

# ЭФФЕКТ СОВМЕСТНОГО ВЛИЯНИЯ МЕТОТРЕКСАТА И МЕТАБОЛИТОВ БИФИДОБАКТЕРИЙ НА ПРОДУКЦИЮ $TNF\alpha$ И $IFN\gamma$ МОНОНУКЛЕАРАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Иванова Е.В., Чайникова И.Н., Бекпергенова А.В., Бондаренко Т.А.,  
Челпаченко О.Е., Здвизжова И.А., Перунова Н.Б., Бухарин О.В.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН – обособленное структурное подразделение  
ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Резюме.** Метотрексат является препаратом первой линии для лечения ряда ревматических и неревматических заболеваний, включая онкопатологию, однако его терапевтическая эффективность ограничивается выраженной токсичностью в отношении многих органов (миело-, гепато-, нефротоксичность, мукозит, энтерит, дисбиоз различных биотопов человека и др.). В последнее время в ряде исследований установлено, что метаболиты бифидо- и лактобактерий способны усиливать терапевтический эффект химиотерапевтических препаратов и ограничивать их токсические свойства. Целью работы явилось исследование возможного потенцирующего эффекта бесклеточных супернатантов бифидобактерий при совместном с метотрексатом воздействии на секрецию провоспалительных цитокинов  $TNF\alpha$  и  $IFN\gamma$  мононуклеарными клетками периферической крови человека. Изучение иммунорегуляторного влияния метаболитов бифидобактерий, метотрексата и их совместной комбинации оценивали по способности изменять продукцию цитокинов  $TNF\alpha$  и  $IFN\gamma$  на модели мононуклеаров при сокультивировании в условиях *in vitro*. Анализ сочетанного влияния метаболитов бифидобактерий и цитостатика на продукцию цитокинов выявил их синергидный эффект в отношении двух ключевых провоспалительных цитокинов –  $TNF\alpha$  и  $IFN\gamma$ : усиление, по сравнению с контролем (пробы с метотрексатом без супернатантов бифидобактерий), ингибирования продукции раннего провоспалительного цитокина  $TNF\alpha$  и, напротив, усиление стимуляции секреции  $IFN\gamma$ , регулирующего клеточные эффекторы. Полученные результаты на примере исследуемых цитокинов свидетельствуют о наличии потенцирующего влияния метаболитов бифидобактерий на противовоспалительные и иммунорегуляторные свойства метотрексата. Таким образом, метаболиты бифидобак-

**Адрес для переписки:**

Иванова Елена Валерьевна  
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза  
Уральского отделения Российской академии наук  
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.  
Тел.: 8 (3532) 77-26-19.  
E-mail: walerewna13@gmail.com

**Address for correspondence:**

Elena V. Ivanova  
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis  
11 Pionerskaya St  
Orenburg  
460000 Russian Federation.  
Phone: +7 (3532) 77-26-19.  
E-mail: walerewna13@gmail.com

**Образец цитирования:**

Е.В. Иванова, И.Н. Чайникова, А.В. Бекпергенова,  
Т.А. Бондаренко, О.Е. Челпаченко, И.А. Здвизжова,  
Н.Б. Перунова, О.В. Бухарин «Эффект совместного  
влияния метотрексата и метаболитов  
бифидобактерий на продукцию  $TNF\alpha$  и  $IFN\gamma$   
мононуклеарами периферической крови человека»  
// Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26,  
№ 3. С. 281–286.  
doi: 10.46235/1028-7221-9839-CEO

© Иванова Е.В. и соавт., 2023  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

**For citation:**

E.V. Ivanova, I.N. Chainikova, A.V. Bekpergenova,  
T.A. Bondarenko, O.E. Chelpachenko, I.A. Zdvizhkova,  
N.B. Perunova, O.V. Bukharin “Combined effect of  
methotrexate and Bifidobacteria metabolites on  $TNF\alpha$  and  
 $IFN\gamma$  production by human peripheral blood mononuclears”,  
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 3, pp. 281–286.  
doi: 10.46235/1028-7221-9839-CEO

