimula expresia acestor gene.

Allochinul alfa se recomandă de inclus în standardul de tratament al pacienților cu hepatită virală B cronică și farmacoterapia complexă a hepatitei virale cronice B și C, inclusiv și cu INF alfa, datorită faptului că stimulează leucopoieza (15).

Substanțele biologic active din insecte au manifestat acțiune antivirală față de virusurile hepatitelor, herpesului, HIV/SIDA etc. (4).

Un interes deosebit prezintă cercetarea unor noi medicamente în bază de entovironi, substanțe produse de sistemul imun al insectelor ce răspund la infecția virală. Spre deosebire de aloferoni aceștea manifestă acțiune antivirală directă, iar varietatea entovironilor depășește arsenalul de preparate antivirale.

Bibliografie

1. Cernysh S.I., Kim S.I., Bekker G., Pleskach V.A., Filatova N.A., Aniin V.B., Platonov V.G., Bulet P.: Antiviral and antitumor peptides from insects. PNAS, 2002, vol.99, N.20, 12628 – 12632.
2. Cernysh S.I., Filatova N.A., Cernysh N.S.: Cytotoxic activity of blow fly Calliphora vicina hemocytes. Journal of Insect Physiology, 2004, v.50, 777-781.
3. Ciuhrii M., Vernescu S.: Entomologia la finele secolului XX. Lucrările celui de-al II-lea Congres „Dezvoltarea în pragul mileniului III”, București, 1999; 560-567.
4. Ciuhrii M.:Terapii complementare noi bazate pe subsanțe biologic active extrase din insecte. Lucrările simpozionului „Priorități în dezvoltarea biotehnologiei românești”, Târgoviște, 12-13 decembrie 2002, 96-103.
5. Ghicavîi V., Bacinschi N. Preparatele entomologice – o nouă direcție de cercetare și elaborare a medicamentelor. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 3 (7). Chișinău 2006. p. 221-226.

6. Беляева Н.М., Турьянов М.Х., Рабинович Э.З. Комбинированная терапия гепатита С рибавирином и альфа-аллофероном. Пособие для врачей. М.;2002:20с.
7. Гайдуков С.Н. и др. Роль иммуномодулятора Аллокин-альфа в комплексном лечении папилломавирусных поражений шейки матки. Terra Medica. 2007; 2(46): 44-46.
8. Ершов Ф.И. и др. Применение аллокина-альфа в терапии вирусных инфекций.(руководство для врачей). М-Санкт-Петербург. 2008.
9. Гикавый В.И. и др. Фармакологические эффекты энтомологических препаратов. Материалы научно-практической конференции,»Равнодействие». Минск, 2010, стр.57-61.
- 10.Исаков В.А., и др. Аллокин-альфа в комплексной терапии герпетической инфекции. Terra Medica Nova.. 2006; 3.:1-4.
- 11.Ковчур П.И. и др. Влияние «аллокина-альфа» на экспрессию маркеров регуляторных лимфоцитов Treg у больных с хронической папилломавирусной инфекцией. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009;11; 1(5): 958-961.
- 12.Корягин В.Н. и др. Аллокин-альфа в терапии опоясывающего герпеса. Актуальные вопросы инфекционной патологии в урологии и гинекологии. Матер.научно-практической конф. 30 ноября 2007.Спб.2007:41-43.
- 13.Мальцева А.А. Изучение молекулярных механизмов антимикробной защиты морской звезды *Asterias Rubens*. Дисс.канд.биол.наук. 2008.
- 14.Маркина Н.: Лекарства из насекомых, 2005.
- 15.Мязин Р. Г., Хабибуллин Э. Р. Противовирусный препарат Аллокин-альфа как стимулятор лейкопоэза у больных хроническими вирусными гепатитами В и С. Российском журнале гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии», 2009г. XIX, ; 5, прил. 34, тезисы № 370, с. 98.
- 16.Самышева Е.В. и др. Опыт применения аллокина-альфа в терапии папилломавирусной инфекции гениталий у женщин. Здравоохранение Дальнего Востока. 2010; 2(44): 49-51.
- 17.Сафонникова Н.Р. и др. Папилломавирусные инфекции: новые подходы к лечению. Terra Medica Nova.. 2010; 2.:31-35..
- 18.Тищенко М.С. и др. Лечение больных герпетической инфекцией. Terra Medica Nova.. 2006; 4.:40-44.
- 19.Черныш С.И.: Аллокины (цитокиноподобные пептиды насекомых) как модуляторы иммунного ответа человека и других млекопитающих. Russian Journal of Immunology, 2004, v.9, s.1, 36.
- 20.Черныш С.И. Аллокины, противовирусные и противоопухолевые препараты нового типа. XI национальный конгресс «Человек и лекарство». М.; 2005: 723.
- 21.Черныш С.И., Гордя Н.А. Иммунная система личинок *Calliphora vicina* (Diptera, calliphoridae) как источник лекарственных веществ. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2011; 47; 6: 444-452.
- 22.Чешик С.Г. и др. Клинико-лабораторная оценка терапевтической эффективности и безопасности иммуномодулирующего препарата Аллоферон при остром гепатите В Сборник тезисов VI Российского Съезда врачей-инфекционистов. 29-31 октября 2003г., М. 2003: 24.