

УДК 579.62

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ КАК ИСТОЧНИКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ДЛЯ РАЗВИТИЯ ИННОВАЦИОННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ, ЖИВОТНОВОДСТВЕ И АГРОПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ

© 2022 г. В. Н. Даниленко¹, *, Р. А. Юнес¹, Р. А. Ильясов^{1, 2}, А. С. Ковтун¹,
А. С. Яненко³, Ю. Е. Козловский³, А. В. Сидоренко⁴, Э. И. Коломиец⁴

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

²Башкирский государственный аграрный университет, Москва, Россия

³Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Уфа, Россия

⁴Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*e-mail: valerid@vigg.ru

Поступила в редакцию 29.03.2022 г.

После доработки 29.03.2022 г.

Принята к публикации 30.03.2022 г.

Сегодня всем известны этапы разработки антибактериальных препаратов, успехи в этой области и проблемы применения в медицине. Первоначально усилиями ученых всего мира были созданы антибиотики на основе природных продуцентов почвенного происхождения. Широкомасштабное и порой нерациональное применение антибактериальных препаратов способствовало появлению и широкому распространению патогенов, устойчивых к большинству антибиотиков. Такая же ситуация складывалась и в области разработки противовирусных и иммуномодулирующих препаратов. Стало очевидным, что человек проигрывает гонку болезням и патогенам. Появилась необходимость в создании новых подходов и парадигм в разработке технологий и в выборе источников лекарственных средств. Успехи последнего десятилетия в области изучения микробиоты человека открыли перед нами много возможностей. Современные представления о структуре и функциях кишечной микробиоты и концептуальное объединение знаний о комменсальных микроорганизмах, включая пробиотические, полученные молекулярно-генетическими, транскриптомными, протеомными и метаболомными методами, позволили сформировать понятие “фармабиотики”. Создание фармабиотиков на основе микроорганизмов, населяющих различные полости тела человека, включая кишечник, является новым и интенсивно развивающимся направлением фармакологической науки. Поставленные цели в этой области могут быть достигнуты при условии комплексного решения ряда фундаментальных задач, обеспечивающих создание эффективных и безопасных фармпрепаратов и ингредиентов для них. Роль микробиома вообще и фармабиотиков в частности в качестве селективных модуляторов и иммунной системы, в первую очередь клеточного иммунитета, и антиоксидантной системы становится все более очевидной. В течение последнего десятилетия в РФ и Республике Беларусь интенсивно проводятся исследования микробиома кишечника человека и животных и разработка препаратов пробиотиков и фармабиотиков с нейромодулирующей, иммуномодулирующей, антиоксидантной и противовоспалительной активностями.

Ключевые слова: фармабиотики, антиоксидантный потенциал, пробиотический потенциал, микробиота

DOI: 10.31857/S0042132422040044

ВВЕДЕНИЕ

Прорыв последних лет в области комплексного изучения микробиома человека привел к открытию новых возможностей и перспектив создания лекарственных препаратов нового поколения — фармабиотиков. Метамикробиом — это совокупность генов, полученная в результате полногеном-

ного секвенирования микробиоты и последующего метагеномного анализа. К фармабиотикам относят живые штаммы комменсальных бактерий кишечника, их компоненты (клеточные стенки, полисахариды) и метаболиты (белки, пептиды, ферменты, специфические фрагменты ДНК, малые РНК), а также другие биологически активные

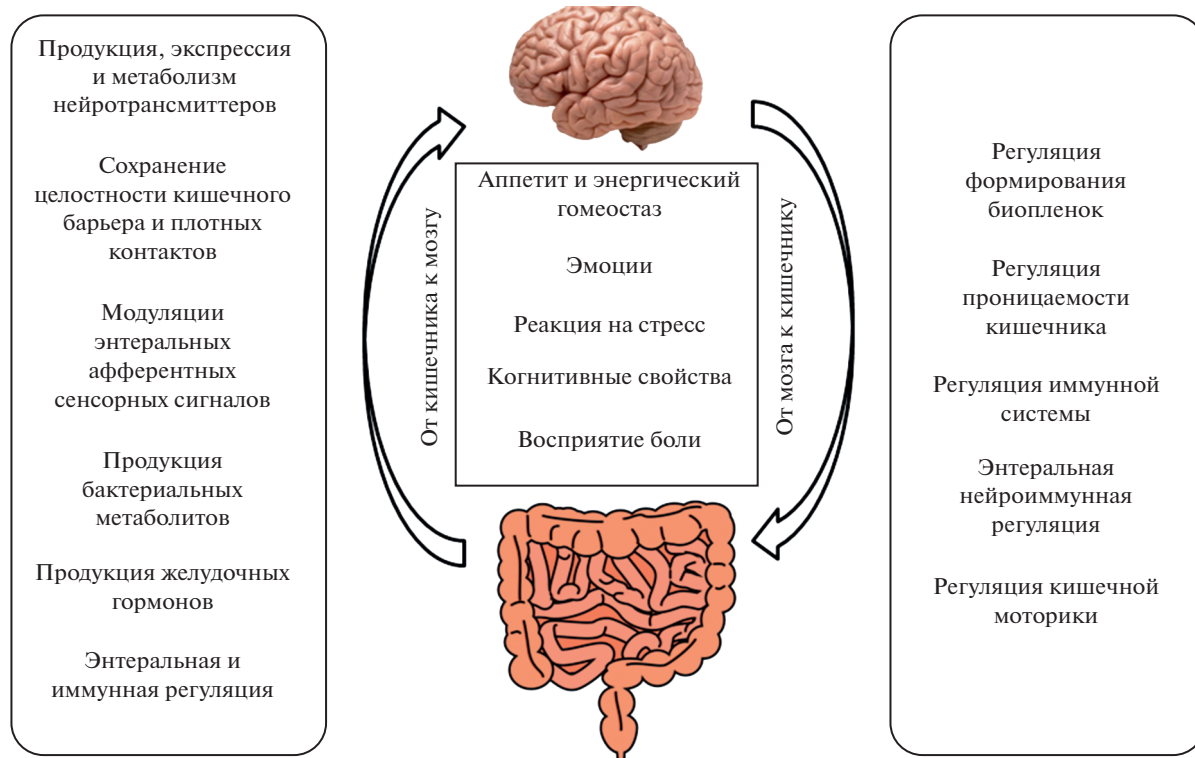


Рис. 1. Симбиотическая связь микробиоты с организмом хозяина (по: Evans et al., 2013; Lyte, 2014, адаптировано).

вещества, которые проявляют фармакологическую активность с установленным механизмом действия и безопасны в использовании (Sleator, Hill, 2008, 2009; Shanahan, Collins, 2010; Patterson et al., 2014; Danilenko et al., 2021).

Микробиота человека в последние годы рассматривается как один из альтернативных источников получения фармакологически активных ингредиентов для препаратов нового поколения с иммуномодулирующей, нейромодулирующей, антиоксидантной и противовоспалительной активностями (рис. 1).

Около 10 лет назад произошла смена парадигмы в представлении о микроорганизмах, населяющих кишечник человека. Микробиом кишечника (МК) сегодня называют нейроэндокринным виртуальным органом (рис. 1), интегрирующим взаимодействие и гомеостаз практически всех систем и органов человека через ось кишечник–мозг (Evans et al., 2013; Lyte, 2014; Cryan et al., 2019; Agirman, Hsiao, 2021; Margolis et al., 2021). Знания об иммуномодулирующем, нейромодулирующем и антиоксидантном потенциалах микробиома и носителях этих свойств — конкретных комменсальных бактерий — позволят более рационально использовать уже существующие противомикробные и другие препараты. Проведение полного и глубокого метагеномного анализа МК позволило выявить в его составе

бактерии, содержащие заданные гены и их комбинации, определяющие потенциальную иммунобиологическую и антиоксидантную активность. Вся система функционирует как единая сеть. Нарушение в одном звене приводит к сбою всей системы и, как следствие, к дисбактериозу.

С использованием определенных процедур искомыми бактериями, не содержащими генов патогенности и лекарственной устойчивости, несущими необходимые комбинации целевых генов, могут быть выделены из биологических образцов (фекалий) для дальнейшего исследования. В настоящее время в мире существуют биобанки образцов микробиоты и комменсальных бактерий (Liu et al., 2021). Вместе с тем следует учитывать регионально-культурные особенности состава микробиома и высокую штаммоспецифичность способности бактерий продуцировать те или иные фармакологически активные вещества. Поскольку в России отсутствуют такие биобанки, представляется целесообразным сформировать когорты здоровых молодых людей, представляющих основные регионы страны, для отбора образцов микробиоты.

Создание новых лекарственных препаратов для лечения заболеваний различной этиологии: онкологических, кардиологических, аутоиммунных, нейропсихиатрических, нейродегенеративных и, в первую очередь, инфекционных — испытывает в последние годы определенные трудности. Панде-

мия COVID-19 и последствия перенесения заболевания обострили ситуацию и объединили мировые научные и бизнес-сообщества для разработки современной концепции поиска и создания новых противовоспалительных средств. На первом месте стоят препараты с иммуномодулирующей и нейромодулирующей активностями. Создание лекарственных препаратов, имеющих минимальные побочные эффекты и не являющихся чужеродными для человеческого организма, способных скоординировано налаживать работу иммунной и антиоксидантной систем, становится все более востребованным (Akour, 2020; Averina et al., 2020, 2021; Danilenko et al., 2021; Jabczyk et al., 2021; Singh, Rao, 2021).

Использование микробиома человека в терапевтических целях (поиски новых лекарственных препаратов и создание диагностикумов) – это стремительно развивающееся в мире направление. Более 250 компаний и 800 исследовательских проектов заявили себя в базе данных Microbiome Drug Database. Ведется поиск уникальных штаммов бактерий (фармабиотиков) и их продуктов (метабиотиков – постбиотиков) с целью лечения и профилактики различных патологий. Большое внимание уделяется разработке препаратов с иммуномодулирующей и противовоспалительной активностями. Создан ряд компаний, официально заявивших о себе и продвигающих свои продукты на мировом рынке.

МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА: ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЙ, НЕЙРОМОДУЛИРУЮЩИЙ, АНТИОКСИДАНТНЫЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛЫ

*Иммуномодулирующий потенциал
микробиоты человека*

Взаимодействия МК и иммунной системы хозяина являются полимодальными, сложными и двунаправленными. С момента рождения, МК человека играет решающую роль в индукции и функционировании иммунной системы (Belkaid, Harrison, 2017). Иммунная система, с одной стороны, поддерживает партнерские отношения с комменсальными и симбиотическими микроорганизмами, с другой – индуцирует защитные воспалительные реакции в ответ на вторжение патогена; то есть иммунная система учится сосуществовать с комменсальной микробиотой и адекватно реагировать на патогенные микроорганизмы (Hooper et al., 2012). Нарушение гомеостаза кишечника приводит к таким заболеваниям, как рак, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, сахарный диабет, ожирение, аллергия, астма и др. (Cianci et al., 2018). Развитие этих забо-

леваний также коррелирует с нарушением функционирования иммунной системы.