© Ivanova E.V. et al., 2023  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.46235/1028-7221-9839-CEO

терий могут рассматриваться в качестве перспективного средства, потенцирующего терапевтические свойства метотрексата посредством подавления секреции  $\text{TNF}\alpha$  и стимуляции  $\text{IFN}\gamma$  иммунокомпетентными клетками. Дальнейшее изучение сочетанного влияния метотрексата и метаболитов кишечной микробиоты на продукцию цитокинов различных функциональных групп эффекторными клетками целесообразно для разработки способов усиления терапевтического эффекта метотрексата и ограничения его токсических свойств метаболитами бифидобактерий.

*Ключевые слова:* бифидобактерии, бесклеточные супернатанты, метотрексат, цитокины, мононуклеары периферической крови человека

## COMBINED EFFECT OF METHOTREXATE AND BIFIDOBACTERIA METABOLITES ON $\text{TNF}\alpha$ AND $\text{IFN}\gamma$ PRODUCTION BY HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEARS

Ivanova E.V., Chainikova I.N., Bekpergenova A.V., Bondarenko T.A., Chelpachenko O.E., Zdvizhkova I.A., Perunova N.B., Bukharin O.V.

*Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation*

**Abstract.** Methotrexate (Mtx) is a first-line drug for the treatment of numerous rheumatic and non-rheumatic disorders, including oncological diseases. However, therapeutic efficacy of Mtx is limited by severe toxicity to many organs (myelo-, hepato-, nephrotoxicity, mucositis, enteritis, dysbiosis at various human biotopes, etc.). Recently, a number of studies showed that some metabolites of *Bifidobacteria* and *Lactobacilli* are able to enhance effect of chemotherapeutic drugs and limit their toxic properties. The aim of the present work was to study the possible potentiating action of *Bifidobacteria* cell-free supernatants and methotrexate upon secretion of pro-inflammatory  $\text{TNF}\alpha$  and  $\text{IFN}\gamma$  cytokines by human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). The immunoregulatory effects upon production of  $\text{TNF}\alpha$  and  $\text{IFN}\gamma$  was evaluated in the *in vitro* model of cultured PBMC supplemented with *Bifidobacteria* metabolites, methotrexate, or their combination. Analysis of the combined effect of *Bifidobacteria* metabolites and Mtx on the cytokine production revealed their synergism towards the key pro-inflammatory cytokines ( $\text{TNF}\alpha$  and  $\text{IFN}\gamma$ ). We found an increase against the control cultures (with Mtx only), inhibition of the early pro-inflammatory cytokine  $\text{TNF}\alpha$  production. On the contrary, we revealed an increased secretion of  $\text{IFN}\gamma$  which regulates the effector cells. The results obtained with these cytokines suggest the presence of a potentiating effect of *Bifidobacteria* metabolites upon anti-inflammatory and immunoregulatory properties of methotrexate. Thus, *Bifidobacteria* metabolites can be considered a promising agent which potentiates the therapeutic action of methotrexate by suppressing  $\text{TNF}\alpha$  secretion and stimulating  $\text{IFN}\gamma$  by immunocompetent cells. Further studies of the combined effects of Mtx and metabolites from the intestinal microbiota upon the cytokine production by effector cells could be recommended, aiming to enhance therapeutic effect of methotrexate and limit its toxic properties using the *Bifidobacteria* metabolites.

