

**ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
СУПЕРНАТАНТОВ *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* И КЛЕТОК
КУРИНОГО ЭМБРИОНА НА МОДЕЛИ ОПИСТОРХОЗНОЙ ИНВАЗИИ**

Костоломова Е. Г.^{1,2},

Лозовая П. Б.¹,

Полянских Е. Д.¹,

Тимохина Т. Х.¹,

Паромова Я. И.¹

¹ ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»
Минздрава РФ, Тюмень, Россия.

² Университетский НИИ медицинских биотехнологий и биомедицины ФГБОУ
ВО Тюменский ГМУ Минздрава РФ, Тюмень, Россия.

STUDYING THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM SUPERNATANTS AND CHICKEN EMBRYO CELLS ON A MODEL OF OPISTHOCHIC INVASION

Kostolomova E. G. ^{a, b},

Lozovaya P. B. ^a,

Polyanskiy E. D. ^a,

Timokhina T. H. ^a,

Paromova Y. I. ^a

^a FSBEIoHE (Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education)

Tyumen MSU of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia.

^b The University SRI of medical biotechnology and biomedicine

Tyumen MSU of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia.

Резюме

Морфологические изменения печени, как основного органа, в котором локализуется *Opisthorchis felinus*, по данным литературы характеризуются значительными структурными изменениями. Так же недавние исследования показывают, что инфекция *O. felinus* модифицирует иммунную реактивность за счет увеличения синтеза супрессоров иммунного ответа IL10 и TGF- β и снижения уровня провоспалительных маркеров IL-4, IL-5. Эксперимент проведен на 15 сирийских золотых хомячках (*Mesocricetus auratus*) в возрасте от 4 до 6 недель. Животные были разделены на 3 равные группы. Длительность наблюдения составила 24 дня. Живые метацеркарии *Opisthorchis felinus* были выделены из зараженной рыбы семейства карповых. Заражение проводилось путем их перорального введения (доза заражения - 50 метацеркариев). Животным в экспериментальных группах при заражении метацеркариями внутрибрюшинно параллельно вводили 1 мл исследуемых супернатантов. Гистологический материал обработан стандартными методами. Гистологические препараты исследованы методами светооптической микроскопии с иммерсией, видеомикроскопии с морфометрией. В результате исследования установлено, что в острую фазу описторхоза преобладает общая инфильтрация области портального тракта. Клеточный состав инфильтратов характеризовался наличием лимфоцитов, макрофагов, фибробластов, эпителиоидных клеток и клеток инородных тел. Описанные изменения клеток связаны с локальным снижением доступа кислорода к гепатоцитам периферической зоны дольки из-за их сдавления фиброзной тканью. В печени экспериментальных групп отмечались лишь тканеспецифические изменения, а поражения гепатоцитов были наименее выраженные в группе с введением супернатанта *B. bifidum*. Цитокиновый профиль в контрольной группе соответствовал Th1 варианту. В экспериментальной группе 1 при применении супернатанта *B. Bifidum* в сравнении с контролем в 4 раза уменьшалась способность лимфоцитов продуцировать основной провоспалительный цитокин - TNF- α , также супрессирующий эффект наблюдался в отношении IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IFN- γ . Вместе с тем наблюдалось угнетение продукции основного противовоспалительного цитокина IL-10, при этом в сравнении с контролем увеличивается уровень IL-4, IL-5. При применении супернатанта клеток куриного эмбриона, мы наблюдали схожие результаты с 1 группой: супрессирующий эффект в отношении провоспалительных и активацию продукции противовоспалительных цитокинов. Уровень IL-17 снижался в обеих экспериментальных группах. Активация продукции противовоспалительных цитокинов в обеих экспериментальных группах модулирует иммунный ответ в сторону Th2, что способствует блокированию воспалительных эффектов.

Ключевые слова: *Bifidobacterium bifidum*, клетки куриного эмбриона, *Opisthorchis felinus*, печень, цитокины.