Кишечник является важным иммунологическим органом. Около 70% всех иммунокомпетентных клеток находятся в кишечной слизи; около 25% слизистой оболочки состоит из иммунологически активных тканей и клеток. Кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань GALT (gut-associated lymphoid tissue) включает клеточные (макрофаги, плазматические и тучные клетки, лимфоциты и др.) и структурные (лимфоидные фолликулы, лимфатические узлы, пейеровы бляшки и др.) элементы. Последние, находящиеся под контролем клеток иммунологической памяти, участвуют во взаимодействии между антигенпрезентирующими клетками, способными к абсорбции или процессингу антигена, и Т-клетками, тем самым осуществляя иммунный ответ. Важной функцией GALT является идентификация антигена и снятие или развитие иммунологической толерантности к антигенам.

Толл-подобные рецепторы TLRs (Toll-like receptors) представляют собой трансмембранные молекулы, связывающие вне- и внутриклеточные структуры, и являются элементами иммунной защиты кишечного эпителия. Они выполняют важнейшую функцию в иммунном ответе: обнаруживают определенные структуры антигенов кишечных бактерий и связывают их. TLRs обеспечивают толерантность к резидентной микробиоте, доставку APC-антигена, усиление плотных контактов и индукцию антимикробных пептидов (Lu et al., 2018). Кроме того, TLRs могут быть рецепторами цитокинов, в частности ИЛ-1 и ИЛ-13. В настоящее время, известно 13 типов TLRs. У млекопитающих наиболее важным является TLR4. Этот рецептор бактериальных эндотоксинов играет ключевую роль в индукции врожденного иммунитета и воспаления. TLR4 активируется бактериальными липополисахаридами LPS (lipopolysaccharides) за счет скоординированного и последовательного действия трех белков: липополисахарид-связывающего белка, кластера дифференцировочного антигена CD14 и рецепторов миелоидного дифференцировочного белка MD-2. Последние связывают LPS и представляют его TLR4 в мономерной форме, образуя активный комплекс (TLR4/MD-2/LPS) (Gómez-Llorente et al., 2010; Schappe et al., 2018). Кроме того, в кишечнике взрослых обнаружены иммуноглобулины всех классов, при этом преобладают секреторные иммуноглобулины А (sIgA). Доказанное влияние МК на иммунную адаптацию и формирование толерантности человека к внешним факторам позволило использовать микроорганизмы-симбионты человека для профилактики и лечения целого ряда заболеваний (Peri et al., 2012; Dong et al., 2020).

Сегодня опубликовано много работ по изучению иммуномодулирующего действия пробиотических штаммов лактобацилл и бифидобактерий (Belkina et al., 2021; Shimizu et al., 2021; Varsha et al., 2021). В качестве представителей комменсальной микробиоты эти бактерии способны селективно стимулировать врожденный иммунитет и оказывать влияние на формирование адаптивного иммунного ответа, влияя на профили секреции и провоспалительных, и противовоспалительных цитокинов. Исследование иммуномодулирующей активности пробиотических штаммов бактерий проводится на культурах энтероцитов (Caco-2, HT-29), иммунцитов (EC-6, TNP-1) и на лабораторных животных (здоровых, с дефектами иммунной системы, гнотобионтах). При исследовании влияния живых и разрушенных (нагреванием или ультрафиолетовым излучением) культур бактерий и их метаболитов на иммунитет анализируются особенности кластерной дифференцировки иммунокомпетентных клеток и уровень продукции цитокинов при помощи иммунологических и генетических методов (Munoz-Quezada et al., 2013). С использованием современных методических подходов показано, что разные штаммы бифидобактерий, лактобацилл и их компоненты оказывают различный по степени выраженности иммуномодулирующий эффект (Patten, Laws, 2015; Lim, Shin, 2020; Rocha Ramirez et al., 2021). Согласно данным экспериментальных исследований *in vitro* и доклинических исследований, специфические штаммы пробиотиков способны обеспечивать защиту от вирусных инфекций путем стимуляции противовирусных, цитокиновых и хемокиновых реакций в эпителиальных или иммунных клетках респираторного и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Бифидобактерии и лактобациллы способны проявлять противовирусное действие частично за счет усиления врожденного иммунитета путем модуляции иммунной системы кишечника. Также они могут усиливать выработку цитокинов в легких или сыворотке крови (Vozkurt, Quigley, 2020).

Антиоксидантный потенциал микробиоты человека

Как комменсальные, так и патогенные бактерии в составе МК способны влиять на клеточный уровень активных форм кислорода (АФК) через модуляцию митохондриальной активности (Zogov et al., 2014). Комменсальные бактерии продуцируют формилированные пептиды, которые связываются с рецепторами, сопряженными с G-белками GPCRs (G-protein-coupled receptors) на макрофагах и нейтрофилах, что приводит к запуску воспалительного процесса в эпителиальных клетках. Воспалительный процесс сопровождается выработкой супероксида NOX-1, тем самым увеличивая уровень кле-

точных АФК (Migeotte et al., 2006). Кишечные бактерии *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* способны превращать нитраты и нитриты в оксид азота NO, что делает эпителий кишечника богатым источником NO. Аналогичным образом стрептококки и бациллы продуцируют NO из L-аргинина с помощью NO-синтазы (Tiso, Schechter, 2015). NO в наномолярной концентрации считается нейротропиком и является нейротрансмиттером для норадренергических, нехолинергических нейронов кишечника. В то же время в более высокой концентрации NO оказывает пагубный эффект, вызванный продукцией активных форм кислорода и азота, в частности супероксида и H₂O₂. Последние образуют высокореактивные гидроксильные радикалы, которые ассоциируются с нейровоспалением, дегенерацией аксонов и нарушением развития нервной системы (Wang B. et al., 2017). Полезные метаболиты-антиоксиданты — короткоцепочечные жирные кислоты, вырабатываемые кишечными бактериями, — помогают снизить уровень АФК, влияя на активность митохондрий (Mishra et al., 2015; Marsova et al., 2018, 2020; Nowak et al., 2019). Антиоксиданты — молекулы, которые взаимодействуют со свободными радикалами, генерируемыми в клетках, и прекращают цепную реакцию, вызванную АФК и приводящую к нарушению функционирования клетки. Вещества, обладающие антиоксидантными свойствами, играют ключевую роль в поддержании общего здоровья человека (Firuzi et al., 2011; Averina et al., 2021). Когда у человека естественные механизмы нейтрализации, возникающие в процессе нормального метаболизма АФК, не справляются со своей задачей, развивается патологическое состояние — окислительный (окислительный) стресс. Способность отдельных штаммов пробиотических бактерий снижать окислительный стресс доказана различными исследованиями *in vitro* и *in vivo* (Amaretti et al., 2013). Механизмы действия таких штаммов достаточно многообразны и включают в себя: хелатирование токсичных ионов (Fe²⁺ и Cu²⁺); синтез ферментов-антиоксидантов (каталаза, супероксиддисмутаза), пептидов и тиолов (тиоредоксин, глутатион), веществ с антиокислительными свойствами (витамины B₁ и B₁₂, короткоцепочечные жирные кислоты); воздействие на клеточные рецепторы; регуляцию внутренних систем сигнальной трансдукции эукариотических клеток; активацию транскрипции ферментов, нейтрализующих свободные радикалы (Nrf2-Keap1-ARE, NF-κB, MAPK, PKC); модуляцию видового состава МК и др. (Amaretti et al., 2013; Wang N. et al., 2017). Образуемые бактериальные низкомолекулярные антиоксиданты, в том числе тиолы, играют в клетке важную роль — участвуют в поддержании клеточного редокс-статуса, в работе системы детоксикации, в синтезе эйкозаноидов, в регуляции многих механизмов клеточного сигналинга, клеточного

цикла, экспрессии генов и апоптоза (Mishra et al., 2015). Многие пробиотические бактерии являются продуцентами антиоксидантных веществ: аминокислот (метионин, цистин, цистеин), витаминов (РР, С, К). Пробиотики могут проявлять антиоксидантное действие посредством метаболизма окислительных соединений или профилактики их образования в кишечнике (Azcárate-Peril et al., 2011). Способность некоторых пробиотических бактерий продуцировать антиоксидантные ферменты и метаболиты обеспечивает их особую перспективность для борьбы со свободными радикалами (Danilenko et al., 2021).

Нейромодулирующий потенциал микробиоты человека

В последние годы растет интерес к изучению влияния МК на психическое состояние человека (Chen et al., 2021; Nikolova et al., 2021).

Проведенные исследования на животных показали существование двунаправленной связи между ЦНС и микробиотой ЖКТ, которая модулирует функционирование ЦНС через иммунологические, эндокринные и нейрональные механизмы (Cryan et al., 2019). На различных моделях животных показано влияние МК на поведение, способность к обучению, память, уровни тревожности и депрессии, реакцию на эмоциональные стимулы, устойчивость к стрессам (Margolis et al., 2021). Изучалось действие и отдельных штаммов пробиотических бактерий. Определено влияние пробиотиков, содержащих специфические виды и штаммы бактерий, на снижение депрессивных и тревожных симптомов (Nadeem et al., 2019).

Введение штамма *Lactiplantibacillus plantarum* PS128 мышам понижает у них тревожность и депрессивно-подобное поведение, а также степень воспаления и уровень кортикостерона в крови и повышает уровни дофамина и серотонина в префронтальной коре и стриатуме (Liu et al., 2015, 2016). Штамм *Lactobacillus helveticus* NS8 снижает у крыс признаки депрессии, тревожность и улучшает когнитивные характеристики, при этом увеличиваются уровни серотонина, норэпинефрина и нейротрофического фактора мозга в гиппокампе (Liang et al., 2015). Введение штамма *Bifidobacterium longum* 1714 мышам линии BALB/c (Savignac et al., 2014) понижает у них тревожность и депрессивно-подобное поведение. А введение штамма *Lacticaseibacillus rhamnosus* JB-1 самцам линии BALB/c (Bravo et al., 2011) приводит к снижению тревожности и депрессивно-подобного поведения, а также к изменению экспрессии рецепторов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК-рецепторов) в миндалевидной железе, голубом пятне, гиппокампе и других участках мозга. Штамм *B. longum* NCC3001 понижает у мышей тревож-

ность и увеличивает уровень нейротрофического фактора мозга BDNF (brain derived neurotrophic factor) в гиппокампе (Bercik et al., 2010). Введение мышам штамма *B. longum* subsp. *infantis* 35624 понижает у них депрессивно-подобное поведение (Desbonnet et al., 2010). Отмечено (Yunes et al., 2020) снижение депрессивно-подобного поведения мышей линии BALB/c после введения композиции из двух штаммов *L. plantarum* 90sk и *Bifidobacterium adolescentis* 150.

Клинические исследования выявили, что употребление пробиотиков, содержащих специфические виды и штаммы бактерий, приводит к снижению депрессивных и тревожных симптомов и у человека (Messaudi et al., 2011). Исследования также продемонстрировали различия в составе МК у пациентов с диагнозом генерализованного депрессивного расстройства, по сравнению со здоровой популяцией (Valles-Colomer et al., 2019).

ПРОБИОТИКИ, ПОСТБИОТИКИ И ФАРМАБИОТИКИ – ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Существующие определения пробиотиков, постбиотиков и фармабиотиков

Согласно определению, сформулированному рабочей группой ВОЗ в 2001 г., термин “пробиотики” означает живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах оказывают положительное влияние на здоровье организма-хозяина. Важно понимать, что пробиотики относятся к биологически активным добавкам, что исключает их использование в терапевтических целях (Hotel, Cordoba, 2001).

