

3  
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

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

# БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

*Lycaena thersamon* (Esper, 1784)  
Червонец блестящий  
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ  
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2019

УДК 579.61:547.964:571.27

*И.Н. Чайникова*<sup>1,2</sup>, *Т.А. Бондаренко*<sup>1</sup>, *Е.В. Иванова*<sup>1,2</sup>, *Н.Б. Перунова*<sup>1</sup>,  
*А.В. Бекпергенова*<sup>1</sup>

**ВЛИЯНИЕ СУПЕРНАТАНТОВ КИШЕЧНЫХ МИКРОСИМБИОНТОВ  
НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ  
В УСЛОВИЯХ *IN VITRO***

<sup>1</sup> Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), Оренбург, Россия

<sup>2</sup> Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

*Цель.* Изучить влияние супернатантов кишечных микросимбионтов по продукцию цитокинов лимфоцитами периферической крови человека и перитонеальными макрофагами мышей.

*Материалы и методы.* В работе использовали супернатанты 160 штаммов, изолированных из фекалий 95 пациентов при обследовании на дисбиоз (II-III степень). Продукция цитокинов TNF $\alpha$  и IL-10 под влиянием микробных супернатантов оценивалась на лимфоцитах периферической крови человека и перитонеальных макрофагах мышей. Уровень цитокинов определяли методом ИФА.

*Результаты.* Среди штаммов бифидо- и лактобактерий преобладали культуры, не индуцирующие или ингибирующие продукцию лимфоцитами и макрофагами провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  и стимулирующие/не влияющие на секрецию IL-10. Влияние супернатантов условно-патогенных бактерий на продукцию цитокинов было разнообразным и видоспецифичным.

*Заключение.* Охарактеризованы иммунорегуляторные свойства супернатантов различных представителей микробиоты толстого кишечника человека на модели двух типов иммунокомпетентных клеток, участвующих в реализации врожденного и адаптивного иммунитета. Полученные данные могут быть использованы для оценки потенциальной роли кишечных микросимбионтов в развитии воспаления внекишечной локализации.

*Ключевые слова:* цитокины, макрофаги, лимфоциты, иммунный гомеостаз кишечника, кишечные микросимбионты.

---

---

*I.N. Chaynikova*<sup>1,2</sup>, *T.A. Bondarenko*<sup>1</sup>, *E.V. Ivanova*<sup>1,2</sup>, *N.B. Perunova*<sup>1</sup>,  
*A.V. Bekpergenova*<sup>1</sup>

**INFLUENCE OF INTESTINAL MICROSymbionTS SUPERNATANTS ON THE  
PRODUCTION OF CYTOKINES BY IMMUNOCOMPETENT CELLS IN VITRO**

<sup>1</sup> Orenburg Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences), Orenburg, Russia

<sup>2</sup> Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

*Objective.* To study the effect of supernatants of intestinal microsymbiotics on the production of cytokines by human peripheral blood lymphocytes and mouse peritoneal macrophages.

*Materials and methods.* The study used supernatants of 160 strains isolated from the feces of 95 patients during examination for dysbiosis (II-III degree). The production of TNF $\alpha$  and IL-10 cytokines under the influence of microbial supernatants was evaluated on human peripheral blood lymphocytes and mouse peritoneal macrophages. The level of cytokines was determined by ELISA.

*Results.* Among the strains of bifidobacteria and lactobacilli under conditions of the large intestine dysbiosis 2-3 degrees, cultures prevailing that do not induce or inhibit the production of proinflammatory cytokine TNF $\alpha$  by lymphocytes and macrophages and stimulate / do not affect the secretion of IL-10. The influence of supernatants of opportunistic bacteria on the production of cytokines was diverse and species-specific.

*Conclusion.* The immunoregulatory properties of supernatants of various representatives of the microbiota of the human large intestine are characterized on the model of two types of immunocompetent cells involved in the implementation of innate and adaptive immunity. The data obtained can be used to assess the potential role of intestinal microsymbionts in the development of inflammation of extraintestinal localization.

*Key words:* cytokines, macrophages, lymphocytes, immune intestinal homeostasis, intestinal microsymbionts.

