

СИНТЕЗ БИОГЕННЫХ АМИНОВ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ НА СРЕДАХ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

© 2022 г. Е. Ф. Шаненко^а, Ю. А. Николаев^б *, В. И. Ганина^а, И. Н. Серых^а,
А. В. Олескин^с, Т. Г. Мухамеджанова^а, Н. В. Григорьева^б, Г. И. Эль-Регистан^б

^аФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», Москва, 125080 Россия

^бИнститут микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, 119071 Россия

^сМГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра общей экологии и гидробиологии,
Москва, 119234 Россия

*e-mail: nikolaevya@mail.ru

Поступила в редакцию 14.03.2022 г.

После доработки 17.03.2022 г.

Принята к публикации 22.03.2022 г.

Роль микробиоты кишечника в метаболизме и жизнедеятельности организма-хозяина хорошо известна. Одним из механизмов их взаимодействия базируется на биогенных аминах (БА). По этой причине синтез БА молочнокислыми бактериями (МКБ) интенсивно исследуется и рассматривается как важное свойство МКБ-пробиотиков. В настоящей работе исследован синтез БА молочнокислыми бактериями трех видов (13 штаммов), выделенных из разных местообитаний и с разными экофизиологическими функциями, выращенными на четырех разных средах. Показано, что среды существенно различаются по исходному содержанию БА. МКБ могут как потреблять БА из сред, так и синтезировать их в ходе роста, что необходимо учитывать при конструировании пробиотиков. На основании полученных данных скорректированы пути биосинтеза БА молочнокислыми бактериями и обсуждается вопрос о роли микробной продукции нейроактивных соединений в функционировании микробного сообщества организма человека, его нервной и иммунной систем, а также перспективы создания «биофабрик нейромедиаторов» на основе тестированных симбиотических и пробиотических микроорганизмов.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, биогенные амины, пробиотики, синтез на разных средах, пути метаболизма

DOI: 10.31857/S0026365622300206

Внимание к биологическим препаратам, действующим началом которых являются живые культуры молочнокислых бактерий (МКБ) симбиотической микробиоты человека, изначально было обусловлено возрастающей частотой возникающих различных патологий человека, связанных

с дисбактериозом. Особенно актуальным использование этих препаратов стало в эпоху массового применения противомикробных лекарственных средств, которые подавляют не только патогенные микроорганизмы, но и собственную симбиотическую микробиоту. Видовой состав микроорганизмов, используемых в пробиотических препаратах, достаточно широк и не исчерпывается представителями МКБ. В препаратах могут присутствовать бифидобактерии, дрожжи, мицелиальные грибы.

Хотя традиционно препараты МКБ использовались для коррекции кишечной микробиоты, оказалось, что, помимо этого воздействия, МКБ способны корректировать деятельность многих органов и физиологических систем человека, повышать иммунологическую реактивность и общую неспецифическую резистентность в условиях стрессовых нагрузок.

В последние десятилетия появилось множество данных, свидетельствующих о том, что роль сим-

Список сокращений: 3-МТ – 3-метилтриптофан; 5-Н1АА – 5-гидроксииндолилуксусная кислота; 5-НТ – серотонин; 5-НТР – 5-гидроксиметилтриптофан; БА – биогенные амины; ВНС – вегетативная нервная система; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ГАМК – γ -аминомасляная кислота; ГМ – гидролизат молока; ГЭБ – гемато-энцефалический барьер; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; КОМТ – катехол-О-метилтрансфераза; КС – капустный сок; МАО – моноаминоксидаза; МКБ, молочнокислые бактерии – МПБ, мясо-пептонный бульон; С – солод; ЦНС – центральная нервная система; ЭНС – энтеральная нервная система; А – адреналин; DA – дофамин; DOPA, 2,3-дигидроксифенилаланин; DOPAC – дигидроксифенилуксусная кислота; GALT – gut-associated lymphoid tissue (кишечная иммунная система); HVA – гомованилиновая кислота; NA – норадреналин; QS – quorum sensing-система чувства кворума.