В отличие от пробиотиков, предназначенных для потребления здоровыми людьми с целью профилактики болезней и улучшения общего состояния организма, под фармабиотиками подразумевают живые бактерии, структурные компоненты их клеток и/или метаболиты с установленным механизмом фармакологического действия, рассчитанные на лечение конкретных нозологий (Sleator, Hill, 2008, 2009; Shanahan, Collins, 2010; Patterson et al., 2014).

Недавно принятый термин “постбиотики” обозначает убитые микробные клетки и/или их компоненты (за исключением вакцин), которые позитивно влияют на здоровье человека. Другие равнозначные по смыслу понятия: параббиотики, тиндализованные бактерии, метабиотики и др. Постбиотики легче поддаются контролю с точки зрения их качества, пробиотических свойств, стандартизации и производства (Salminen et al., 2021).

*Вклад исследований микробиома в уточнение
и самого понятия, и областей применения
пробиотиков*

Бурное развитие в последнее десятилетие междисциплинарного направления “микробиом человека” открыло глобальные перспективы для поиска новых биомишеней и разработки лекарственных средств различной направленности. Сегодня хорошо известно, что практически все заболевания коррелируют с нарушением (дисбиозом) композиции и функционирования МК. Многие заболевания сопровождаются дисбиозом, нарушением функционирования иммунной системы и воспалительными процессами от локальных до системных, охватывающими все органы и системы человека (Vijay, Valdes, 2021).

Известна роль микробиома и его основных бактериальных компонентов (пробиотических бактерий) в становлении и поддержании иммунитета. Изучается антиоксидантный потенциал пробиотических бактерий, в первую очередь лактобацилл и бифидобактерий. Классические пробиотические бактерии известны со времени их открытия И.И. Мечниковым и широко используются в пищевой и медицинской промышленности (Maskowiak, 2013; Novik, Savich, 2020; Stavropoulou, Bezirtzoglou, 2020). В последние годы формулируется новая концепция разработки и применения полезных комменсальных бактерий, выделенных из микробиома, и их ингредиентов (компонентов) для профилактики и лечения заболеваний различной этиологии. В мировой науке идет интенсивное обсуждение преимуществ и недостатков применения живых пробиотических бактерий, фармабиотиков и постбиотиков (Danilenko et al., 2021; Salminen et al., 2021). При использовании в фармакологии и при разработке лечебных продуктов питания указывается на необходимость проведения комплекса медико-биологических исследований не только по безопасности, но и по эффективности, нозологической направленности и механизмам действия препаратов. Как правило, источником фармабиотиков (постбиотиков) является МК человека и комменсальные бактерии, выделенные из него. Разрабатываются новейшие технологии поиска и изучения перспективных свойств фармабиотиков. Формируется новая парадигма создания фармпрепаратов на основе фармабиотиков, в том числе противoinфекционных. С учетом высоких иммуномодулирующего и антиоксидативного потенциалов фармабиотиков планируется их использование для повышения активности антибиотиков, вакцин и других существующих лекарственных препаратов. Фармабиотики селективного действия рассматриваются в качестве препаратов нового поколения для коррекции микробиома с целью восстановления иммунного баланса организма и снятия воспалительных процессов,

вызванных оксидативным стрессом (Sleator, Hill, 2008, 2009; Shanahan, Collins, 2010; Patterson et al., 2014). Для ускоренного создания таргетных фармабиотиков исследования ведутся комплексно по нескольким направлениям: проведение фундаментальных исследований по изучению механизмов действия уже отобранных фармабиотиков; разработка концепции, новых генетических и биоинформатических технологий для поиска фармабиотиков в метагеномах здоровых людей, в том числе стрессоустойчивых; последующий отбор и характеристика уникальных штаммов с помощью омиксных технологий – это глобальный путь, по которому движется современная наука о здоровье. Микробиом – это основа здоровья человека.

Вместе с тем требуется постоянно расширять и концептуально обосновывать научную базу использования МК человека в качестве источника фармабиотиков, фармакологически активных компонентов и кодирующих их генов, метабиотиков для последующего создания лекарственных препаратов. Понимая всю важность и необходимость разработок в этом направлении, следует учитывать регионально-культурные особенности формирования микробиоты различных групп населения при создании фармабиотиков.

*Метамикробиом кишечного тракта –
источник фармабиотиков и фармакологически
активных ингредиентов с иммуномодулирующей,
антиоксидантной и нейромодулирующей
активностями*

МК в совокупности рассматривается сегодня как особый орган, состоящий из микроорганизмов, населяющих ЖКТ, которые не уступают по своей численности количеству эукариотических клеток организма хозяина (Dekaboruah et al., 2020). МК вносит жизненно важный вклад в энергетический гомеостаз, обмен веществ, состояние кишечного эпителия, иммунологическую активность организма, включая его ответ на инфекционные заболевания.

Благодаря накопленным в настоящее время данным по микробиоте, можно судить о роли дисбаланса МК в развитии различных заболеваний (психических, онкологических, аутоиммунных и инфекционных) (Blumberg, Powrie, 2012; Levy et al., 2017). Микробиомика представляет собой развивающуюся область исследований, цель которой – выявление компонентов микробиоты, анализ микробиома, характеристика взаимодействия между микробиотой и хозяином и определение влияния на состояние здоровья человека. МК воздействует не только на клетки кишечного эпителия и энтеральную нервную систему, но и на развитие и функционирование различных органов и систем, включая ЦНС и иммунную систему. МК начинает формироваться после рождения и сопровожда-



Рис. 2. Влияние микробиоты кишечника на организм хозяина при помощи синтеза различных биологически активных соединений (по: Averina, Danilenko, 2017; Averina et al., 2020, 2021; Belkina et al., 2021; Poluektova et al., 2021).

ет человека на протяжении всей его жизни, поддерживая нормальное функционирование иммунной системы через различные механизмы (Belkaid, Harrison, 2017; Averina et al., 2021). Так как иммунная система преимущественно расположена в кишечной лимфоидной ткани, микроаспирация кишечных бактерий или перемещение сенсibilизированных иммунных клеток через лимфу или кровоток существенно влияет на иммунный ответ в других органах: в частности метаболиты, вырабатываемые микроорганизмами ЖКТ, влияют на легкие (Wang B. et al., 2017). Сегодня развитие многих заболеваний связывают с нарушениями в функционировании иммунной системы.

Одной из ключевых характеристик микробиоты, делающей ее важным фактором в регуляции многих процессов в человеческом организме (иммуномодуляция, нейромодуляция, антиоксидантная активность) (Averina, Danilenko, 2017; Averina et al., 2020, 2021), является способность составляющих ее бактерий синтезировать огромное количество различных активных соединений (рис. 2).

Недавние исследования показали, что в дополнение к классическим пробиотическим видам большинство комменсальных микроорганизмов, часто доминирующих в здоровых популяциях и истощенных у больных людей, также могут положительно взаимодействовать с иммунной системой хозяина и способствовать укреплению здоровья (O'Toole et al., 2017). К ним можно отнести *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides fragilis*, *Faecalibacterium prausnitzii* (Delgado et al., 2020). Идентификация биологически активных фракций из таких микроорганизмов предоставляет новые возможности для использования их в фармакологии.

Внеклеточные или поверхностно-ассоциированные белковые молекулы комменсальных кишечных микроорганизмов выполняют (Ruiz et al., 2016; Hidalgo-Cantabrana et al., 2017) важнейшие функции во взаимодействии с организмом хозяина и представляют собой микроб-ассоциированные молекулярные паттерны MAMPs (microbe-associated molecular patterns), приводящие к активации специфических сигнальных путей PRRs (pat-

tern recognition receptors). Среди компонентов бактериальных клеток, которые могут вызвать иммунную реакцию в организме хозяина, сегодня известны: пили (Turrone et al., 2013; Ottman et al., 2017), флагеллины (Eggestøl et al., 2020), белки P75 и P40 (Yan et al., 2007), иммуноглобулин-связывающие суперантигенные белки IbpA и IbpB (Arumugam et al., 2011), белки с пептидом STp с высоким содержанием серина и треонина (Bernardo et al., 2012; Al-Hassi et al., 2014), белки с пептидами FR-16 и LR-17 (Blanco-Míguez et al., 2017; Hidalgo-Cantabrana et al., 2017), экзополисахариды – цвиттерионные (Round et al., 2011), с β-глюканами (Kamiya et al., 2018), гетерополимерные и моносахаридные (Hidalgo-Cantabrana et al., 2014), секретируемые компоненты клеточной стенки (Górska et al., 2016), тейхоевые и липотейхоевые кислоты (Xie et al., 2012), короткоцепочечные жирные кислоты (Ríos-Covián et al., 2016), индол-3-альдегид, индол-3-пропионат, индол-3-уксусная кислота (Zelante et al., 2013; Venkatesh, Karunakaran, 2014), 3-индолакриловая кислота (Włodarska et al., 2017), D-триптофан, кинуреновая кислота, ниацин, никотиновая кислота (Thorburn et al., 2014), глутамин, гистидин и производные глицина (Hirata, Kunisawa, 2017). Они являются медиаторами иммуномодуляции, оказываемой различными комменсальными видами, включая как классические пробиотические лактобациллы или бифидобактерии, так и другие виды бактерий (Delgado et al., 2020). Использование микробных биологически активных соединений вместо живых микроорганизмов может быть особенно важным при работе с уязвимыми иммунодефицитными популяциями и способно препятствовать распространению генов лекарственной устойчивости и патогенности (Salminen et al., 2021). В ЗАКЛЮЧЕНИИ данного обзора подробно изложены перспективы использования недавно открытого у *B. longum* GT15 белка FN3, селективно связывающегося с TNF-α.

Изучение МК человека является глобальным междисциплинарным направлением исследований в мировой науке. В последние годы стало очевидно, что микробиом здорового человека может служить источником получения фармабиотиков и фармакологически активных ингредиентов

для профилактики и лечения заболеваний различной этиологии, в первую очередь характеризующихся нарушением функционирования иммунной системы и сопровождающихся локальными и генерализованными воспалительными процессами. Установлены белковые и пептидные внеклеточные компоненты лактобацилл и бифидобактерий, потенциально ответственные за иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы. Вместе с пищей и водой в кишечник поступают различные патогены, включая вирусы животных и растений. Микробиом может нейтрализовать вирусы (CRISPR/Cas-системы), а может способствовать изменению их генетического кода (системы репарации/рекомбинации).

МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА: СУЩЕСТВУЮЩИЕ ТЕХНОЛОГИИ И АЛГОРИТМЫ ПОИСКА ГЕНОВ И ИХ ПРОДУКТОВ С ЗАДАНЫМИ СВОЙСТВАМИ

*Метагеномные исследования,
сигнатура и каталоги генов*

Функциональный потенциал МК может быть описан через разнообразие и относительную представленность бактериальных генов. С развитием методов высокопроизводительного секвенирования стал возможен анализ совокупного генетического материала бактерий микробиоты — метагенома. Как результат, на настоящий момент наблюдается стремительный рост числа метагеномных исследований (Martin et al., 2018; Kovtun et al., 2018; Laudadio et al., 2019; Averina et al., 2020). Секвенирование полного метагенома позволяет искать определенные бактериальные гены для более глубокого понимания функционального потенциала микробиоты. Однако подобный анализ невозможен без хорошо составленных референсных каталогов генов и проведения функциональной аннотации метагенома. Для этого используют множество аннотированных последовательностей генов, например, базу данных RefSeq (O'Leary et al., 2016) и базы данных метаболических путей — KEGG (Kanehisa et al., 2016) или MetaCyc (Caspi, Moffitt, 2018). Также нужно учитывать гены, детерминирующие определенную функцию микробиоты. Для этого используются специализированные референсные каталоги, собранные вручную. Основой этого подхода является подробный анализ опубликованных данных с целью получения наиболее достоверного набора референсных бактериальных генов. Такие каталоги могут быть использованы для описания определенных функциональных свойств микробиоты, например ее нейромодулирующего, иммуномодулирующего, антиоксидантного потенциалов и т.д. Первый каталог разработан (Kovtun et al., 2018) и использован для определения коровой метагеномной сигнатуры МК в норме. Метагеномная сигнатура — один из способов описания метагенома — это матрица,

содержащая информацию не только о генах, но и о том, в каких бактериях они присутствуют. Второй каталог разработан (Valles-Colomer et al., 2019) и использован (Averina et al., 2020) для описания функциональных изменений в МК детей с расстройствами аутистического спектра. Его также эффективно использовали в работах по описанию изменений МК при депрессии (Valles-Colomer et al., 2019) и шизофрении (Zhu et al., 2020).

Большое бактериальное разнообразие МК наделяет ее обширной сетью метаболических путей и, как следствие, способностью продуцировать различные биологически активные соединения, что обеспечивает значимые функциональные характеристики микробиоты: нейромодулирующий, иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы.

Подходы к функциональной аннотации микробиоты

В данный момент существует ряд различных подходов для функциональной аннотации метагенома, зависящих от типа данных метагеномного секвенирования. Первый подход основан на данных 16S рРНК и представляет собой косвенный анализ метаболических путей в метагеноме, исходящий из заранее определенного таксономического состава (Langille et al., 2013). Подобный метод не является точным, поскольку его эффективность сильно зависит, во-первых, от разрешающей способности таксономического анализа, которая для технологии секвенирования второго поколения сильно ограничена короткой длиной получаемых прочтений, во-вторых, от полноты референсной базы аннотированных бактериальных геномов. Поэтому для функционального анализа метагенома гораздо лучше использовать другой тип данных (и связанные с ним подходы) — полный метагеном, представляющий собой совокупность всего генетического материала, содержащегося в микробиоте.

Одним из главных шагов при функциональной аннотации микробиоты по полному метагеному является выравнивание данных на референсную базу генов. Выравнивать можно как просто прочтения, так и полученные из них более длинные последовательности — контиги. Для второго необходимо проводить сборку метагенома с использованием специализированных программ, например metaSPAdes (Nurk et al., 2017). Недостатком первого метода является сложность оценки покрытия гена в референсной базе данных, поскольку необходимо учитывать не только глубину, но и ширину и равномерность покрытия. Более длинные контиги гораздо удобнее выравнивать с известными последовательностями генов, однако сборка требует большой глубины секвенирования, а также она искажает информацию об относительной представленности гена — для ее восстановления потребуется дополнительный этап картирования чтений на контиги.

Подходы к аннотации метагеномных данных

Наиболее простой подход к аннотации метагеномных данных — использование как можно более обширной базы, например RefSeq (O’Leary et al., 2016). Данный метод обладает максимальной разрешающей способностью, однако может породить большое количество ложноположительных аннотаций, поскольку метаболические пути у бактерий разных таксономических групп могут сильно отличаться, как и функции отдельных ферментов. Например, показано (Maini Rekdal et al., 2019), что синтез дофамина у некоторых кишечных бактерий происходит благодаря тирозиндекарбоксилазе, а не с использованием дофадекарбоксилазы, как, например, у млекопитающих.

Второй подход подразумевает использование баз данных метаболических путей, например KEGG (Kanehisa et al., 2016) или MetaCyc (Caspi, Moffitt, 2018). Это курируемые базы данных, информация в которых постоянно обновляется, что обеспечивает ее актуальность. Данный подход оптимален в том случае, если стоит задача полной аннотации метагенома, то есть восстановления всех содержащихся в нем метаболических путей. Однако, если необходимо дать определенную функциональную характеристику исследуемой микробиоты, потребуется использование более узких таргетированных баз.

Основа третьего подхода — заранее составленный референсный каталог последовательностей генов, участвующих в определенных метаболических путях. Для этого необходимо проводить анализ литературных источников с целью создания как можно более полного и точного каталога. К таким источникам могут относиться как опубликованные статьи, так и различные курируемые базы данных: SwissProt (Poux et al., 2017), KEGG, MetaCyc и т.д. Использование таргетных каталогов позволяет описать определенный интересующий исследователя функциональный потенциал микробиоты. Так, на настоящий момент существует несколько референсных каталогов, позволяющих описать нейромодулирующий потенциал микробиоты (Kovtun et al., 2018; Valles-Colomer et al., 2019).

ДОСТИЖЕНИЯ УЧЕНЫХ РАЗНЫХ СТРАН В ОБЛАСТИ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИКОВ И ПЕРСПЕКТИВНОЙ РАЗРАБОТКИ ФАРМАБИОТИКОВ

Технологии и алгоритмы, разработанные в ИОГен РАН, для анализа микробиома и создания фармабиотиков

В течение последнего десятилетия в лаборатории генетики микроорганизмов ИОГен РАН разработаны биоинформатические алгоритмы анализа метамикробиома кишечника и сформирована концепция поиска в микробиоте редких штаммов

бактерий с помощью комбинаций заданных генов. Созданы каталог ортологов бактериальных генов, продукты которых обладают иммуномодулирующей и антиоксидантной активностями, и алгоритм использования для биоинформатической идентификации в метагеномах кишечника штаммов комменсальных бактерий, содержащих комбинации заданных генов. Выявлена коровая метагеномная сигнатура МК здорового человека, отражающая нейромодулирующий, иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы. Разработаны подходы для выделения и культивирования штаммов комменсальных анаэробных бактерий МК с потенциальными свойствами фармабиотиков. Создан биобанк образцов микробиоты и коллекция штаммов потенциальных фармабиотиков для последующего использования в научных и практических целях. Получены штаммы фармабиотиков и данные об их белках, пептидах и ферментах с иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами, отобранные с использованием подходов сравнительного геномного, транскриптомного и протеомного анализов. Проанализированы иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства отобранных штаммов и их компонентов. Последние были проверены на адекватных системах клеточных культур и на лабораторных животных. Разработаны инновационные технологии создания фармакологически активных компонентов на основе микробиома здоровых людей. Отобраны кандидаты для иммуномодулирующих и антиоксидантных препаратов с противовоспалительной и иммуномодулирующей активностями, предназначенные для реабилитации пациентов, переболевших COVID-19. Проведены клинические исследования отобранных препаратов и организовано опытно-промышленное производство фармабиотиков. Проводятся доклинические исследования препаратов “Супербакт” и “Лактовирин” на основе фармабиотика *Limosilactobacillus (Lactobacillus) fermentum* U-21 для нейтрализации оксидативного стресса и его последствий при различных заболеваниях, включая COVID-19. Разрабатывается препарат, нейтрализующий TNF- α на основе FN3-белка бифидобактерий, содержащих фибронектиновые домены, для снятия воспалительных процессов различной направленности, в том числе воспалительных процессов, характерных для течения COVID-19.

*Использование омиксных технологий в создании фармабиотиков на примере *Limosilactobacillus fermentum* U-21*

В последние годы в мире происходят революционные изменения в области разработки и использования фармакологических препаратов на основе бактерий — представителей микробиоты

человека и животных и их биологически активных компонентов. Такие препараты все чаще называются фармабиотиками в противовес пробиотикам, используемым в основном как биологические активные добавки и употребляемым здоровыми людьми. Для создания фармабиотиков, кроме традиционных микробиологических и биотехнологических подходов, используются омиксные технологии — комплекс геномных, транскриптомных и протеомных. В представленной работе данные технологии были использованы для характеристики отобранного ранее по ряду уникальных антиоксидантных свойств штамма *L. fermentum* U-21 (Marsova et al., 2018, 2020; Danilenko et al., 2020; Stavrovskaya et al., 2021). На моделях паракват-индуцируемого оксидативного стресса *in vitro* и *in vivo* (*Escherichia coli*, *Caenorhabditis elegans*, грызуны) живая культура *L. fermentum* U-21 проявила способность нейтрализовать действие супероксид аниона и предотвращала разрушение органов у исследуемых животных, включая черную субстанцию головного мозга. Геномный и сравнительный анализы *L. fermentum* U-21 позволили выявить 24 гена, продукты которых могут проявлять антиоксидантные свойства в том числе в отношении организма исследуемых животных. Наиболее значительными, на наш взгляд, могут быть гены тиоредоксинового комплекса и метаболизма, а также транспорта тяжелых металлов. В качестве индуктора оксидативного стресса использована перекись водорода — наиболее распространенный агент для исследования изменений транскрипционной активности у бактерий, в том числе у лактобактерий. Увеличение транскрипционной активности демонстрировали 380 генов, а для 370 генов отмечалось снижение транскрипционной активности более чем в два раза. Повышение транскрипционной активности в 14–24 раза показали гены предполагаемого оперона карбоксилазы мочевины. На наш взгляд, важными для последующих исследований являются изменения транскрипционной активности генов транспорта, в том числе ионов металлов Fe^{2+} и Cu^{2+} , а также синтеза и катаболизма некоторых аминокислот. Протеомный анализ экзопротеома штамма *L. fermentum* U-21 и других штаммов этого вида позволил идентифицировать белок шаперонного комплекса ClpB, который может играть ключевую роль в рефолдинге неправильно собранных в результате оксидативного стресса белков в различных тканях и органах. Использование омиксных технологий для характеристики терапевтических свойств и механизма действия штамма *L. fermentum* U-21 — один из первых примеров в этом направлении. Полученные данные стали первым этапом для последующей выработки стратегии по созданию штаммов фармабиотиков. Включение в комплекс омиксных технологий метаболомного анализа штамма *L. fermentum*

U-21 является насущным и необходимым (Полухтова и др., 2022).

*FN3 — цитокинсвязывающий белок
бифидобактерий: перспективы
для создания иммуномодулирующих препаратов*

Бифидобактерии — анаэробные бактерии, существовавшие на планете Земля до появления на ней кислорода и после его появления, заселившие анаэробные полости практически всех представителей животного мира от насекомых до человека (Fischer et al., 2016; Slesak et al., 2016). Предполагается, что бифидобактерии, представленные на сегодня 99 видами рода *Bifidobacterium*, участвовали в формировании иммунной системы своих хозяев. Хорошо известно, что виды *Bifidobacterium longum* и *B. bifidum* первыми после рождения заселяют кишечник человека и формируют иммунную систему ребенка. Интенсивно исследуется роль бифидобактерий и их компонентов (метаболитов) в коммуникации кишечник—мозг и кишечник—иммунная система. Относительно хорошо изучены метаболиты и компоненты клеток бифидобактерий, модулирующие с помощью тех или иных механизмов активность иммунной системы. Вместе с тем практически ничего не известно о сигнальных системах (белках, рецепторах и др.), способных воспринимать сигналы иммунной системы, в том числе осуществлять взаимодействия с цитокинами.