## **Введение**

В последние годы получены данные, позволившие сформировать новое представление о роли нормальной микробиоты человека, механизмах ее контроля и создания условий для совместного сосуществования. К 2009 г. закончено полное секвенирование генома нормальной микробиоты человека (Human microbiome project) с описанием ее состава [1]. По современным представлениям организм человека является гигантской «химерой», состоящей на 90% из клеток симбионтных микроорганизмов и лишь на 10% из человеческих клеток.

Взаимоотношения иммунной системы человека с комменсалами отличаются от взаимоотношений с патогенами и представляют собой физиологическую норму, не сопровождающуюся развитием воспаления. В 2002 г. В.Б. Климовичем предложен термин «акцептивный иммунитет» для обозначения взаимодействия иммунной системы с нормальной микробиотой и высказано предположение о том, что он представляет собой отдельную функцию иммунитета – акцептивную, обеспечивающую возможность проживания большого количества видов симбионтных бактерий на слизистых [2]. Эти положения легли в основу концепции акцептивного иммунитета. При акцептивном иммунитете ответ развивается не против какого-либо одного микроорганизма, а в отношении многих видов различных комменсалов одновременно. Основные гомеостатические механизмы, обеспечивающие симбиотические взаимоотношения комменсалов и иммунной системы, реализуются в слизистой кишечника на уровне эпителия, а также на уровне клеток врожденного и адаптивного иммунитета. Задачей этих взаимоотношений является создание оптимального паракринного микроокружения для индукции и созревания

ключевых клеток, обеспечивающих состояние толерантности к нормальной микрофлоре, толерогенных дендритных клеток и Т-регуляторных лимфоцитов при участии комменсалов, выполняющих роль триггерного фактора [3].

Показано, что взаимодействие кишечной микробиоты с хозяином играет роль не только при желудочно-кишечных заболеваниях, но и патологии внекишечной локализации [2, 4]. При изменении состава микробиоты и ее свойств (проявление вирулентных признаков, изменение профиля цитокинов клеток хозяина в ответ на взаимодействие с комменсалами или их метаболитами) возможен срыв толерантности к микробиоте, развитие воспаления в кишечнике, повышение проницаемости эпителиального барьера, формирование Т-реактивных клонов против антигенов комменсалов, транслокация антигенов комменсалов и реактивных клонов в другие органы и ткани с последующим развитием внекишечной патологии.

Цель данной работы – изучить особенности продукции цитокинов лимфоцитами и перитонеальными макрофагами под влиянием супернатантов кишечных микросимбионтов человека.

#### **Материалы и методы**

Исследуемые штаммы микроорганизмов выделены от 95 пациентов в возрасте 18-60 лет с дисбиозом кишечника II-III степени. Всего в работе было изолировано 160 штаммов облигатно-анаэробных микроорганизмов и факультативно-анаэробных бактерий: *Bifidobacterium spp.* (n=20), *Lactobacillus spp.* (n=20), и по 15 штаммов *Propionibacterium spp.*, *Bactericides spp.*, *Clostridium spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* Выделение и идентификацию исследуемых микроорганизмов проводили по белковому профилю с использованием масс-спектрометра MALDI TOF MS серии Microflex LT с программным обеспечением Maldi Bio Typer 3,0 («Bruker Daltonics», Германия). Для получения культуральных бесклеточных супернатантов (фильтратов) штаммы микроорганизмов культивировали в бульоне Shaedler (BBL, USA) при 37°C в течение 24-48 часов; суточную бульонную культуру двукратно центрифугировали при 3000 об/мин и из надосадка готовили фильтрат (мембранные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм, «Millipore», USA).