биотической микробиоты, особенно желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), не сводится к ее коррекции и защите организма хозяина от патогенных микроорганизмов. Установлено, что микробиота ЖКТ находится в тесной взаимосвязи с организмом хозяина, что реализуется посредством передачи сигналов в нервную, эндокринную, иммунную и гуморальную системы. Организм хозяина, в свою очередь, может влиять на микробиоту ЖКТ через изменение моторики, кишечной проницаемости, выработки слизи и активации иммунной системы (Foster et al., 2016).

Взаимодействие между кишечной микробиотой и иммунной системой хозяина начинаются с его рождения, и они взаимно влияют на развитие друг друга (Nicholson et al., 2012) на протяжении всей жизни хозяина. В результате формируется сложный суперорганизм, в котором микробиота кишечника становится органом, обладающим множественными регуляторными функциями. Для обозначения этого органа используется термин “микробиом”. Взаимодействие микробиома и хозяина осуществляется посредством множественных прямых химических взаимодействий, передающих сигналы в центральную нервную систему (ЦНС), вегетативную нервную систему (ВНС) и нервную систему кишечника – энтеральную нервную систему (ЭНС) хозяина. Кишечный микробиом рассматривается в настоящее время как составляющая так называемой системы “кишечник–мозг”, которая трансформировалась, с учетом современных знаний, в ось “микробиом–кишечник–мозг”, двунаправленную коммуникационную систему, обеспечивающую функционирование супрасимбиотического организма. У здоровых людей эта система осуществляет мониторинг и интеграцию различных функций кишечника и связывает эмоциональные и когнитивные центры головного мозга с периферическими кишечными функциями, такими как иммунная активация, кишечная проницаемость и энтероэндокринная передача сигналов (Siragusa et al., 2007). Поскольку ось “микробиом–кишечник–мозг” является двунаправленной, нейроэндокринный ответ организма хозяина на стресс вызывает изменения в количестве и составе микробиоты кишечника. Существенные различия наблюдаются в составе микробиоты здоровых людей и при ожирении; тревожных расстройствах, заболеваниях рассеянным склерозом, болезнью Паркинсона и болезнью Альцгеймера, аутизмом. Исследователями выявлена высокая степень корреляции между составом и соотношением микроорганизмов кишечника и функциональными способностями мозга (Barbara et al., 2005; Heijtz et al., 2011; Naseribafrouei et al., 2014; Carabottia et al., 2015; Foster et al., 2016).

На животных показано, что перенесение кишечного микробиома от одной особи к другой приводит к приобретению реципиентом поведен-

ческих особенностей, характерных для донора. Внесение определенного микробиома на ранних этапах жизни приводит к воссозданию стереотипных для этих животных моделей поведения. Внесение микробиома взрослым особям в меньшей степени влияет на поведенческие реакции, но снижает уровень тревожности и повышает когнитивные функции (Foster et al., 2016). Изучение формирования функций мозга у грудных детей также показало участие в этом процессе микробиома (Siragusa et al., 2007; Ravel et al., 2011; Nicholson et al., 2012). Другим важным направлением в исследовании влияния микробиоты на мозг является изучение роли микробиома в формировании поведенческих и когнитивных особенностей (Siragusa et al., 2007).

Взаимодействие кишечной микробиоты и нервной системы организма хозяина осуществляется посредством синтезируемых ими нейроиммунно-эндокринных нейромедиаторов. К ним относятся: нейроактивные аминокислоты (γ -аминомасляная и другие органические кислоты, янтарная и другие), ацетилхолин, биогенные амины (серотонин, норадреналин, адреналин и другие) (Tsigos, Chrousos, 2002).

Исследования взаимодействий в оси “микробиом–кишечник–мозг” показали, что в их основе лежат механизмы синтеза и рецепции нейротрансмиттеров бактериями кишечника (Tsigos, Chrousos, 2002). Сам факт наличия у клеток про- и эукариот рецепторов, позволяющих им распознавать нейроэндокринные гормоны, известен уже несколько десятилетий. Бактерии могут продуцировать самые разные гормоны: от соматостатина до ацетилхолина и прогестерона, причем количество этих соединений, связываемых рецепторами клеток кишечника, достаточно, чтобы вызвать нейрофизиологический сдвиг в организме хозяина (Tsigos, Chrousos, 2002; Bravo et al., 2011; Heijtz et al., 2011).