Abstract

Morphological changes in the liver during infection with *Opisthorchis felineus* are characterized by significant structural changes. It has been proven that *O. felineus* modifies immune reactivity by increasing the synthesis of IL10 and TGF- β and decreasing the levels of IL-4 and IL-5. The experiment was carried out on 15 *Mesocricetus auratus* aged from 4 to 6 weeks. The animals were divided into 3 equal groups. The duration of observation was 24 days. Live metacercariae of *O. felineus* were isolated from infected cyprinid fish. Infection was carried out by oral administration of 50 metacercariae. Animals in the experimental groups were injected intraperitoneally with 1 ml of the test supernatants. Histological preparations were examined by video microscopy with morphometry. It has been established that in the acute phase of opisthorchiasis, general infiltration of the portal tract area predominates. The cellular composition of infiltrates is characterized by the presence of lymphocytes, macrophages, fibroblasts, epithelioid cells and foreign body cells. The described cell changes are associated with a local decrease in oxygen access to hepatocytes in the peripheral zone of the lobule due to their compression by fibrous tissue. In the liver of the experimental groups, only tissue-specific changes were noted, and the damage to hepatocytes was the least pronounced in the group with the introduction of *B. bifidum* supernatant. The cytokine profile in the control group corresponded to the Th1 variant. In experimental group 1, when using the supernatant of *B. Bifidum*, in comparison with the control, the ability of lymphocytes to produce the main pro-inflammatory cytokine - TNF- α decreased 4 times; a suppressive effect was also observed in relation to IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IFN- γ . Inhibition of IL-10 production was observed, while the level of IL-4 and IL-5 increased in comparison with the control. When using the supernatant of chicken embryo cells, we observed similar results to group 1: a suppressive effect on pro-inflammatory and activation of the production of anti-inflammatory cytokines. IL-17 levels decreased in both experimental groups. Activation of the production of anti-inflammatory cytokines in experimental groups modulates the immune response towards Th2, which helps block inflammatory effects.

Keywords: *Bifidobacterium bifidum*, chicken embryo cells, *Opisthorchis felineus*, liver, cytokines.

1 Введение

Описторхоз из группы биогельминтозов считается эндемичным и гиперэндемичным заболеванием [1]. Большая часть мирового ареала описторхоза находится на территории России. Самые крупные очаги находятся на территории Ханты-Мансийского и Ямало-Ненецкого автономных округов, а также Тюменской, Томской, Омской и Новосибирской областей [5]. Естественное течение инфекции *Opisthorchis felinus* характеризуется острой фазой, сопровождающейся миграцией ювенильного паразита через стенку кишечника в паренхиму печени, и хронической фазой, в которой зрелые паразиты обструктируют и вызывают воспаление желчевыводящих путей. На обеих стадиях заболевание оказывает большое влияние на здоровье человека вследствие своей высокой патогенности и иммуномодуляции [3]. Недавние исследования показывают, что описторхозная инвазия модифицирует иммунную реактивность за счет увеличения синтеза супрессоров иммунного ответа IL10 и TGF- β и снижения уровня провоспалительных маркеров IL-4, IL-5 [4]. В настоящее время важно понимать взаимодействие между паразитами, кишечной микробиотой и их влияние на здоровье хозяина. Кроме того, было описано, что *Opisthorchis felinus* может модулировать иммунную систему и ее реакцию на различные антигены, в том числе антигены резидентных бактерий, составляющих микробиоту кишечника [6].

Цель исследования: оценить и сравнить противовоспалительную активность супернатанта *Bifidobacterium bifidum* и клеток куриного эмбриона на модели сирийских золотистых хомячков, заражённых *Opisthorchis felinus* в эксперименте *in vivo*.

2 Материалы и методы

Живые метацеркарии были выделены *Opisthorchis felinus* (Of) из зараженной рыбы семейства карповых. Супернатант *Bifidobacterium bifidum* (Bb) получали по ранее описанной методике [2]. Для получения супернатанта клеток куриного эмбриона (ККЭ) использовали авторскую методику [7]. Эксперимент проведен на 15 сирийских золотых хомячках (*Mesocricetus auratus*) в возрасте от 4 до 6 недель. Животные были разделены на 3 равные группы по 5 особей в каждой:

1. Контрольная группа (КГ), зараженные метацеркариями Of.
2. Экспериментальная группа 1 (ЭГ 1), зараженные метацеркариями Of с внутрибрюшинным введением Bb (1 мл).
3. Экспериментальная группа (ЭГ 2), зараженные метацеркариями Of с внутрибрюшинным введением ККЭ (1 мл).