Результат влияния супернатантов исследуемых культур на нестимулированные мононуклеары оценивали по изменению концентрации цитокинов в культуральной среде. Мононуклеарные лейкоциты выделяли в стерильных

условиях из гепаринизированной крови здоровых доноров методом градиентного центрифугирования (400g) в градиенте плотности фикоЛ-верографин («Pharmacia», Швеция) плотностью 1,077 г/см<sup>3</sup>. Продукцию цитокинов изучали в культуре мононуклеаров, сокультивируемой с супернатантами микросимбионтов (опыт) и без добавления супернатантов (контроль) после 24-часовой инкубации клеток (2x10<sup>6</sup>) при 37<sup>0</sup>С в атмосфере 5% СО<sup>2</sup> в полной культуральной среде RPMI-1640 с добавлением 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки («Sigma-Aldrich», США) и 80 мкг/мл гентамицина. Через сутки отбирали супернатанты и замораживали (-20<sup>0</sup>С) для дальнейшего определения в них уровня цитокинов. Определение концентрации цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-10) в опытных и контрольных пробах проводили ИФА с использованием реагентов «Цитокин» (СПб, Россия), учет результатов регистрировался на фотометре Multiskan Labsystems (Финляндия) при длине волны 492 нм. Количественные значения продукции цитокинов оценивались по изменению содержания цитокинов в опытных пробах по сравнению с контрольными и выражались в пг/мл.

Донорами перитонеальных макрофагов (ПМ) служили 16 интактных мышей (СВАхС<sub>57</sub>В1<sub>6</sub>)F<sub>1</sub>. Перед забором ПМ животным после эвтаназии в брюшную полость вводили 7,0 мл холодной среды 199 с 10% фетальной сыворотки и гепарина (10 ед/мл). Спустя 2 мин через разрез в паховой области извлекали клетки перитонеальной экссудата и переносили в охлажденные стерильные силиконированные пробирки. После отмывки (1000 об/мин; 5 мин) клетки взвешивали в теплой полной культуральной среде: бесцветный раствор Хенкса с 10% фетальной сыворотки, с добавлением Нерес (15 мМ), 0,01% L-глутамин и гентамицин (100 мкг/мл). Концентрацию клеток доводили до 1x10<sup>6</sup>/мл, полученную суспензию разносили в лунки планшета (0,25 мл) и инкубировали 2 часа при 37<sup>0</sup>С. Неприлипающую фракцию клеток удаляли двукратной отмывкой теплой полной культуральной средой. К полученным таким образом ПМ добавляли супернатанты микроорганизмов и культивировали в течение 24 часов в СО<sub>2</sub> инкубаторе (опыт). Контролем служили ПМ безмикробных супернатантов с добавлением бульона. Исследования каждой микробной культуры дублировали. Уровень цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-10) оценивали путем определения их содержания в супернатантах культур ПМ методом ИФА (тест-системы «Bender MedSystems», Австрия).

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью

программы Statistica 6.0. Для оценки различий (p) использовали критерий (t) Стьюдента, различия считали значимыми (достоверными) при  $p < 0,05$ .

### **Результаты и обсуждение**

Установлено, что среди культур *Bifidobacterium spp.* преобладали штаммы, супернатанты которых в условиях *in vitro* в отношении продукции моноклеарами периферической крови человека раннего провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  проявляли ингибирующий эффект (95% штаммов), оставшиеся культуры оказывали стимулирующее воздействие. В отношении ПМ 90% супернатантов культур *Bifidobacterium spp.* не оказывали существенного влияния на секрецию данного цитокина, а 10% изолятов стимулировали его продукцию. Сходная картина по спектру разнообразия влияния на продукцию TNF $\alpha$  моноклеарными лейкоцитами наблюдалась и для супернатантов клинических штаммов *Lactobacillus spp.*

Супернатанты исследуемых условно-патогенных кишечных микросимбионтов существенно не различались по влиянию на продукцию TNF $\alpha$  моноклеарными клетками периферической крови человека и оказывали примерно в равной степени как ингибирующий, так и стимулирующий эффект. Вместе с тем на модели ПМ выявлялся индуцирующий эффект на продукцию TNF $\alpha$  среди исследуемых супернатантов *S. aureus* (40%) и *Pseudomonas spp.* (26,6%), остальные культуры условно-патогенных бактерий не влияли на продукцию данного цитокина ПМ.