*Keywords:* *Bifidobacteria*, cell-free supernatants, methotrexate, cytokines, peripheral blood mononuclear cells, human

### Введение

Метотрексат является препаратом первой линии для лечения ряда ревматических и неревматических заболеваний, включая онкопатологию. Благодаря иммуносупрессивным свойствам, МТХ также используется для лечения аутоиммунных заболеваний [3, 15]. Противовоспалитель-

ная и иммуномодулирующая активность МТХ определяют его эффективность применения при воспалительных заболеваниях кишечника, рассеянном склерозе, системных заболеваниях [4]. Механизмы действия МТХ как противовоспалительного препарата с иммуномодулирующей активностью включают модуляцию аденозиновой сигнализации, изменение цитокиновых сетей,

генерацию активных форм кислорода, регуляцию экспрессии некоторых длинных некодирующих РНК [4], подавление медиатора воспаления алармина HMGB1, хемотаксиса и адгезии воспалительных клеток [3].

Широкое применение МТХ ограничивается его токсичностью. Одними из клинически значимых проявлений кишечных нарушений вследствие химиотерапии является мукозит, энтерит, в развитии которых нарушения микробиоты играют решающую роль. Изменение микробиоты кишечника человека под влиянием МТХ носит дозозависимый характер [10, 14]. Вместе с тем установлено, что изменения кишечной микробиоты или ее метаболитов могут непосредственно влиять на эффективность и токсичность терапевтических средств [1, 7]. Так, несмотря на выраженные противовоспалительные эффекты МТХ, существует высокая доля пациентов, которые не реагируют на МТХ или имеют серьезные побочные токсические эффекты. Предполагают, что эти межиндивидуальные различия частично связаны с микробиотой кишечника пациентов [14]. Поэтому некоторые характеристики кишечного микробиома предлагается рассматривать как предиктор клинического ответа на МТХ [12].

В последнее время в ряде исследований установлено, что метаболиты штаммов микробиоты способны усиливать терапевтический эффект химиотерапевтических препаратов, например, установлено усиление терапевтического эффекта химиотерапевтического препарата 5-фторурацила (5-FU) под влиянием супернатанта лактобактерий *Lactobacillus plantarum* [2].

Учитывая высокую эффективность, широкое применение и вместе с тем многочисленные побочные реакции МТХ, одним из подходов оптимизации лечения и снижения токсичности данного препарата может быть использование природных соединений, являющихся вторичными метаболитами нормобиоты человека с широким спектром биологической активности и способных потенцировать терапевтические эффекты метотрексата. **Целью работы** явилось исследование возможного потенцирующего эффекта бесклеточных супернатантов бифидобактерий при совместном с МТХ воздействии на секрецию провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  мононуклеарными клетками периферической крови человека.

## Материалы и методы

Объектами исследования служили штаммы *Bifidobacterium bifidum* (ICIS-310, ICIS-643, ICIS-202, ICIS-504, ICIS-629) и *Bifidobacterium longum* (ICIS-505, ICIS-206, ICIS-500, ICIS-627) из коллекции лаборатории инфекционной сим-

биологии ИКВС УрО РАН. Микробные метаболиты получали из бульонных культур бифидобактерий двукратным центрифугированием при 3200 об/мин с последующей фильтрацией (мембранные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм, Millipore, США).

Мононуклеарные лейкоциты выделяли из гепаринизированной крови здоровых доноров методом градиентного центрифугирования (400 g) в градиенте плотности фиколл-верографин (Pharmacia, Швеция) плотностью 1,077 г/см<sup>3</sup>. Продукция провоспалительных цитокинов IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  исследовалась в культуре мононуклеаров, сокультивируемых с метаболитами бифидобактерий с добавлением метотрексата (МТХ, «Сандоз», Словения; лекарственная форма – раствор для инъекций) (опыт 1) в концентрации 5 мкг/мл и без МТХ (опыт 2). В качестве контроля были использованы пробы, где к периферическим мононуклеарам добавлялся только МТХ (контроль 1) или культуральная среда (контроль 2). После 24-часовой инкубации клеток ( $2 \times 10^6$ ) при 37 °C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в полной культуральной среде RPMI-1640 с добавлением 10% инактивированной фетальной сыворотки (Sigma, США) и 80 мкг/мл гентамицина. Исследования проводили в 9 дублях для каждого штамма и каждого вида цитокинов. Уровень спонтанной продукции цитокинов после сокультивирования мононуклеаров с метаболитами бактерий исследовали ИФА («Цитокин», Санкт-Петербург). Регистрация результатов проводилась на фотометре Multiskan (Labsystems, Финляндия), длина волны 492 нм.