Ученые лаборатории генетики микроорганизмов ИОГен РАН открыли и исследовали видоспецифический оперон PFNA бифидобактерий (Nezametdinova et al., 2018, 2021; Dyakov et al., 2020), ответственный за такие взаимодействия. PFNA-оперон, присутствующий практически у всех видов бифидобактерий, содержит пять основных генов: *pkb2*, *fn3*, *aaa-atp*, *duf58*, *tgf*. Белки, кодируемые по крайней мере тремя из этих генов: РКВ2 (серин-треониновая протеинкиназа), FN3 (белок, содержащий фиброниктиновые домены) и TGM (трансглутаминаза), обладают лиганд-связывающей способностью (Nezametdinova et al., 2021) (рис. 3).

Кластер PFNA присутствует у всех видов бифидобактерий — обитателей кишечника человека. Важно отметить, что данный оперон является видоспецифическим и проявляет значительную дивергенцию белковых последовательностей, кодируемых генами кластера, между различными видами рода *Bifidobacterium*. Показано, что дивергенция является результатом позитивной селекции, по-видимому, со стороны иммунной системы организма хозяина. В то же время данный кластер консервативен для всех штаммов одного вида бифидобактерий. Роль оперона PFNA в формировании механизмов видоспецифического иммунного взаимодействия с организмом хозяина представляет большой интерес. В составе видоспецифического оперона

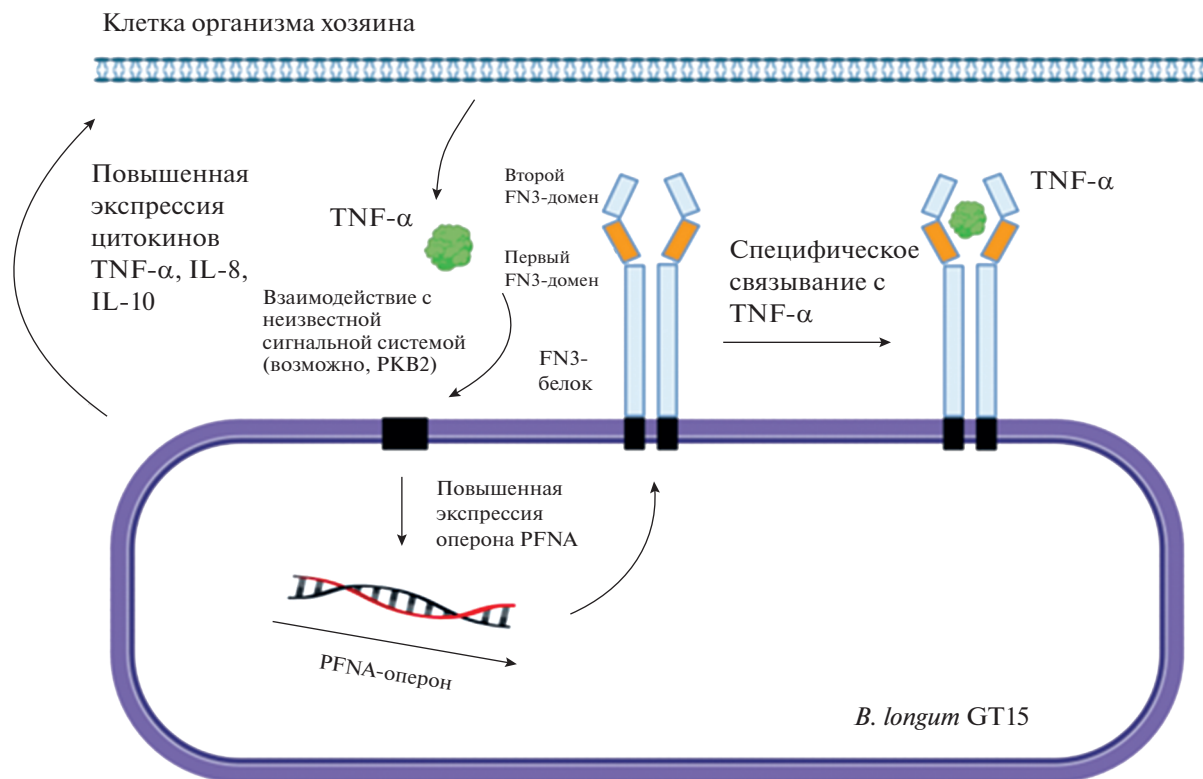


Рис. 3. Гипотетическое схематическое изображение роли оперона PFNA во взаимодействии бифидобактерий с иммунной системой хозяина. Активация сигнальной системы PKB2. Серин-треониновая протеинкиназа (PKB2), следующая его активация неизвестным лигандом, аутофосфорилированием и фосфорилированием других субстратов. Штамм *B. longum* GT15 увеличивает экспрессию цитокинов TNF- α , IL-8 и IL-10 в клетках человека (по: Nezametdinova et al., 2021).

PFNA был обнаружен ген *fn3*, кодирующий уникальный FN3-белок. Экспрессия данного гена, как и других генов оперона PFNA, увеличивается при росте штамма *B. longum* subsp. *longum* GT15 в присутствии TNF- α (Veselovsky et al., 2020). Белок FN3 встречается только у бифидобактерий, имеет сигнальный пептид, трансмембранный домен, два FN3-домена (Nezametdinova et al., 2014, 2018, 2021; Dyachkova et al., 2019). Предположительно, он может участвовать в адгезии бифидобактерий на клетках эпителия кишечника человека (Osswald et al., 2015). Однако наличие в составе данного белка двух FN3-доменов с мотивами цитокиновых рецепторов позволило предположить, что данный белок может быть рецептором для связывания цитокинов, продуцируемых организмом-хозяином. Показана способность фрагмента белка FN3 (Δ FN3.1) *B. longum* subsp. *longum* GT15 специфически связываться с цитокином человека TNF- α (Dyakov et al., 2020). Следует отметить, что виды бифидобактерий, обитающие в кишечнике человека и относящиеся к разным группам, имеют достаточно сильные отличия в последовательностях изучаемых мотивов (Nezametdinova et al., 2021). Можно предположить, что выявленные особенности структуры мотивов цитокиновых рецепторов связаны

как с видоспецифической адаптацией бифидобактерий к своему хозяину, так и с межвидовой конкуренцией разных видов бифидобактерий в кишечнике организма-хозяина. Данный белок имеет огромный потенциал для создания противовоспалительных препаратов (Dyakov et al., 2020).

Подходы к разработке психобиотиков на примере штаммов лактобацилл и бифидобактерий, продуцирующих ГАМК

Психобиотиками называют штаммы живых микроорганизмов, способные оказывать положительное влияние на работу ЦНС и периферической нервной системы, что проявляется в улучшении состояния больных с психическими расстройствами (тревожность, депрессия и т.д.), когнитивных свойств и других аспектов работы нервной системы. Психобиотики оказывают свой эффект в организме через различные пути, одним из которых является синтез биологически активных соединений, в частности ГАМК. В связи с этим перспективным подходом к поиску штаммов бактерий для разработки психобиотиков является отбор штаммов, способных продуцировать ГАМК.

ГАМК – аминокислота, не входящая в состав белков, важнейший тормозной нейромедиатор ЦНС человека и млекопитающих. ГАМК синтезируется нейронами ЦНС, известными как ГАМКергические. ГАМК также синтезируется и утилизируется МК. Понижение уровня ГАМК в плазме крови и в ЦНС ассоциируется с депрессией (Kendell et al., 2005), расстройствами аутистического спектра (Gaetz et al., 2014) и другими заболеваниями. Учитывая значимую роль, которую играет ГАМК в различных психических расстройствах, ее синтез МК представляет большой интерес. Возможно, ГАМК, продуцируемая бактериями МК, влияет на работу головного мозга через блуждающий нерв. Подтверждением тому является определение роли блуждающего нерва в качестве посредника между МК и головным мозгом (Bravo et al., 2011).

Ранее нашей группой (Yunes et al., 2016), равно как в других лабораториях мира (Barrett et al., 2012), установлено, что ГАМК синтезируется *in vitro* из ее предшественника – глутаминовой кислоты – отдельными представителями видов лактобацилл и бифидобактерий. На основе отобранных штаммов, продуцирующих ГАМК, в частности *L. plantarum* 90sk и *B. adolescentis* 150, создан препарат-психобиотик, который впоследствии испытан на различных моделях животных и проявил психобиотические свойства.

Изучение пробиотического потенциала бактерий в Институте микробиологии НАН Беларуси

Сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси исследованы области генома бактерий *B. longum* ВІМ В-813D, ответственные за адгезию, колонизацию в ЖКТ человека, метаболизм сложных углеводов. В результате установлено наличие последовательности, кодирующей препилинпептидазу (H8S96_04985), предназначенную для синтеза и созревания пилей адгезии, и трех транспептидазных сортаз (класса E и C), необходимых для полимеризации субъединиц пилина. Геном *B. longum* ВІМ В-813D содержит также последовательность, кодирующую серпин (H8S96_02745) – гомолог ингибитора сериновых протеаз, который эффективно блокирует работу панкреатической эластазы и эластазы нейтрофилов, что позволяет бифидобактериям обитать в определенных нишах кишечника. В геноме *B. longum* ВІМ В-813D выявлены гены, кодирующие факторы адгезии, которые позволяют бифидобактериям конкурировать с патогенами за сайты связывания на слизистой кишечника. В процессе эволюции микроорганизмами создано множество путей метаболизма углеводов, которые позволяют экономно использовать генетический потенциал клеток, вовлекая в работу необходимые гены в определенных условиях. Последовательность генома предоставляет информацию о предполагаемых углеводов-модифицирующих фер-

ментах, которые позволяют бифидобактериям адаптироваться к обитанию в ЖКТ макроорганизма. Разнообразие гликозидаз *B. longum* ВІМ В-813D, специализированных на метаболизме различных олигосахаридов, отражает эволюционную адаптацию данного вида к утилизации растительных поли- и олигосахаридов, что позволяет им доминировать в биотопе кишечника (Ушакова и др., 2012).

В результате молекулярно-генетического анализа бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* ВІМ В-497 – основы пробиотической кормовой добавки “Споробакт” – аннотированы генетические локусы, кодирующие метаболиты бациллин, бацилломицин, диффицидин, фенгицин, макролактин, сурфактин, отвечающие за проявление антагонистической активности штамма. Определены ключевые факторы, стимулирующие продукцию указанных метаболитов, в частности установлено влияние термошока на интенсификацию синтеза активных липопептидов (сурфактина А) (Бережная и др., 2019).