При анализе изменений содержания цитокинов в среде культивирования на модели моноклеаров периферической крови человека установлено, что в контроле значения TNF $\alpha$  составляли  $37,1 \pm 2,2$  пг/мл. Диапазон колебаний уровня TNF $\alpha$  в опытных пробах составил для: *Bifidobacterium spp.* 11,9-92,8 пг/мл; *Lactobacillus spp.* 20,3-136,5 пг/мл; *Bactericides spp.* 19,1-132,0 пг/мл; *Clostridium spp.* 11,9-245,2 пг/мл; *Pseudomonas spp.* 50,6-137,9 пг/мл; *Klebsiella spp.* 15,09 -329,4 пг/мл; *Propionibacterium spp.* 21,86-386,2 пг/мл; *S. aureus* 31,8-293,5 пг/мл; *Enterococcus spp.* 12,7-219,1 пг/мл.

При анализе изменений содержания цитокинов в среде культивирования на модели мышинных ПМ установлено, что в контроле значения TNF $\alpha$  составляли  $6,1 \pm 0,2$  пг/мл. Диапазон колебаний уровня TNF $\alpha$  в опытных пробах составил для: *Pseudomonas spp.* 8,2-24,5 пг/мл; *Staphylococcus aureus* 9,5-30,2 пг/мл; *Bifidobacterium spp.* 6,4-19,5 пг/мл и *Lactobacillus spp.* 7,5-16,2 пг/мл.

В отношении противовоспалительного цитокина IL-10 у *Bifidobacterium*

*spp.*, по сравнению с эффектами воздействия на продукцию провоспалительного цитокина TNF $\alpha$ , увеличивалась доля культур, индуцирующих секрецию IL-10 мононуклеарными клетками периферической крови (30%), а у 10% изолятов отмечалось стимулирующее действие и на ПМ. Супернатанты *Lactobacillus spp.* в 80% оказывали ингибирующий эффект на секрецию IL-10 в равной степени на моделях мононуклеаров человека и перитонеальных макрофагов мышей. Стимулирующий эффект на секрецию провоспалительного цитокина мононуклеарными клетками периферической крови человека выявлялся у 13,3% культур *E. coli* и *Klebsiella spp.* Обращает внимание тот факт, что до 80,0% клинических культур *Pseudomonas spp.* и 13,3% штаммов *Clostridium spp.* обладали индуцирующим эффектом на продукцию IL-10 перитонеальными макрофагами мышей.

При анализе изменений содержания цитокинов в среде культивирования на модели мононуклеаров периферической крови человека было установлено, что в контроле значения IL-10 составляли 49,7 $\pm$ 5,6 пг/мл. Диапазон колебаний уровня цитокинов в опытных пробах составил для: *Bifidobacterium spp.* 10,32-165,8 пг/мл; *Lactobacillus spp.* 11,3-141,1 пг/м; *Bactericides spp.* 8,3-34,9 пг/мл; *Clostridium spp.* 9,82-115,9 пг/м; *Klebsiella spp.* 13,6-61,5 пг/мл; *Escherichia coli* 6,5-213,6 пг/мл; *Enterococcus spp.* 11,7-55,7 пг/м и *S. aureus* 10,2-125,9 пг/мл.

При анализе изменений содержания цитокинов в среде культивирования на модели мышинных ПМ выявлено, что в контроле значения IL-10 составляли 14,7 $\pm$ 4,6 пг/мл. Диапазон колебаний уровня IL-10 в опыте составил для: *Bifidobacterium spp.* 14,1-25,4 пг/мл; *Lactobacillus spp.* 14,3-20,3 пг/мл; *Clostridium spp.* 16,8-22,8 пг/м; *E. coli* 13,0-19,2 пг/мл; *Pseudomonas spp.* 14,3-38,4 пг/мл.

Таким образом, среди штаммов бифидо- и лактобактерий в условиях выраженных микрoэкологических нарушений толстого кишечника (дисбиоз II-III степени) преобладали культуры, не индуцирующие продукцию раннего провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  или ингибирующие его синтез. Указанная направленность воздействия супернатантов на секрецию данного цитокина проявлялась не только в отношении лимфоцитов (мононуклеары периферической крови человека на 80-90% представлены лимфоцитарными клетками), но и для перитонеальных макрофагов. Иначе говоря, бифидо- и лактобактерии в условиях нарушенного микробного баланса, структуры и функции

микросимбионтов, присущих выраженному дисбиозу, характеризовались низкой способностью к индукции TNF $\alpha$  – цитокина из группы ранних провоспалительных плейотропных цитокинов с многофункциональным действием [6].