Статистическую обработку полученных данных проводили средствами пакета Statistica 10 (StatSoft, США) с оценкой различий между величинами по критерию Манна–Уитни ( $p < 0,05$ ).

## Результаты и обсуждение

Анализ влияния метаболитов бифидобактерий на модели мононуклеаров периферической крови человека показал, что метаболиты и *B. bifidum*, и *B. longum* подавляли продукцию ключевого провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  в 3-5 раз относительно контроля лимфоцитов ( $350,0 \pm 15,0$  пг/мл), ( $p \leq 0,05$ ). Добавление к периферическим мононуклеарам цитостатика МТХ без метаболитов бактерий сопровождалось снижением продукции TNF $\alpha$  в 3,5 раза в сравнении с контролем ( $p \leq 0,05$ ). Сочетанное влияние метаболитов бифидобактерий и МТХ также характеризовалось ингибирующим эффектом ( $68,2-84,7$  пг/мл) в отношении провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  ( $p \leq 0,05$ ). Метаболиты штаммов *B. longum* обладали более выраженным потенцирующим действием в отношении влияния на секрецию данного цитокина ( $p \leq 0,05$ ). Концентра-

ция TNF $\alpha$  в среде культивирования снижалась до  $60,0 \pm 1,5$  пг/мл в присутствии MTX и метаболитов штамма *B. longum* ICIS-505 и до  $70,1 \pm 2,1$  пг/мл – MTX и метаболитов штамма *B. longum* ICIS-206 ( $p \leq 0,05$ ).

Вместе с тем содержание другого провоспалительного цитокина IFN $\gamma$  увеличивалось при добавлении к мононуклеарным лейкоцитам как метаболитов бифидобактерий (в 2-3,5 раза в сравнении с контролем лимфоцитов –  $30,4 \pm 2,3$  пг/мл) ( $p \leq 0,05$ ), так и цитостатика MTX (в 2,3 раза относительно контроля) ( $p \leq 0,05$ ). Причем выраженность стимулирующего эффекта возрастала при сочетанном влиянии MTX и метаболитов бифидобактерий (в среднем до  $85,4 \pm 3,6$  пг/мл) ( $p \leq 0,05$ ). Метаболиты штамма *B. longum* ICIS-206 в присутствии MTX стимулировали секрецию IFN $\gamma$  только до  $55,0 \pm 3,8$  пг/мл ( $p \leq 0,05$ ), а штаммов *B. longum* ICIS-500 и *B. bifidum* ICIS-643 – до  $114,0 \pm 4,3$  пг/мл и  $107,6 \pm 6,1$  пг/мл, соответственно ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, было установлено разнонаправленное влияние метаболитов бифидобактерий и MTX, а также их сочетаний на продукцию двух ключевых провоспалительных цитокинов мононуклеарными лейкоцитами периферической крови человека – TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ . Показано потенцирующее влияние метаболитов бифидобактерий на ингибирующий эффект цитостатика MTX в отношении продукции лимфоцитами флогенного фактора TNF $\alpha$ . Наиболее выраженным эффектом обладали метаболиты штаммов *B. longum* ICIS-505 и *B. longum* ICIS-206. Вместе с тем, метаболиты бифидобактерий потенцировали стимулирующее влияние MTX в отношении секреции медиатора клеточного иммунного ответа – IFN $\gamma$ .