С использованием T-RFLP-анализа показано, что добавка в корм жидких бактериальных культур *B. amyloliquefaciens* ВІМ В-497 и *B. subtilis* ВІМ В-713 оказывает влияние на метаболическую активность кишечной микробиоты крупного рогатого скота и приводит к направленной перестройке экосистемы рубца в сторону увеличения (на 35%) рубцовых бактерий и простейших.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 10 лет междисциплинарное исследование микробиоты (микробиом) человека и животных стало одним из мейнстримов в области современной биологии, химии, медицины и биоинформатики. Функциональная значимость мириад бактерий, населяющих организм, для гармонии его микро- и макроэкологии стала очевидной и востребованной в практическом плане. Как исходно, так и сегодня, наибольший интерес вызывает микробиота (микробиом) кишечника человека. Впечатляет как количество населяющих кишечник родов бактерий (более 50), так и объем генетического материала, в сто раз превышающий размер собственного генома человека. Неудивительно, что нарушение композиции микробиома и, как следствие, генов и их комбинаций четко коррелирует с теми или иными заболеваниями: аутоиммунными, кардиологическими, онкологическими, нейродегенеративными, психическими и др. Уже на первом этапе изучения микробиом был признан особым нейроэндокринным органом, осуществляющим двунаправленное взаимодействие с головным мозгом. Установлено, что микробиом кишечника способен синтезировать все те же низкомолекулярные и пептидные вещества с нейромодулирующей активностью, что и нейроны энтеральной и центральной нервной системы. Показано, что дисби-

оз (изменения микробиоты) является триггером воспалительных процессов, приводящих к нарушению гомеостаза и возникновению различных заболеваний. Как и для любого другого органа, возникла задача выявления и установления параметров, характеризующих его в норме. Первыми в мире такие характеристики начали определять ученые ИОГен РАН в 2014 г. В первую очередь это сигнатуры, характеризующие нейромодулирующий, иммуномодулирующий и антиоксидантный потенциалы микробиоты. Эти параметры послужили основой для целенаправленного создания на основе комменсальных бактерий микробиоты, в первую очередь так называемых пробиотических бактерий – лактобацилл и бифидобактерий, препаратов фармабиотиков. Это живые биологически активные бактерии или их компоненты и метаболиты с установленным механизмом действия и известными фармакологически активными ингредиентами, способные оказывать лечебный эффект как самостоятельно, так и в комплексе с известными препаратами.

В последние годы конкретизированы биологически активные ингредиенты микробиома человека и животных и компоненты персонализированных продуктов: пребиотики, парабактерии, постбиотики и автопробиотики; выявлены глобальные регуляторные гены, значимые регуляторные системы клеток организма человека, воспринимающие иммуномодулирующую, нейромодулирующую и антиоксидантную активности конкретных биологически активных ингредиентов; получены экспериментальные данные, показывающие значимую роль пробиотиков, постбиотиков и фармабиотиков на их основе в коррекции состава микробиома; разрабатываются препараты фармабиотиков с заданными характеристиками: психобиотики, иммунобиотики, антиоксиданты. Глобальные успехи в области изучения микробиома человека и животных и переход от классических пробиотиков – БАДов – к фармабиотикам – полноценным безопасным лекарственным препаратам с известным механизмом действия – открывают новые горизонты в персонализированной медицине.

Последствия пандемии COVID-19, известные как постковидный синдром, включают в себя ряд заболеваний различной этиологии (кардиологические, неврологические и иммунологические) и сопровождаются дисбиозом микробиома и системными воспалительными процессами. Постковидный синдром актуализировал и стимулировал исследования, в том числе и в России, в области как поиска бактерий с антиоксидантными, противовоспалительными, иммуномодулирующими и антибактериальными свойствами, так и дальнейшего их использования для создания фармабиотиков и постбиотиков (Averina et al., 2021; Danilenko et al., 2021; Poluektova et al., 2021). Для рабо-

ты в этом направлении в России по инициативе ИОГен РАН создан междисциплинарный консорциум “Нутригеномика микробиома”. Нутригеномика – это наука, изучающая влияние питания и в том числе биологически активных пищевых добавок на экспрессию генов человека и на его здоровье (Magum, 2020). Интенсивное изучение микробиома человека и животных сегодня позволяет сформировать понятие “нутригеномика микробиома” и продолжить исследования в рамках проекта “Фармакобионутриенты”.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят академика РАН, научного руководителя Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Власова Валентина Викторовича за ценные советы по улучшению качества статьи.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бережная А.В., Евдокимова О.В., Валентович Л.Н. и др.* Молекулярно-генетический и функциональный анализ генома бактерий *Bacillus velezensis* БИМ В-439Д // Прикл. биохим. микробиол. 2019. Т. 55. № 4. С. 366–377.
<https://doi.org/10.1134/S0555109919040032>
- Полуектова Е.У., Мавлетова Д.А., Одорская М.В. и др.* Сравнительный геномный, транскриптомный и протеомный анализ штамма *Limosilactobacillus fermentum* U-21, перспективного для создания фармабиотика // Генетика. 2022. В. 9 (в печати).
- Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Правдин В.Г. и др.* Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения // Фунд. исслед. 2012. Т. 1. С. 184–192.
- Agirman G., Hsiao E.Y.* SnapShot: the microbiota–gut–brain axis // Cell. 2021. V. 184. № 9. P. 2524–2524.e1.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.022>
- Akour A.* Probiotics and COVID-19: is there any link? // Lett. Appl. Microbiol. 2020. V. 71. № 3. P. 229–234.
<https://doi.org/10.1111/lam.13334>
- Al-Hassi H.O., Mann E.R., Sanchez B. et al.* Altered human gut dendritic cell properties in ulcerative colitis are reversed by *Lactobacillus plantarum* extracellular encrypted peptide STp // Mol. Nutr. Food Res. 2014. V. 58. № 5. P. 1132–1143.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201300596>
- Amaretti A., Di Nunzio M., Pompei A. et al.* Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: *in vitro* and *in vivo* activities // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2013.

- V. 97. № 2. P. 809–817.
<https://doi.org/10.1007/s00253-012-4241-7>
- Arumugam M., Raes J., Pelletier E. et al. Enterotypes of the human gut microbiome // *Nature*. 2011. V. 473. № 7346. P. 174–180.
<https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Averina O.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiota: role in development and functioning of the nervous system // *Mikrobiologiya*. 2017. V. 86. № 1. P. 5–24.
<https://doi.org/10.7868/S0026365617010050>
- Averina O.V., Kovtun A.S., Polyakova S.I. et al. The bacterial neurometabolic signature of the gut microbiota of young children with autism spectrum disorders // *J. Med. Microbiol.* 2020. V. 69. № 4. P. 558–571.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.001178>
- Averina O.V., Poluektova E.U., Marsova M.V., Danilenko V.N. Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* as representatives of the human gut microbiota // *Biomedicines*. 2021. V. 9. № 10. P. 1340.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9101340>
- Azcárate-Peril M.A., Sikes M., Bruno-Bárcena J.M. The intestinal microbiota, gastrointestinal environment and colorectal cancer: a putative role for probiotics in prevention of colorectal cancer? // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2011. V. 301. № 3. P. G401–424.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00110.2011>
- Barrett E., Ross R.P., O'Toole P.W. et al. γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine // *J. Appl. Microbiol.* 2012. V. 113. № 2. P. 411–417.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x>
- Belkaid Y., Harrison O.J. Homeostatic immunity and the microbiota // *Immunity*. 2017. V. 46. № 4. P. 562–576.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.04.008>
- Belkina T.V., Averina O.V., Savenkova E.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiome and the immune system: the role of probiotics in shaping an immune system unsusceptible to COVID-19 infection // *Biol. Bull. Rev.* 2021. V. 11. № 4. P. 329–343.
<https://doi.org/10.1134/S2079086421040034>
- Bercik P., Verdu E.F., Foster J.A. et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice // *Gastroenterology*. 2010. V. 139. № 6. P. 2102–2112.e1.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.06.063>
- Bernardo D., Sánchez B., Al-Hassi H.O. et al. Microbiota/host crosstalk biomarkers: regulatory response of human intestinal dendritic cells exposed to *Lactobacillus* extracellular encrypted peptide // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 5. P. e36262.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036262>
- Blanco-Míguez A., Gutiérrez-Jácome A., Fdez-Riverola F. et al. MAHMI database: a comprehensive MetaHit-based resource for the study of the mechanism of action of the human microbiota // *Database (Oxford)*. 2017. V. 2017. P. baw157.
<https://doi.org/10.1093/database/baw157>
- Blumberg R., Powrie F. Microbiota, disease, and back to health: a metastable journey // *Sci. Transl. Med.* 2012. V. 4. № 137. P. 137rv7.
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004184>
- Bozkurt H.S., Quigley E.M. The probiotic *Bifidobacterium* in the management of coronavirus: a theoretical basis // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2020. V. 34. P. 2058738420961304.
<https://doi.org/10.1177/2058738420961304>
- Bravo J.A., Forsythe P., Chew M.V. et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse *via* the vagus nerve // *PNAS USA*. 2011. V. 108. № 38. P. 16050–16055.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108>
- Caspi A., Moffitt T.E. All for one and one for all: mental disorders in one dimension // *Am. J. Psych.* 2018. V. 175. № 9. P. 831–844.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.17121383>
- Chen L.L., Abbaspour A., Mkoma G.F. et al. Gut microbiota in psychiatric disorders: a systematic review // *Psychosom. Med.* 2021. V. 83. № 7. P. 679–692.
<https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000959>
- Cianci R., Pagliari D., Piccirillo C.A. et al. The microbiota and immune system crosstalk in health and disease // *Mediators Inflamm.* 2018. V. 2018. P. 2912539.
<https://doi.org/10.1155/2018/2912539>
- Cryan J.F., O'Riordan K.J., Cowan C.S. et al. The microbiota–gut–brain axis // *Physiol. Rev.* 2019. V. 99 (4). P. 1877–2013.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
- Danilenko V.N., Stavrovskaya A.V., Voronkov D.N. et al. The use of a pharmabiotic based on the *Lactobacillus fermentum* U-21 strain to modulate the neurodegenerative process in an experimental model of Parkinson disease // *Ann. Clin. Exp. Neurol.* 2020. V. 14. № 1. P. 62–69.
- Danilenko V.N., Devyatkin A.V., Marsova M.V. et al. Common inflammatory mechanisms in COVID-19 and Parkinson's diseases: the role of microbiome, probiotics and postbiotics in their prevention // *J. Inflamm. Res.* 2021. V. 14. P. 6349–6381.
<https://doi.org/10.2147/JIR.S333887>
- Dekaboruah E., Suryavanshi M.V., Chettri D., Verma A.K. Human microbiome: an academic update on human body site specific surveillance and its possible role // *Arch. Microbiol.* 2020. V. 202. № 8. P. 2147–2167.
<https://doi.org/10.1007/s00203-020-01931-x>
- Delgado B., Bach A., Guasch I. et al. Whole rumen metagenome sequencing allows classifying and predicting feed efficiency and intake levels in cattle // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 2875.
<https://doi.org/10.1038/S41598-020-60003-8>
- Desbonnet L., Garrett L., Clarke G. et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression // *Neuroscience*. 2010. V. 170. № 4. P. 1179–1188.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.08.005>
- Dong L., Xie J., Wang Y., Zuo D. Gut microbiota and immune responses // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2020. V. 1238. P. 165–193.
https://doi.org/10.1007/978-981-15-2385-4_10
- Dyachkova M.S., Chekalin E.V., Danilenko V.N. Positive selection in *Bifidobacterium* genes drives species-specific host–bacteria communication // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. P. 2374.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02374>
- Dyakov I.N., Mavletova D.A., Chernyshova I.N. et al. FN3 protein fragment containing two type III fibronectin domains from *B. longum* GT15 binds to human tumor necrosis factor alpha *in vitro* // *Anaerobe*. 2020. V. 65.