Секретируемые бактериями нейротрансмиттеры (нейромедиаторы) могут непосредственно воздействовать на нервные окончания в ЖКТ, а также стимулировать эпителиальные клетки кишечника, которые в ответ освобождают молекулы, модулирующие нейротрансдукцию в ЭНС, оказывая влияние на мозг и поведение человека. Эта функция микробиома обеспечивает профилактику неврологических и нейрофизиологических расстройств человека.

Исследования на животных показали, что микробиота влияет на их стрессовую реактивность и состояние тревоги. Микробиота влияет на активность ЭНС, продуцируя молекулы, действующие как локальные нейромедиаторы, такие как ГАМК, серотонин, мелатонин, гистамин и ацетилхолин, а также генерируя активную форму катехоламинов в просвете кишечника. Синтези-

руемые микробиотой короткоцепочные органические кислоты (масляная, пропионовая, уксусная) способны стимулировать высвобождение серотонина в слизистую оболочку, оказывая влияние на память и когнитивные способности (Ravel et al., 2011; Gordon, 2012; Carabottia et al., 2015).

Изучение способности пробиотических микроорганизмов синтезировать нейротрансмиттеры привело к формированию группы штаммов, объединяемых названием “психобиотики” (Dhakal et al., 2012; Zhao et al., 2015; Lim et al., 2016).

Поиск активных продуцентов нейротрансмиттеров среди пробиотических бактерий стал одним из активно развиваемых направлений в области направленного позитивного воздействия на организм человека через ось “микробиом–кишечник–мозг”. Так, методом ВЭЖХ было определено содержание катехоламинов в культурах многих про- и эукариотических микроорганизмов (Цавкелова и соавт., 2000). Например, норадреналин в концентрациях 0.2–2 мкМ присутствовал в биомассе *Bacillus mycoides*, *B. subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*; дофамин в количестве 0.5–2 мкМ – в биомассе большинства тестированных прокариот (Олескин и соавт., 2020). Серотонин в низкой концентрации был обнаружен в клетках *Rhodospirillum rubrum* (Олескин и соавт., 1998), а в клетках *Bacillus subtilis* и *Staphylococcus aureus* (Цавкелова и соавт., 2000) в концентрациях порядка 1 мкМ. DA и 5-НТ в микромолярных концентрациях детектирован также у *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* и *Hafnia alvei* (Özogul, 2004). На модели *E. coli* K-12 (Шишов и соавт., 2009) показано, что максимальные (микромолярные) концентрации катехоламинов и 5-НТ накапливаются в лаг-фазе роста культуры, на основании чего можно предположить, что нейромедиаторные амины являются своеобразными “триггерами”, активирующими рост и деление клеток в начальной фазе онтогенеза микробной культуры.

Как показали исследования, способностью к синтезу нейромедиаторов обладают заквасочные молочнокислые бактерии, используемые в производстве сыров, йогуртов и других кисломолочных продуктов. Нейромедиаторы в количествах, сопоставимых с их концентрацией в кровотоке человека, обнаружены во многих ферментированных продуктах (Lim et al., 2016; Siragusa et al., 2017).

Основные обнаруживаемые в культуральной жидкости заквасочных культур нейроактивные соединения – это дофамин (DA), норадреналин (NA), адреналин (A), их предшественники L-тирозин и дигидрофенилаланин (DOPA) и продукты окислительного дезаминирования этих нейромедиаторов – 3-метокситирамин (3-МТ), дигидрокси-фенилуксусная (DOPAC) и гомованилиновая (HVA) кислоты, а также серотонин (5-НТ) и его предше-

ственники и продукты распада – L-триптофан, 5-гидроксиметилтриптофан (5-НТР) и 5-гидроксииндолилуксусная кислота (5-НIAA) и нейроактивные аминокислоты (глицин, γ -аминомасляная и глутаминовая кислоты).