Способность бифидо- и лактобактерий ограничивать воспаление посредством иммунорегуляции реализовывалась не только через популяцию лимфоцитов, но и макрофагов. Как известно, в зависимости от внешних стимулов макрофаги проявляют высокую пластичность, изменяя свой фенотип и транскрипционную программу [7]. Считается, что значительные изменения функционального состояния макрофагов происходят при воспалении под воздействием цитокинов, гормонов и микроорганизмов, вызывая классическую (M1) или альтернативную активацию (M2) [8, 9]. Макрофаги M1 характеризуются продукцией провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-6), активирующих Th1 ответ, выполняя фагоцитарную, антигенпрезентирующую и цитокинпродуцирующую функцию на ранних этапах воспаления. Поляризация макрофагов в M2 фенотип сопровождается высокой способностью к фагоцитозу апоптотических клеток, продукцией противовоспалительных цитокинов. Тяжелая степень дисбиоза характеризуется развитием субклинического воспалительного процесса в кишечнике с вовлечением различных популяций лимфоцитов и макрофагальных клеток [10, 11]. В нашей работе установлено, что макрофаги, культивируемые с супернатантами бифидо- (90%) и лактобактерий (80%), не отвечали секрецией TNF $\alpha$ , но усиливали продукцию IL-10 под влиянием супернатантов 10% культур бифидобактерий. Тем самым, определенная доля доминантных микросимбионтов обладала потенциальной возможностью лимитирующего влияния на развитие воспаления при кишечном дисбиозе через отсутствие влияния на продукцию TNF $\alpha$  и, напротив, индукцию IL-10. Хотя по нашим данным доля подобных штаммов не так велика, тем не менее, это может играть значимую роль, поскольку кишечник содержит самый большой пул макрофагов в организме, которые необходимы для поддержания гомеостаза слизистой оболочки при контакте с микробиотой в условиях постоянной потребности в обновлении эпителия [11]. Являясь важным компонентом протективного иммунитета, макрофаги участвуют в контроле воспалительных процессов в кишечнике [12], поэтому цитокиновое микроокружение, создаваемое наряду с другими факторами микросимбионтами и их метаболитами, может существенно влиять на функцию и поляризацию макрофагов.



Цитокиновый баланс под влиянием супернатантов условно-патогенных кишечных микросимбионтов, выделенных при дисбиозе, формировался за счет равномерного распределения штаммов с различным эффектом влияния на секрецию лимфоцитами провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  (ингибирующий/индифферентный) и преобладанием ингибирующего эффекта в отношении противовоспалительного цитокина IL-10 (за исключением отдельных штаммов кишечной палочки и клебсиелл, усиливающих его секрецию).

Обращает внимание отсутствие ответа макрофагов на супернатанты условно-патогенных культур в отношении TNF $\alpha$  за исключением изолятов золотистого стафилококка и псевдомонад, проявляющих индуцирующий эффект. Вместе с тем более разнообразное влияние они оказывали на макрофаги в отношении IL-10, участвующего в поляризации макрофагов по M2 типу. Следует отметить, что эффект воздействия микробных супернатантов во многом может быть связан с различиями в их составе. Известно, что при культивировании микроорганизмы секретируют в жидкую питательную среду широкий набор макромолекул, включая белки, ферменты, молекулы ДНК, сложные углеводы и такие важнейшие иммунорегуляторные молекулы как летучие жирные кислоты. Поэтому дальнейшее изучение иммунорегуляторных свойств кишечных микросимбионтов невозможно без учета воздействия отдельных компонентов или комбинаций микробных метаболитов на иммунные эффекторные клетки, контролирующие и регулирующие состояние адаптивного иммунитета, обеспечивая кишечный гомеостаз и предотвращая развитие внекишечной воспалительной патологии.

### **Заключение**

Таким образом, проведенные исследования позволили охарактеризовать иммунорегуляторные свойства (по влиянию на продукцию раннего провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  и противовоспалительного цитокина IL-10) супернатантов различных представителей микробиоты толстого кишечника человека на модели двух типов иммунокомпетентных клеток, участвующих в реализации врожденного и адаптивного иммунитета – макрофагов (перитонеальные макрофаги мышей) и лимфоцитов (основная популяция мононуклеарных клеток периферической крови человека).