- P. 102247.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102247>
- Eggestøl H.Ø., Lunde H.S., Haugland G.T. The proinflammatory cytokines TNF-alpha and IL-6 in lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) – identification, molecular characterization, phylogeny and gene expression analyses // *Dev. Comp. Immunol.* 2020. V. 105. P. 103608. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103608>
- Evans J.M., Morris L.S., Marchesi J.R. The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host // *J. Endocrinol.* 2013. V. 218. № 3. P. R37–47. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0131>
- Firuzi O., Miri R., Tavakkoli M., Saso L. Antioxidant therapy: current status and future prospects // *Curr. Med. Chem.* 2011. V. 18. № 25. P. 3871–3888. <https://doi.org/10.2174/092986711803414368>
- Fischer W.W., Hemp J., Valentine J.S. How did life survive Earth's great oxygenation? // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2016. V. 31. P. 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.03.013>
- Gaetz W., Bloy L., Wang D.J. et al. GABA estimation in the brains of children on the autism spectrum: measurement precision and regional cortical variation // *Neuroimage.* 2014. V. 86. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.068>
- Gómez-Llorente C., Muñoz S., Gil A. Role of Toll-like receptors in the development of immunotolerance mediated by probiotics // *Proc. Nutr. Soc.* 2010. V. 69. № 3. P. 381–389. <https://doi.org/10.1017/S0029665110001527>
- Górska S., Dylus E., Rudawska A. et al. Immunoreactive proteins of *Bifidobacterium longum* ssp. *longum* CCM 7952 and *Bifidobacterium longum* ssp. *longum* CCDM 372 identified by gnotobiotic mono-colonized mice sera, immune rabbit sera and non-immune human sera // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 1537. <https://doi.org/10.3389/Fmicb.2016.01537>
- Hidalgo-Cantabrana C., Sánchez B., Milani C. et al. Genomic overview and biological functions of exopolysaccharide biosynthesis in *Bifidobacterium* spp. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80. № 1. P. 9–18. <https://doi.org/10.1128/Aem.02977-13>
- Hidalgo-Cantabrana C., Delgado S., Ruiz L. et al. Bifidobacteria and their health-promoting effects // *Microbiol. Spectr.* 2017. V. 5. № 3. P. 1. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0010-2016>
- Hirata S.-I., Kunisawa J. Gut microbiome, metabolome, and allergic diseases // *Allergol. Int.* 2017. V. 66. № 4. P. 523–528. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2017.06.008>
- Hooper D.U., Adair E.C., Cardinale B.J. et al. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change // *Nature.* 2012. V. 486. № 7401. P. 105–108. <https://doi.org/10.1038/nature11118>
- Hotel A.C.P., Cordoba A. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria // *Prevention.* 2001. V. 5. № 1. P. 1–10.
- Jabczyk M., Nowak J., Hudzik B., Zubelewicz-Szkodzińska B. Diet, probiotics and their impact on the gut microbiota during the COVID-19 pandemic // *Nutrients.* 2021. V. 13. № 9. P. 3172. <https://doi.org/10.3390/Nu13093172>
- Kamiya T., Watanabe M., Hara H. et al. Induction of human-lung-cancer-A549-cell apoptosis by 4-hydroperoxy-2-decenoic acid ethyl ester through intracellular ROS accumulation and the induction of proapoptotic CHOP expression // *J. Agric. Food Chem.* 2018. V. 66. № 41. P. 10741–10747. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04424>
- Kanehisa M., Sato Y., Kawashima M. et al. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № D1. P. D457–D462. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1070>
- Kendell S.F., Krystal J.H., Sanacora G. GABA and glutamate systems as therapeutic targets in depression and mood disorders // *Expert Opin. Ther. Targets.* 2005. V. 9. № 1. P. 153–168. <https://doi.org/10.1517/14728222.9.1.153>
- Kovtun A.S., Averina O.V., Zakharevich N.V. et al. In silico identification of metagenomic signature describing neurometabolic potential of normal human gut microbiota // *Rus. J. Genet.* 2018. V. 54. № 9. P. 1101–1110. <https://doi.org/10.1134/S1022795418090089>
- Langille M.G., Zaneveld J., Caporaso J.G. et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences // *Nat. Biotechnol.* 2013. V. 31. № 9. P. 814–821. <https://doi.org/10.1038/nbt.2676>
- Laudadio I., Fulci V., Stronati L., Carissimi C. Next-generation metagenomics: methodological challenges and opportunities // *OMICS.* 2019. V. 23. № 7. P. 327–333. <https://doi.org/10.1089/omi.2019.0073>
- Levy M., Kolodziejczyk A.A., Thaiss C.A., Elinav E. Dysbiosis and the immune system // *Nat. Rev. Immunol.* 2017. V. 17. № 4. P. 219–232. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.7>
- Liang S., Wang T., Hu X. et al. Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress // *Neuroscience.* 2015. V. 310. P. 561–577. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.033>
- Lim H.J., Shin H.S. Antimicrobial and immunomodulatory effects of *Bifidobacterium* strains: a review // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 30. № 12. P. 1793–1800. <https://doi.org/10.4014/jmb.2007.07046>
- Liu W.H., Yang C.H., Lin C.T. et al. Genome architecture of *Lactobacillus plantarum* PS128, a probiotic strain with potential immunomodulatory activity // *Gut Pathog.* 2015. V. 7. P. 22. <https://doi.org/10.1186/s13099-015-0068-y>
- Liu Y.W., Liu W.H., Wu C.C. et al. Psychotropic effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 in early life-stressed and naïve adult mice // *Brain Res.* 2016. V. 1631. P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.11.018>
- Liu C., Du M.X., Abuduaini R. et al. Enlightening the taxonomy darkness of human gut microbiomes with a cultured biobank // *Microbiome.* 2021. V. 9. № 1. P. 119. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01064-3>
- Lu Z., Liu Y., Xu J. et al. Immunohistochemical quantification of expression of a tight junction protein, claudin-7, in human lung cancer samples using digital image analysis method // *Comp. Meth. Progr. Biomed.* 2018. V. 155. P. 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2017.12.014>
- Lyte M. Microbial endocrinology and the microbiota–gut–brain axis // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014. V. 817. P. 3–24. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_1

- Mackowiak P.A.* Recycling Metchnikoff: probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life // *Front. Publ. Health.* 2013. V. 1. P. 52.
<https://doi.org/10.3389/fpubh.2013.00052>
- Maini Rekdal V., Bess E.N., Bisanz J.E. et al.* Discovery and inhibition of an interspecies gut bacterial pathway for levodopa metabolism // *Science.* 2019. V. 364. № 6445. P. eaau6323.
<https://doi.org/10.1126/science.aau6323>
- Marcum J.A.* Nutrigenetics/nutrigenomics, personalized nutrition, and precision healthcare // *Curr. Nutr. Rep.* 2020. V. 9. № 4. P. 338–345.
<https://doi.org/10.1007/s13668-020-00327-z>
- Margolis K.G., Cryan J.F., Mayer E.A.* The microbiota–gut–brain axis: from motility to mood // *Gastroenterology.* 2021. V. 160. № 5. P. 1486–1501.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.10.066>
- Marsova M., Abilev S., Polueltkova E., Danilenko V.* A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of *Lactobacillus* strains from human microbiota // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 34. № 2. P. 27.
<https://doi.org/10.1007/s11274-018-2410-2>
- Marsova M., Polueltkova E., Odorskaya M. et al.* Protective effects of *Lactobacillus fermentum* U-21 against paraquat-induced oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* and mouse models // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 36. № 7. P. 104.
<https://doi.org/10.1007/s11274-020-02879-2>
- Martin T.C., Visconti A., Spector T.D., Falchi M.* Conducting metagenomic studies in microbiology and clinical research // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 102. № 20. P. 8629–8646.
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9209-9>
- Messaoudi M., Lalonde R., Violle N. et al.* Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects // *Br. J. Nutr.* 2011. V. 105. № 5. P. 755–764.
<https://doi.org/10.1017/S0007114510004319>
- Migeotte I., Communi D., Parmentier M.* Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G protein-coupled receptors controlling immune responses // *Cyt. Growth Factor Rev.* 2006. V. 17. № 6. P. 501–519.
<https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2006.09.009>
- Mishra V., Shah C., Mokashe N. et al.* Probiotics as potential antioxidants: a systematic review // *J. Agric. Food Chem.* 2015. V. 63. № 14. P. 3615–3626.
<https://doi.org/10.1021/jf506326t>
- Muñoz-Quezada S., Chenoll E., Vieites J.M. et al.* Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036) from the faeces of exclusively breast-fed infants // *Br. J. Nutr.* 2013. V. 109. Suppl. 2. P. S51–62.
<https://doi.org/10.1017/S0007114512005211>
- Nadeem I., Rahman M.Z., Ad-Dab'bagh Y., Akhtar M.* Effect of probiotic interventions on depressive symptoms: a narrative review evaluating systematic reviews // *Psych. Clin. Neurosci.* 2019. V. 73. № 4. P. 154–162.
<https://doi.org/10.1111/pcn.12804>
- Nezametdinova V.Z., Zakharevich N.V., Alekseeva M.G. et al.* Identification and characterization of the serine/threonine protein kinases in *Bifidobacterium* // *Arch. Microbiol.* 2014. V. 196. № 2. P. 125–136.
<https://doi.org/10.1007/s00203-013-0949-8>
- Nezametdinova V.Z., Mavletova D.A., Alekseeva M.G. et al.* Species-specific serine-threonine protein kinase Pkb2 of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum*: genetic environment and substrate specificity // *Anaerobe.* 2018. V. 51. P. 26–35.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.03.003>
- Nezametdinova V.Z., Yunes R.A., Dukhinova M.S. et al.* The role of the PFNA operon of *Bifidobacteria* in the recognition of host's immune signals: prospects for the use of the FN3 protein in the treatment of COVID-19 // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 17. P. 9219.
<https://doi.org/10.3390/ijms22179219>
- Nikolova V.L., Hall M.R., Hall L.J. et al.* Perturbations in gut microbiota composition in psychiatric disorders: a review and meta-analysis // *JAMA Psychiatry.* 2021. V. 78. № 12. P. 1343–1354.
<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2021.2573>
- Novik G., Savich V.* Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine // *Microb. Infect.* 2020. V. 22. № 1. P. 8–18.
<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.004>
- 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. V. 59. № 21. P. 3456–3467.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1494539>
- Nurk S., Meleshko D., Korobeynikov A., Pevzner P.A.* metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler // *Genome Res.* 2017. V. 27. № 5. P. 824–834.
<https://doi.org/10.1101/gr.213959.116>
- O'Leary N.A., Wright M.W., Brister J.R. et al.* Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № D1. P. D733–D745.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv1189>
- Osswald A., Westermann C., Sun Z., Riedel C.U.* A phytase-based reporter system for identification of functional secretion signals in *Bifidobacteria* // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 6. P. e0128802.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128802>
- O'Toole P.W., Marchesi J.R., Hill C.* Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics // *Nat. Microbiol.* 2017. V. 2. P. 17057.
<https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.57>
- Ottman N., Geerlings S.Y., Aalvink S. et al.* Action and function of *Akkermansia muciniphila* in microbiome ecology, health and disease // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2017. V. 31. № 6. P. 637–642.
<https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.10.001>
- Patten D.A., Laws A.P.* *Lactobacillus*-produced exopolysaccharides and their potential health benefits: a review // *Benef. Microb.* 2015. V. 6. № 4. P. 457–471.
<https://doi.org/10.3920/BM2014.0117>
- Patterson E., Cryan J.F., Fitzgerald G.F. et al.* Gut microbiota, the pharmabiotics they produce and host health // *Proc. Nutr. Soc.* 2014. V. 73. № 4. P. 477–489.
<https://doi.org/10.1017/S0029665114001426>
- Peri F., Calabrese V., Piazza M. et al.* Synthetic molecules and functionalized nanoparticles targeting the LPS–TLR4 signaling: a new generation of immunotherapeu-