Важно отметить, что на способность микробиоты синтезировать нейротрансмиттеры влияет тип питания хозяина. Так, мыши, которые получали говяжий фарш, имели более разнообразный состав микробиоты, повышенную физиологическую активность, память и пониженную тревожность по сравнению с получающими зерно (Foster et al., 2016).

Открываются новые возможности в диетотерапии при различных неврологических расстройствах, в геронтологии, в диетологии профессиональных групп людей, деятельность которых сопряжена со стрессовым воздействием. Другое направление исследования – это способность синтезировать нейротрансмиттеры с учетом ее видовой и штаммовой специфичности. В частности, подбор определенных пробиотических штаммов позволит разработать новую стратегию коррекции при метаболических нарушениях различного характера в организме хозяина (Heijtz et al., 2011; Foster et al., 2013; Naseribafrouei et al., 2014).

Бактерии-продуценты нейротрансмиттеров могут найти широкое применение в создании нового поколения функциональных продуктов с выраженной нейрохимической направленностью (Bercik et al., 2011; Жиленкова и соавт., 2013).

Однако, разрабатывая продукты питания, обогащенные живыми психобиотиками или нейроактивными соединениями, нельзя не учитывать состав питательных сред, так как известно, что количество, вид и соотношение элементов питания в среде определяет характер метаболизма продуцента (Bravo et al., 2011; Carabottia et al., 2015).

Расширение поиска активных продуцентов нейротрансмиттеров позволит создать банк продуцентов этих соединений для создания пробиотических продуктов различного назначения, а изучение влияния состава питательной среды на синтез нейротрансмиттеров позволит помимо этого разработать диетологические рекомендации для стимулирования синтеза нейротрансмиттеров собственной микробиотой (Жиленкова и соавт., 2013).

Целью работы было провести сравнительное исследование способности коллекционных штаммов молочнокислых бактерий продуцировать внеклеточные нейромедиаторы (биогенные амины) при росте культур на средах животного и растительного происхождения.

Таблица 1. Отобранные для исследований молочнокислые бактерии

Штамм	Номер во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов, ВКПМ	Источники выделения
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LL-52	ВКПМ В-8557	Цветы, растения
<i>Lactococcus: Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> LLN -E2	ВКПМ В-8558	Молоко, сквашенные продукты
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 125	*	Молоко, сквашенные продукты
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> В-102	*	ЖКТ млекопитающих
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LCN-98	ВКПМ В-8559	Цветы, растения
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 36с	*	Цветы, растения
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 18АК	*	Цветы, растения
<i>Lactobacillus acidophilus</i> АСТ-41	ВКПМ В-9644	ЖКТ и вагина млекопитающих и человека
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> БГ-Г	ВКПМ В-8554	Кислое дробленое зерно (sour grain mash)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> VG-9	*	Йогурт, сметана, ЖКТ болгар
<i>Streptococcus salivarius thermophilus</i> СТ-14	ВКПМ В-7765	Ротовая полость человека
<i>Streptococcus salivarius thermophilus</i> СТ-160	ВКПМ В-7988	Ротовая полость человека
<i>Streptococcus salivarius thermophilus</i> TP-20	ВКПМ В-7983	Ротовая полость человека

* Штамм из коллекции культур МГУПП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Штаммы бактерий и условия культивирования.

В работе были использованы 13 штаммов молочнокислых бактерий (МКБ) 4 родов (табл. 1). Бактерии были выделены из молока, сквашенных продуктов, кислого дробленого зерна, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и вагины человека, ротовой полости человека, а также с поверхности цветов и листьев растений (табл. 1). Бактерии выращивали в микроаэрофильных условиях (статически, в пробирках объемом 50 мл в 20 мл среды) при 28°C в течение 24 ч в следующих средах: гидролизат молока (ГМ); мясо-пептонный бульон (МПБ); солодовое ячменное сусло 7°Б (С); капустный сок (КС). Среды готовили по традиционным прописям (Теппер, Переверзева, 2004). Для приготовления сусло-агара к пивному суслу (8°Б) добавляли агар-агар (2.5%, по весу), кипятили до расплавления, фильтровали через вату и стерилизовали при 0.5 атм. В качестве молочной среды использовали обезжиренное молоко, стерилизованное при 0.5 атм. Гидролизованное молоко готовили с использованием сухого панкреатина (“Фармстандарт”, Россия) (1 г/л) и хлороформа. Капустный сок получали с применением соковыжималки, используя листья из середины кочана; после фильтрации через слой ваты pH доводили до значения 7 ± 0.1 и стерилизовали при 0.5 атм.