Заражение проводилось путем перорального введения метацеркариев Of всем трем группам (доза заражения: 50 метацеркариев). Длительность наблюдения составила 24 дня, во время которых экспериментальные группы ежедневно получали по 3 капли Bb и ККЭ перорально. Условия содержания, экспериментальной работы и вывода животных из эксперимента

44 соответствовали Европейской конвенции о защите позвоночных животных,
45 используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986),
46 и российскому законодательству (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по
47 содержанию и уходу за лабораторными животными» от 01.07.2016). По
48 истечению времени эксперимента была изъята печень и кровь хомячков всех
49 групп для гистологического исследования и определения количества
50 цитокинов. Для описательной морфологии органа использовали метод
51 световой микроскопии. Гистологические препараты изучали с
52 использованием бинокулярного светового микроскопа. Срезы
53 изготавливались с помощью автоматического ротационного микротомы Leica
54 RM 2255 («Лейка Биосистемс Нуслох ГмбХ», Германия. Толщина 5 мкм.
55 Межгрупповое сравнение данных проводили в соответствии протоколом
56 «Морфологические ведомости» – Morphological Newsletter: 2022 Том (Volume)
57 30 Выпуск (Issue) с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (U)
58 для парных выборок с ненормальным распределением, при уровне
59 доверительной вероятности $p \leq 0,05$.

60 Количество Th1 (ИЛ-1, ИЛ-2, $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, ИЛ-6, ИЛ-8) и Th2 (ИЛ-4, ИЛ-10) и
61 Th17 (ИЛ-17) цитокинов в сыворотке крови определяли с помощью панели Bio-
62 Plex Pro™ Mouse Cytokine 23-plex для анализа цитокинов мыши
63 (M60009RDPD) методом xMAP мультиплексного ИФА. При помощи
64 анализатора Bio-Plex (Luminex) 200, MAGPIX.

65 Все статистические анализы проводились с использованием SPSS версии 15
66 для Windows (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс, США). Значение P менее 0,05
67 считалось значимой разницей.

68 **3 Результаты и обсуждение**

69 Патоморфологическое изучение печени контрольной группы (Рисунок 1А)
70 показало выраженные органо- и тканеспецифические изменения в виде
71 нарушения структур классических долек за счет гиперплазии соединительной
72 ткани из области порталных трактов. Вследствие чего часть долек имеет
73 нетипичную форму и уменьшенные размеры. Синусоидные капилляры
74 расширены, стенки крупных желчных протоков утолщены, в них
75 сформировались паразитарные гранулёмы, в центре которых обнаруживались
76 яйца описторхов, лимфоциты, плазматические и эпителиоидные клетки,
77 эозинофилы. Тканеспецифические изменения обусловили появление
78 гепатоцитов крупных размеров, имеющих полигональную и округлую формы,
79 со светлой, почти неокрашенной, набухшей цитоплазмой и одним круглым
80 базофильным ядром. Описанные изменения клеток связаны с локальным
81 снижением доступа кислорода к гепатоцитам периферической зоны дольки из-
82 за их сдавления фиброзной тканью. Развитие фиброзных изменений печени
83 коррелировало с количеством провоспалительных цитокинов $FNO\alpha$ ($r=0,78$),
84 ИЛ-6 ($r=0,75$), ИЛ-1 β ($r=0,71$), ИЛ-8 ($r=0,51$).

85 В печени экспериментальных групп (Рисунок 1 В, С) отмечались лишь
86 тканеспецифические изменения. Поражения гепатоцитов наименее
87 выраженные у ЭГ 1 (Рисунок 1В).

88 Рис. 1. Гистологические срезы печени. Толщина 5мм. Исходное увеличение,
89 $\times 1000$, масштабная линейка 10 мкм. А- контрольная группа; В-
90 Экспериментальная группа 1; С - Экспериментальная группа 2. Взрослый
91 червь (стрелка) в печени контрольной группы. При исследовании печени
92 экспериментальных групп заражение не наблюдалось.

93 Fig. 1. Histological sections of the liver. Thickness 5mm. Original magnification,
94 $\times 1000$, scale bar 10 μm . A - control group; B- Experimental group 1; C -
95 Experimental group 2. Adult worm (arrow) in the liver of the control group. When
96 examining the livers of the experimental groups, no contamination was observed.