Полученные данные обосновывают необходимость расширения дальнейших исследований по изучению механизмов участия кишечных микросимбионтов в предотвращении развития воспалительных реакций в кишеч-

нике, транслокации условно-патогенных микроорганизмов в ткани и органы внекишечной локализации с последующим формированием патологии.

*(Исследование выполнено при финансовой поддержке областного гранта для аспирантов в сфере научной и научно-технической деятельности соглашение №18 от 23 августа 2019 года и Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере - программа «Умник-2018» договор от 21.03.2019 №13639ГУ/2018)*

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Morgan X.C., Segata N., Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends Genet.* 2013. 29(1): 51-58.
2. Климович В.Б. Актуальные проблемы эволюционной иммунологии. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2002. 5(38): 442-451.
3. Hill D.A., Artis D. Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis. *Annu Rev Immunol.* 2010. 28: 623-667.
4. Singh R.K., Chang H.W., Yan D. et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med.* 2017. 15(1): 73.
5. Lynch S.V., Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med.* 2016. 375(24): 2369-2379.
6. Kalliolias G.D., Ivashkiv L.B. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat Rev Rheumatol.* 2016. 12(1): 49-62.
7. Liu G., Yang H. Modulation of macrophage activation and programming in immunity. *J Cell Physiol.* 2013. 228(3): 502-512.
8. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A.M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* 2000. 164(12): 6166-6173.
9. Gordon S., Martinez F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions *Immunity.* 2010. 32(5): 593-604.
10. Winter S.E., Lopez C.A., Bäuml A.J. The dynamics of gut-associated microbial communities during inflammation. *EMBO Rep.* 2013. 14(4): 319-327.
11. Bain C.C., Mowat A.M. Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation. *ImmunolRev.* 2014. 260(1): 102-117.
12. Sun M., He C., Cong Y., Liu Z. Regulatory immune cells in regulation of intestinal inflammatory response to microbiota. *Mucosal Immunol.* 2015. 8(5): 969-978.

*Поступила 21 августа 2019 г.*

*(Контактная информация: Чайникова Ирина Николаевна - д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; 460000 г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, тел. 8 (3532) 77-54-17; e-mail: inchainicova@yandex.ru).*

---

---

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Morgan X.C., Segata N., Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends Genet.* 2013. 29(1): 51-58.
2. Klimovich V.B. Actual problems of evolutionary immunology. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology.* 2002. 5(38): 442-451.
3. Hill D.A., Artis D. Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis. *Annu Rev Immunol.* 2010. 28: 623-667.
4. Singh R.K., Chang H.W., Yan D. et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med.* 2017. 15(1): 73.

5. Lynch S.V., Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med.* 2016. 375(24): 2369-2379.
6. Kalliolias G.D., Ivashkiv L.B.. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat Rev Rheumatol.* 2016. 12(1): 49-62.
7. Liu G., Yang H. Modulation of macrophage activation and programming in immunity. *J Cell Physiol.* 2013. 228(3): 502-512.
8. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A.M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* 2000. 164(12): 6166-6173.
9. Gordon S., Martinez F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions *Immunity.* 2010. 32(5): 593-604.
10. Winter S.E., Lopez C.A., Bäuml A.J. The dynamics of gut-associated microbial communities during inflammation. *EMBO Rep.* 2013. 14(4): 319-327.
11. Bain C.C., Mowat A.M. Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation. *ImmunolRev.* 2014. 260(1): 102-117.
12. Sun M., He C., Cong Y., Liu Z. Regulatory immune cells in regulation of intestinal inflammatory response to microbiota. *Mucosal Immunol.* 2015. 8(5): 969-978.

**Образец ссылки на статью:**

Чайникова И.Н., Бондаренко Т.А., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Бекпергенова А.В. Влияние супернатантов кишечных микросимбионтов на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками в условиях *in vitro*. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2019. №3. 9с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/ChIN-2019-3.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2019-13009