Определение биогенных аминов. Биогенные амины определяли в средах и культуральной жидкости

культур МКБ стационарной фазы роста, которую получали центрифугированием выросших культур (5000 g, 20 мин). Содержание биогенных аминов определяли методом ВЭЖХ на хроматографической установке LC-304E (“ВАС”, West Lafayette, США) при разделении биогенных аминов в обращенной фазе на колонке ReproS11 – Pur (Dr. Majsch GmbH, “Элсико”, Москва) с последующей амперометрической детекцией на стеклянно-угольном электроде как описано ранее (Шендеров, 2014а).

Статистическая обработка. Все эксперименты проведены в трех биологических повторностях для каждого варианта. При определении концентраций гормонов проводили 4–6 независимых измерений. С применением программы Excell-2004 рассчитывали среднее арифметическое и среднее абсолютных значений отклонений точек данных от среднего. Последнее значение соответствует экспериментальному разбросу и не превышает 5%. Результаты представлены в виде средних арифметических значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследовании определяли нейроактивные амины: DA, HA и 5-НТ, а также их предшественники, образующиеся в путях метаболизма L-тирозина и L-триптофана, и продукты их окислительного дезаминирования (рис. 1). Анализ их количественных превращений (в наномолях или микромолях на 1 л) дает представление о путях синтеза биоген-