97 При оценке результатов было установлено, что профиль и уровень цитокинов
98 изменялся в зависимости от вводимого супернатанта (Рисунок 2). В
99 контрольной группе наблюдалось повышение количества провоспалительных
100 цитокинов. В экспериментальной группе ЭГ 1 в сравнении с контролем в 4
101 раза уменьшалась способность лимфоцитов продуцировать основной
102 провоспалительный цитокин TNF- α . Супрессирующий эффект наблюдался и
103 в отношении IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IFN- γ (на $83,9\pm 0,2$; $43,1\pm 0,3$; $73,7\pm 1,0$;
104 $48,0\pm 1,1$; $82,2\pm 0,7\%$ соответственно). Вместе с тем отмечалось угнетение
105 продукции основного противовоспалительного цитокина IL-10 на $64\pm 1,04\%$,
106 но при этом в сравнении с контролем увеличивался уровень IL-4, IL-5 на
107 $87,5\pm 0,2$ и $95,9\pm 0,2\%$ соответственно. После введения ККЭ в ЭГ 2 мы
108 наблюдали схожие результаты с ЭГ 1: супрессирующий эффект в отношении
109 провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IFN- γ на $80,8\pm 0,1$;
110 $63,3\pm 0,5$; $71,0\pm 1,1$; $40,7\pm 1,5$; $69,3\pm 1,4\%$ соответственно), активацию
111 продукции лимфоцитами IL-4 и IL-5 на $40,6\pm 0,9\%$ и $80,6\pm 0,3\%$ в сравнении с
112 контролем. Уровень IL-17 снижался в обеих ЭГ, причем в ЭГ 1 в 10 раз (на
113 $89,9\pm 0,8\%$), а в ЭГ 2 в 5 раз (на $80,8\pm 1,2\%$), что объясняется тем, что IL-17
114 располагается в слизистой оболочке кишечника, которую в большей степени
115 населяют Вb. Активация продукции противовоспалительных цитокинов в
116 обеих группах модулирует иммунный ответ в сторону Th2, что способствует
117 блокированию воспалительных эффектов.

118 3 Заключение

119 Морфологическую картину печени при развивающемся описторхозе можно
120 охарактеризовать как тенденцию к увеличению проявлений тканевой атипии.
121 В острой фазе гепатоциты печеночных долек, лежащие периферически, имеют
122 более выраженные изменения, по сравнению с центральными. Это
123 свидетельствует о нарушении функционального состояния печени.

124 Введение супернатантов *Bifidobacterium bifidum* и клеток куриного эмбриона
125 предупреждает проникновение *Opisthorchis felineus* в печень
126 экспериментальных животных. Супернатанты *Bifidobacterium bifidum* более
127 активно снижают количество провоспалительных цитокинов, чем
128 супернатанты клеток куриного эмбриона.

129 Активация продукции противовоспалительных цитокинов в обеих
130 экспериментальных группах модулирует иммунный ответ в сторону Th2, что

131 способствует блокированию воспалительных эффектов и, возможно,
132 предотвращению образования фиброзных изменений в печени при
133 описторхозной инвазии.
134 Таким образом, результаты проведенного пилотного исследования
135 применения супернатантов *Bifidobacterium bifidum* и клеток куриного
136 эмбриона дает основание считать состояние нормальной микробиоты
137 макроорганизма определяющим в предупреждении поражения гепатоцитов
138 при описторхозной инвазии и возможность рассматривать *Bifidobacterium*
139 *bifidum* для профилактики описторхозной инвазии.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Патоморфологическое изменение печени в изучаемых группах при заражении *Opisthorchis felineus*.

Figure 1. Pathomorphological changes in the liver in the studied groups during infection with *Opisthorchis felineus*.

Примечания: Гистологические срезы печени. Толщина 5мм. Исходное увеличение, x1000, масштабная линейка 10 мкм. А- контрольная группа; В- Экспериментальная группа 1; С - Экспериментальная группа 2. Взрослый червь (стрелка) в печени контрольной группы. При исследовании печени экспериментальных групп заражение не наблюдалось.

Notes: Histological sections of the liver. Thickness 5mm. Original magnification, x1000, scale bar 10 μ m. A - control group; B- Experimental group 1; C - Experimental group 2. Adult worm (arrow) in the liver of the control group. When examining the livers of the experimental groups, no contamination was observed.