- tics // *Pure Appl. Chem.* 2012. V. 84. № 1. P. 97–106. <https://doi.org/10.1351/PAC-CON-11-10-35>
- Poluektova E., Yunus R., Danilenko V.* The putative antidepressant mechanisms of probiotic bacteria: relevant genes and proteins // *Nutrients.* 2021. V. 13. № 5. P. 1591.
- Poux S., Arighi C.N., Magrane M. et al.* On expert curation and scalability: UniProtKB/Swiss-Prot as a case study // *Bioinformatics.* 2017. V. 33. № 21. P. 3454–3460. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx439>
- Ríos-Covián D., Ruas-Madiedo P., Margolles A. et al.* Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 185. <https://doi.org/10.3389/Fmicb.2016.00185>
- Rocha-Ramírez L.M., Hernández-Chiñas U., Moreno-Guerrero S.S. et al.* Probiotic properties and immunomodulatory activity of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products // *Microorganisms.* 2021. V. 9. № 4. P. 825. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040825>
- Round J.L., Lee S.M., Li J. et al.* The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota // *Science.* 2011. V. 332. № 6032. P. 974–977. <https://doi.org/10.1126/science.1206095>
- Ruiz L., Hidalgo C., Blanco-Míguez A. et al.* Tackling probiotic and gut microbiota functionality through proteomics // *J. Proteomics.* 2016. V. 147. P. 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.03.023>
- Salminen S., Collado M.C., Endo A. et al.* The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021. V. 18. № 9. P. 649–667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
- Savignac H.M., Kiely B., Dinan T.G., Cryan J.F.* Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice // *Neurogastroenterol. Motil.* 2014. V. 26. № 11. P. 1615–1627. <https://doi.org/10.1111/nmo.12427>
- Schappe M.S., Sztayn K., Stremaska M.E. et al.* Chanzyme TRPM7 mediates the Ca²⁺ influx essential for lipopolysaccharide-induced Toll-like receptor 4 endocytosis and macrophage activation // *Immunity.* 2018. V. 48. № 1. P. 59–74.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.11.026>
- Shanahan F., Collins S.M.* Pharmabiotic manipulation of the microbiota in gastrointestinal disorders, from rationale to reality // *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2010. V. 39. № 3. P. 721–726. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2010.08.006>
- Shimizu K., Ojima M., Ogura H.* Gut microbiota and probiotics/synbiotics for modulation of immunity in critically ill patients // *Nutrients.* 2021. V. 13. № 7. P. 2439. <https://doi.org/10.3390/Nu13072439>
- Singh K., Rao A.* Probiotics: a potential immunomodulator in COVID-19 infection management // *Nutr. Res.* 2021. V. 87. P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.12.014>
- Sleator R.D., Hill C.* Engineered pharmabiotics with improved therapeutic potential // *Hum. Vaccin.* 2008. V. 4. № 4. P. 271–274. <https://doi.org/10.4161/hv.4.4.6315>
- Sleator R.D., Hill C.* Rational design of improved pharmabiotics // *J. Biomed. Biotechnol.* 2009. V. 2009. P. 275287. <https://doi.org/10.1155/2009/275287>
- Ślesak I., Ślesak H., Zimak-Piekarczyk P., Rozpądek P.* Enzymatic antioxidant systems in early anaerobes: theoretical considerations // *Astrobiology.* 2016. V. 16. № 5. P. 348–358. <https://doi.org/10.1089/ast.2015.1328>
- Stavropoulou E., Bezirtzoglou E.* Probiotics in medicine: a long debate // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. P. 2192. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02192>
- Stavrovskaya A.V., Voronkov D.N., Gushchina A.S. et al.* Pharmabiotic based on *Lactobacillus fermentum* strain U-21 modulates the toxic effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine as Parkinsonism inducer in mice // *Hum. Physiol.* 2021. V. 47. № 8. P. 891–900. <https://doi.org/10.1134/S0362119721080120>
- Thorburn A.N., Macia L., Mackay C.R.* Diet, metabolites, and “western-lifestyle” inflammatory diseases // *Immunity.* 2014. V. 40. № 6. P. 833–842. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.05.014>
- Tiso M., Schechter A.N.* Nitrate reduction to nitrite, nitric oxide and ammonia by gut bacteria under physiological conditions // *PloS One.* 2015. V. 10. № 3. P. e0119712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119712>
- Turroni F., Serafini F., Foroni E. et al.* Role of sortase-dependent pili of *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 in modulating bacterium-host interactions // *PNAS USA.* 2013. V. 110. № 27. P. 11151–11156. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303897110>
- Valles-Colomer M., Falony G., Darzi Y. et al.* The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression // *Nat. Microbiol.* 2019. V. 4. № 4. P. 623–632. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0337-x>
- Varsha K.K., Maheshwari A.P., Nampoothiri K.M.* Accomplishment of probiotics in human health pertaining to immunoregulation and disease control // *Clin. Nutr. ESPEN.* 2021. V. 44. P. 26–7. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.06.020>
- Venkatesh R., Karunakaran K.* Oxidation of aromatic anils by sodium perborate in aqueous acetic acid medium // *As. J. Chem.* 2014. V. 26. № 3. P. 739–744. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.15506>
- Veselovsky V.A., Dyachkova M.S., Menyaylo E.A. et al.* Gene networks underlying the resistance of *Bifidobacterium longum* to inflammatory factors // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. P. 595877. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.595877>
- Vijay A., Valdes A.M.* Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2021. V. 76. P. 489–501. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00991-6>
- Wang B., Yao M., Lv L. et al.* The human microbiota in health and disease // *Engineering.* 2017. V. 3. № 1. P. 71–82. <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.01.008>
- Wang N., Song G., Yang Y. et al.* Inactivated *Lactobacillus* promotes protection against myocardial ischemia–reperfusion injury through NF-κB pathway // *Biosci. Rep.* 2017. V. 37. № 6. P. BSR20171025. <https://doi.org/10.1042/bsr20171025>

- Wlodarska M., Luo C., Kolde R. et al. Indoleacrylic acid produced by commensal peptostreptococcus species suppresses inflammation // *Cell Host Microbe*. 2017. V. 22. № 1. P. 25–7.e6.
https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.06.007
- Xie L., Zhang L., Zhong Y. et al. Profiling the metatranscriptome of the protistan community in *Coptotermes formosanus* with emphasis on the lignocellulolytic system // *Genomics*. 2012. V. 99. № 4. P. 246–255.
https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2012.01.009
- Yan J., Yoon H., Kumar S. et al. Enhanced cellular immune responses elicited by an engineered HIV-1 subtype B consensus-based envelope DNA vaccine // *Mol. Ther.* 2007. V. 15. № 2. P. 411–421.
https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300036
- Yunes R.A., Poluektova E.U., Dyachkova M.S. et al. GABA production and structure of *gadB/gadC* genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from human microbiota // *Anaerobe*. 2016. V. 42. P. 197–204.
https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.10.011
- Yunes R.A., Poluektova E.U., Vasileva E.V. et al. A multi-strain potential probiotic formulation of GABA-producing *Lactobacillus plantarum* 90sk and *Bifidobacterium adolescentis* 150 with antidepressant effects // *Prob. Antimicrob. Prot.* 2020. V. 12. № 3. P. 973–979.
https://doi.org/10.1007/s12602-019-09601-1
- Zelante T., Iannitti R.G., Cunha C. et al. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22 // *Immunity*. 2013. V. 39. № 2. P. 372–385.
https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.003
- Zhu F., Ju Y., Wang W. et al. Metagenome-wide association of gut microbiome features for schizophrenia // *Nat. Comm.* 2020. V. 11. № 1. P. 1612.
https://doi.org/10.1038/s41467-020-15457-9
- Zorov D.B., Plotnikov E.Y., Silachev D.N. et al. Microbiota and mitobiota. Putting an equal sign between mitochondria and bacteria // *Biochemistry (Mosc.)*. 2014. V. 79. № 10. P. 1017–1031.
https://doi.org/10.1134/S0006297914100046

Study of the Human and Animal Microbiome as Genetic and Pharmacological Resources for the Development of Innovative Biotechnologies in Medicine, Animal Husbandry and Agro-Industrial Complex

V. N. Danilenko^{a, *}, R. A. Younes^a, R. A. Ilyasov^{a, b}, A. S. Kovtun^a,
A. S. Yanenko^c, Yu. E. Kozlovsky^c, A. V. Sidorenko^d, and E. I. Kolomiets^d

^a*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^b*Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia*

^c*National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia*

^d*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

*e-mail: valerid@vigg.ru

Today, everyone is familiar with the stages of development of antibacterial drugs, the successes in this area and the problems of application in medicine. Initially, thanks to the joint efforts of scientists around the world, antibiotics were created from natural producers of soil origin. The large-scale and sometimes irrational use of antibacterial drugs has contributed to the emergence and wide spread of pathogens resistant to most antibiotics. The same situation developed in the elaboration of antiviral and immunomodulatory drugs. It became obvious that humans are losing the race to diseases and pathogens. There is a need to create new approaches and paradigms in the development of technologies and in the choice of sources of medicines. The advances of the last decade in the field of human microbiota have opened up many opportunities for us. Modern perception about the structure and functions of the human intestinal microbiota and the conceptual unification of knowledge about commensal microorganisms, including probiotic organisms, obtained by molecular genetic, transcriptomic, proteomic and metabolomic methods, made it possible to forge the concept of “pharmabiotics”. The development of pharmabiotics from microorganisms inhabiting various cavities of the human body, including the intestines, is a new and rapidly developing area of pharmacological science. The goals set in this area can be achieved if a number of fundamental tasks are integrated to ensure the creation of effective and safe pharmaceuticals and ingredients for them. The role of the microbiome in general and pharmabiotics in particular as selective modulators of both the immune system, primarily cellular immunity, and the antioxidant system is becoming increasingly evident. Over the past decade, in the Russian Federation and the Republic of Belarus, intensive research has been carried out on the human and animal intestinal microbiome and the development of probiotic and pharmabiotic preparations with neuromodulatory, immunomodulatory, antioxidant and anti-inflammatory activities.

Keywords: pharmabiotics, antioxidant potential, probiotic potential, microbiota