Оценивая полученные в настоящей работе результаты об усилении бесклеточными супернатантами *B. bifidum* и *B. longum* эффекта воздействия метотрексата на продукцию провоспалительных цитокинов, можно предположить, что выявленный потенцирующий эффект обеспечивается наличием в культуральных супернатантах бифидобактерий определенного спектра биологически активных молекул (метаболитов), таких как короткоцепочечные жирные кислоты (SCFAs), представленные ацетатом, пропионатом и бутиратом [7]. Различные таксоны микроорганизмов ответственны за синтез SCFAs. Для *Bifidobacterium* spp. специфичными метаболитами являются ацетат, пропионат, лактат и в меньшей степени бутират. После попадания в эпителиальные клетки кишечника SCFAs выполняют регуляторную роль, взаимодействуя со специфическими рецепторами, связанными с

G-белком (GPCR) и/или гистондеацетилазами (HDACs) [6].

В настоящее время метаболитам бифидобактерий отводится важная роль в усилении терапевтического эффекта ряда химиотерапевтических препаратов. Благодаря способности бифидобактерий и их метаболитов к биотрансформации противоопухолевых препаратов [13], образуются соединения с усиленной цитотоксичностью в отношении раковых клеток [9]. Протективный эффект бифидо- и лактобактерий и их метаболитов проявляется в антиоксидантных и антипролиферативных эффектах через ингибирование NF- $\kappa$ B, участвующего в пролиферации клеток и играющего критическую роль в воспалительном процессе [5], в регуляции генов с про- и антиапоптотической активностью [8]. Наряду с бифидобактериями, усиливать действие MTX могут и *Bacteroides fragilis*. В работе Zhou B. и соавт. (2022) на мышинной модели коллаген-индуцированного артрита показано, что MTX не оказывает терапевтического эффекта при отсутствии в кишечнике *Bacteroides fragilis* [15]. Введение *B. fragilis* восстанавливало эффективность MTX и сопровождалось увеличением уровня бутирата.

## Заключение

Поиск перспективных природных компонентов, направленных на уменьшение токсичности и побочных эффектов химиотерапевтических препаратов, в частности метотрексата, представляет собой будущее направление в терапии различных воспалительных, аутоиммунных и лимфолиферативных заболеваний. Современные терапевтические стратегии, использующие кишечную микробиоту и ее метаболиты в сочетании с химиотерапией и иммунотерапией, могут предоставить новые возможности для кишечной микробиоты и ее метаболитов стать адьювантами для специфической терапии пролиферативных заболеваний [11]. Результаты настоящего исследования дают основание для дальнейшей разработки направления, позволяющего рассматривать метаболиты бифидобактерий в качестве перспективного средства, потенцирующего терапевтические свойства метотрексата посредством подавления секреции TNF $\alpha$  и стимуляции IFN $\gamma$  иммунокомпетентными клетками. Дальнейшее изучение сочетанного влияния цитостатиков, в частности метотрексата, и метаболитов кишечной микробиоты целесообразно для разработки способов усиления терапевтического эффекта метотрексата и ограничения его токсических свойств метаболитами бифидобактерий.