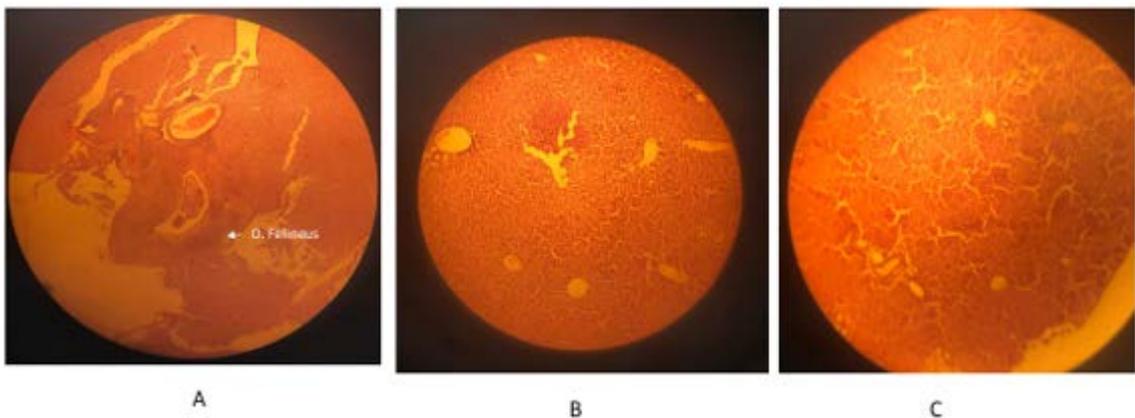
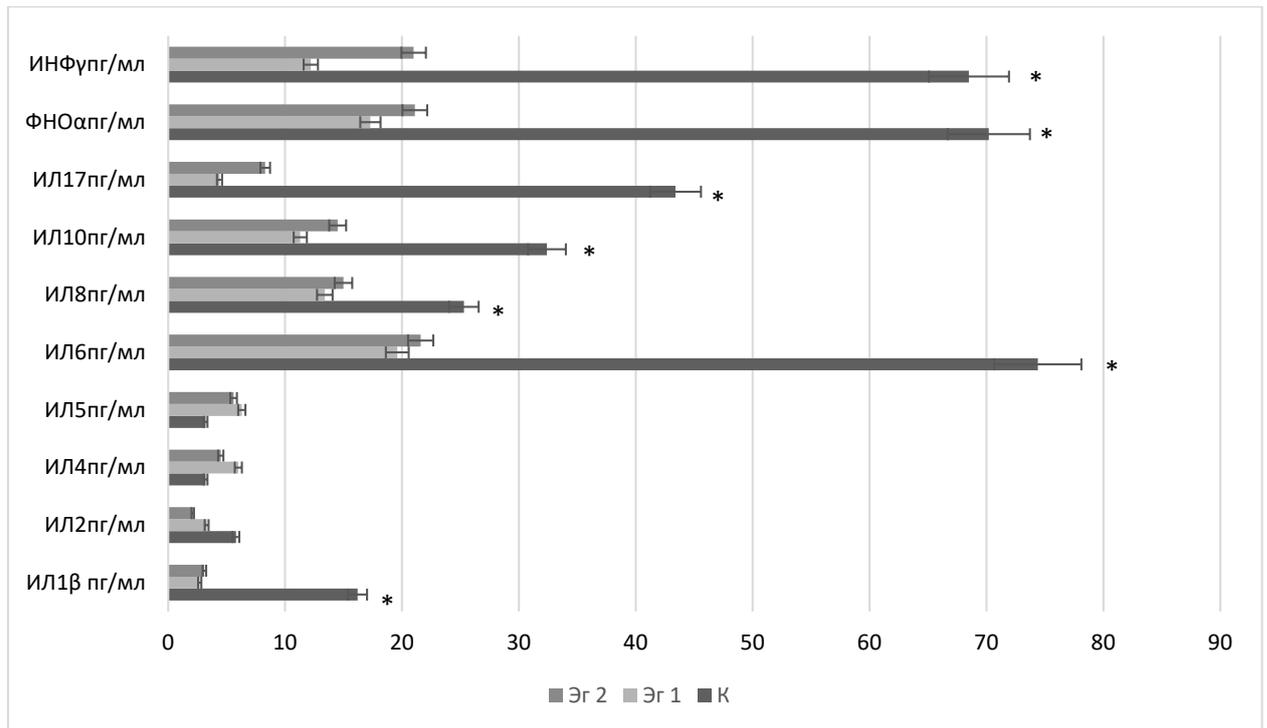


Рисунок 2. Профиль и уровень цитокинов в сыворотке крови животных.

Figure 2. Profile and level of cytokines in animal blood serum.



Примечания: Уровень и профиль цитокинов, изменялся в зависимости от вводимого супернатанта. Представлены результаты среднего значения из пяти независимых экспериментов, планки погрешности соответствуют стандартной ошибке среднего. Статистическая достоверность различий опытных групп с контрольными проверялась с использованием t критерия Стьюдента, *соответствуют $p < 0,05$, $n = 5$.

Notes: The level and profile of cytokines changed depending on the administered supernatant. Results are shown as the average of five independent experiments, with error bars representing the standard error of the mean. The statistical significance of the differences between the experimental groups and the control groups was tested using Student's t test, *corresponds to $p < 0.05$, $n = 5$.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Костоломова Елена Геннадьевна – к.б.н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия; научный сотрудник лаборатории геномики, протеомики и метаболомики Университетского НИИ медицинских биотехнологий и биомедицины ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

адрес: 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, д.54;

телефон: 8(345)220-00-61 / 8(904)493-06-74;

e-mail: lenakost@mail.ru

Kostolomova E. G. – PhD (Biology), associate professor of the Department Microbiology of FSBEIoHE “Tyumen State Medical University” of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia; Researcher of the University SRI of medical biotechnology and biomedicine of FSBEIoHE Tyumen SMU of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia;

address: 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, д.54;

telephone: 8(345)220-00-61 / 8(904)493-06-74;

e-mail: lenakost@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Лозовая П. Б. – студентка 415 группа. Институт клинической медицины. ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

e-mail: p.lozovaya@yandex.ru

Lozovaya P. B. – student of the 415 group. Institute of Clinical Medicine. FSBEIoHE Tyumen SMU of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia;

e-mail: p.lozovaya@yandex.ru

Полянских Е. Д. – студентка 536 группа. Институт материнства и детства. ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

e-mail: polyanskih.li@mail.ru

Polyanskih E. D. – student of the 436 group. Institute of Motherhood and Childhood. FSBEIoHE Tyumen SMU of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia;

e-mail: polyanskih.li@mail.ru

Тимохина Т. Х. – д.б.н., доцент, заведующий кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

Russian Journal of Immunology (Russia)

ISSN 1028-7221 (Print)

ISSN 2782-7291 (Online)

e-mail: tanklaeva52@mail.ru

Timokhina T. N. – MD (Biology), assistant professor, Head of the Department of Microbiology of FSBEIoHE “Tyumen State Medical University” of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia;

e-mail: tanklaeva52@mail.ru

Паромова Я. И. – к.б.н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

e-mail: paromova_ji@mail.ru

Paromova Y. I. – PhD (Biology), associate professor of the Department Microbiology of FSBEIoHE “Tyumen State Medical University” of Ministry of Health of Russian Federation, Tyumen, Russia;

e-mail: paromova_ji@mail.ru

Блок 3. Метаданные статьи

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
СУПЕРНАТАНТОВ *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* И КЛЕТОК КУРИНОГО
ЭМБРИОНА НА МОДЕЛИ ОПИСТОРХОЗНОЙ ИНВАЗИИ
STUDYING THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF
BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM SUPERNATANTS AND CHICKEN EMBRYO
CELLS ON A MODEL OF OPISTHOCHIC INVASION

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

V. BIFIDUM И ОПИСТОРХОЗНАЯ ИНВАЗИЯ

V. BIFIDUM AND OPITHORCHID INVASION

Ключевые слова: *Bifidobacterium bifidum*, клетки куриного эмбриона, *Opisthorchis felineus*, печень, цитокины.

Keywords: *Bifidobacterium bifidum*, chicken embryo cells, *Opisthorchis felineus*, liver, cytokines.

Объединенный иммунологический форум 2024.

Количество страниц текста – 4,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 2.