## Список литературы / References

1. Alexander J.L., Wilson I.D., Teare J., Marchesi J.R., Nicholson J.K., Kinross J.M. Gut microbiota modulation of chemotherapy efficacy and toxicity. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2017, Vol. 14, no. 6, pp. 356-365.
2. An J., Ha E.M. Combination therapy of *Lactobacillus plantarum* supernatant and 5-fluorouracil increases chemosensitivity in colorectal cancer cells. *J. Microbiol Biotechnol.*, 2016, Vol. 26, no. 8, pp. 1490-14503.
3. Bedoui Y., Guillot X., Sélambarom J., Guiraud P., Giry C., Jaffar-Bandjee M.C., Ralandison S., Gasque P. Methotrexate an old drug with new tricks. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 20, 5023. doi: 10.3390/ijms20205023.
4. Cronstein B.N., Aune T.M. Methotrexate and its mechanisms of action in inflammatory arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2020, Vol. 16, no. 3, pp. 145-154.
5. Faghfoori Z., Faghfoori M.H., Saber A., Izadi A., Yari Khosroushahi A. Anticancer effects of bifidobacteria on colon cancer cell lines. *Cancer Cell. Int.*, 2021, Vol. 21, no. 1, 258. doi: 10.1186/s12935-021-01971-3.
6. Husted A.S., Trauelsen M., Rudenko O., Hjorth S.A., Schwartz T.W. GPCR-mediated signaling of metabolites. *Cell Metab.*, 2017, Vol. 25, no. 4, pp. 777-796.
7. Koh A., de Vadder F., Kovatcheva-Datchary P., Bäckhed F. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, 2016, Vol. 165, no. 6, pp. 1332-1345.
8. Nowak A., Paliwoda A., Błasiak J. Anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-oxidative activity of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains: A review of mechanisms and therapeutic perspectives. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2019, Vol. 59, no. 21, pp. 3456-3467.
9. Oliveira Silva E., Cruz de Carvalho T., Parshikov I.A., Alves dos Santos R., Silva Emery F., Jacometti Cardoso Furtado N.A. Cytotoxicity of lapachol metabolites produced by probiotics. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2014, Vol. 59, no. 1, pp. 108-114.
10. Renuka R., Nayak M.A., Ishani D., Kye Stapleton-Gray, Bipin R., Patterson A.D., Ubeda C., Scher J.U., Turnbaugh P.J. Methotrexate impacts conserved pathways in diverse human gut bacteria leading to decreased host immune activation. *Cell Host Microbe*, 2021, Vol. 29, no. 3, pp. 362-377.e11.
11. Said S.S., Ibrahim W.N. Cancer resistance to immunotherapy: comprehensive insights with future perspectives. *Pharmaceutics*, 2023, Vol. 15, no. 4, 1143. doi: 10.3390/pharmaceutics15041143.
12. Scher J.U., Nayak R.R., Ubeda C., Turnbaugh P.J., Abramson S.B. Pharmacomicrobiomics in inflammatory arthritis: gut microbiome as modulator of therapeutic response. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2020, Vol. 16, no. 5, pp. 282-292.
13. Wei H., Chen L., Lian G., Yang J., Li F., Zou Y., Lu F., Yin Y. Antitumor mechanisms of bifidobacteria. *Oncol. Lett.*, 2018, Vol. 16, no. 1, pp. 3-8.
14. Yan H., Su R., Xue H., Gao C., Li X., Wang C. Pharmacomicrobiology of methotrexate in rheumatoid arthritis: gut microbiome as predictor of therapeutic response. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 789334. doi: 10.3389/fimmu.2021.789334.
15. Zhou B., Dong C., Zhao B., Lin K., Tian Y., Zhang R., Zhu L., Xu H., Yang L. *Bacteroides fragilis* participates in the therapeutic effect of methotrexate on arthritis through metabolite regulation. *Front. Microbiol.*, 2022, Vol. 13, 1015130. doi: 10.3389/fmicb.2022.1015130.

---

### Авторы:

**Иванова Е.В.** — д.м.н., доцент, заведующая лабораторией инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Чайникова И.Н.** — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Бекперженова А.В.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

### Authors:

**Ivanova E.V.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

**Chaynikova I.N.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

**Bekpergenova A.V.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

**Бондаренко Т.А.** — научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Челпаченко О.Е.** — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Здвижкова И.А.** — научный сотрудник лаборатории инфекционной симбиологии, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Перунова Н.Б.** — д.м.н., профессор РАН, заместитель директора по научной работе, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Бухарин О.В.** — д.м.н., академик РАН, научный руководитель, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Оренбург, Россия

**Bondarenko T.A.**, Research Associate, Laboratory of Infectious symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

**Chelpachenko O.E.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

**Zdvizhkova I.A.**, Research Associate, Laboratory of Infectious Symbiology, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

**Perunova N.B.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Research, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

**Bukharin O.V.**, PhD, MD (Medicine), Full Member, Russian Academy of Sciences, Scientific Director, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

---

Поступила 15.05.2023  
Принята к печати 29.06.2023

Received 15.05.2023  
Accepted 29.06.2023