27.03.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Бибик О.И. Описторхоз – актуальная проблема здравоохранения (обзор и анализ проблемы). <i>Российский паразитологический журнал</i> . 2020;14(4):38-49.	Bibik O.I. Opisthorchosis is a topical health problem (problem overview and analysis). <i>Russian Journal of Parasitology</i> . 2020;14(4):38-49. (In Russ.)	https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-4-38-49
2	Костоломова Е.Г., Тимохина Т.Х., Перунова Н.Б., Полянских Е.Д., Сахаров Р.А., Комарова А.В. Оценка иммуномодулирующей активности <i>Bifidobacterium bifidum</i> 791 на модели клеток врожденного и адаптивного иммунитета в эксперименте <i>in vitro</i> // <i>Российский</i>	Kostolomova E.G., Timokhina T.K., Perunova N.B., Polyanskikh E.D., Sakharov R.A., Komarova A.V. <i>In vitro</i> evaluation of immunomodulatory activity of <i>Bifidobacterium bifidum</i> 791 in the cell model of innate and adaptive immunity // <i>Russian Journal of Immunology</i> . - 2022. - Vol. 25. - N. 2. - P. 213-218.	doi: 10.46235/1028-7221-1133-IVE

	иммунологический журнал. - 2022. - Т. 25. - №2. - С. 213-218.		
3	Хадиева Е.Д., Костоломова Е.Г., Полянских Е.Д., Коробейникова Д.А., Бычкова Е.М., Морозов Е.Н., Бычков В.Г. Цитокиновый профиль мононуклеарных клеток периферической крови, стимулированных антигеном <i>Opisthorchis felinus</i> в эксперименте <i>in vitro</i> // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2022; 2: 47-51.	Khadieva E.D., Kostolomova E.G., Polyanskikh E.D., Korobeynikova D.A., Bychkova E.M., Morozov E.N., Bychkov V.G. Cytokine profile of peripheral blood mononuclear cells stimulated with <i>Opisthorchis felinus</i> antigen in an <i>in vitro</i> experiment // Medical parasitology and parasitic diseases. 2022; 2: 47-51.	DOI: 10.33092/0025-8326mp2022.2.47-51 EDN: BJDXWA
4	Fedorova OS, Janse JJ, Ogorodova LM, Fedotova MM, Achterberg RA, Verweij JJ, Fernández-Rivas M, Versteeg SA, Potts J, Minelli C, van Ree R, Burney P, Yazdanbakhsh M. <i>Opisthorchis felinus</i> negatively associates with skin test reactivity in Russia-EuroPrevall-International	Fedorova OS, Janse JJ, Ogorodova LM, Fedotova MM, Achterberg RA, Verweij JJ, Fernández-Rivas M, Versteeg SA, Potts J, Minelli C, van Ree R, Burney P, Yazdanbakhsh M. <i>Opisthorchis felinus</i> negatively associates with skin test reactivity in Russia-EuroPrevall-International	DOI: 10.1111/все.13120

	Cooperation study. Allergy. 2017 Jul; 72(7):1096-1104.	Cooperation study. Allergy. 2017 Jul; 72(7):1096-1104.	
5	Fedorova OS, Fedotova MM, Sokolova TS, Golovach EA, Kovshirina YV, Ageeva TS, Kovshirina AE, Kobyakova OS, Ogorodova LM, Odermatt P. Opisthorchis felinus infection prevalence in Western Siberia: A review of Russian literature. Acta Trop. 2018 Feb; 178:196-204.	Fedorova OS, Fedotova MM, Sokolova TS, Golovach EA, Kovshirina YV, Ageeva TS, Kovshirina AE, Kobyakova OS, Ogorodova LM, Odermatt P. Opisthorchis felinus infection prevalence in Western Siberia: A review of Russian literature. Acta Trop. 2018 Feb; 178:196-204.	DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.11.018 .
6	Pakharukova MY, Lishai EA, Zaparina O, Baginskaya NV, Hong SJ, Sripa B, Mordvinov VA. Opisthorchis viverrini, Clonorchis sinensis and Opisthorchis felinus liver flukes affect mammalian host microbiome in a species-specific manner. PLoS Negl Trop Dis. 2023 Feb 13; 17(2):e0011111.	Pakharukova MY, Lishai EA, Zaparina O, Baginskaya NV, Hong SJ, Sripa B, Mordvinov VA. Opisthorchis viverrini, Clonorchis sinensis and Opisthorchis felinus liver flukes affect mammalian host microbiome in a species-specific manner. PLoS Negl Trop Dis. 2023 Feb 13; 17(2):e0011111.	DOI: 10.1371/journal.pntd.0011111 . PMCID: PMC9956601
7	RU 2481115 C1, 10.05.2013.	RU 2481115 C1, 10.05.2013.	EDN: ZGRGOD