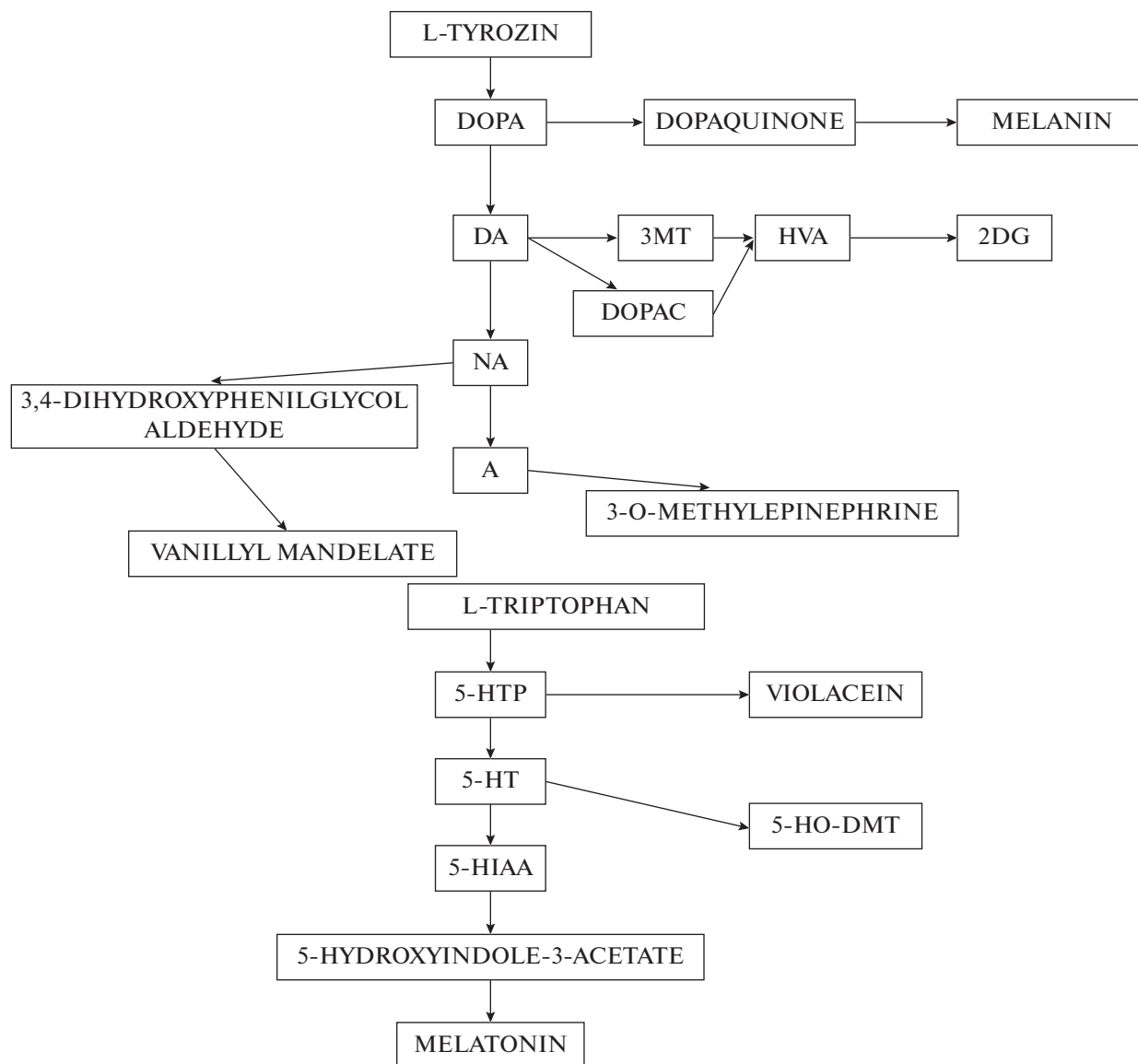


Рис. 1. Метаболические пути образования биогенных аминов молочнокислыми бактериями. Обозначения: дофамин (DA), норадrenalин (NA), адреналин (A), дигидрофенилаланин (DOPA), 3-метокситирамин (3-МТ), дигидроксифенилуксусная кислота (DOPAC), гомованилиновая кислота (HVA), серотонин (5-НТ), 5-гидроксииндолтриптофан (5-НТP), 5-гидроксииндолилуксусная кислота (5-НIAA) (по Hoffmann, 2014).

ных аминов у МКБ определенного таксономического положения (на уровне рода, вида, подвида). Дополнительную важную информацию авторы прогнозировали получить при росте МКБ на средах различного состава, отражающих (моделирующих) типы питания человека (растительная или животная пища). В качестве питательных сред были использованы гидролизат молока, мясо-пептонный бульон, ячменное солодовое сусло и сок капусты.

Концентрации биогенных аминов представлены в табл. 2–5 и обобщены на рис. 2а–2г. Изложим основные результаты по каждой из групп нейротивных продуктов.

Катехоламины являются производными аминокислоты тирозина, гидроксилирование которой дает диоксифенилаланин (DOPA) – непосредственный предшественник катехоламинов. Синтез катехоламинов (рис. 2) идет с помощью ферментов тирозингидроксилазы (1), DOPA-декарбоксилазы (2), дофамингидроксилазы (3), фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы (4).

DOPA, представляющая первое звено в катехоламинном пути, способна в организме человека проникать из кишечника в кровоток и далее из кровяного русла в головной мозг, проходя гемато-энцефалический барьер (ГЭБ). С этим связан интерес к DOPA, которая, как показано в

Таблица 2. Содержание биогенных аминов в среде роста МКБ: при выращивании на гидролизате молока

Штамм	NA	DOPA	A	DOPAC	DA	5-НПА	5-НТР	HVA	3MT	5-НТ
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> LLN-E2	243.01	5.6	14.42	32.44	22.98	1.55	15.06	79.29	10.08	15.04
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 125	245.4	2.04	14.7	40.52	18.42	48.75	11.74	3.95	10.8	13.06
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> B-102	156.35	6.47	8.21	41.67	3.15	23.95	6.89	22.01	6.71	4.71
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 36c	251	6.99	13.75	39.85	21.42	0.55	21.72	8.77	11.57	12.68
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 18AK	131.61	10.31	12.75	46.49	5.789	20.47	3.49	24.11	4.94	5.4
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LL-52	165.71	20.08	12.48	32.86	6.31	0	0.06	1.52	10.21	12.69
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LCN-98	243.01	7.03	19.1	13.79	4.4	0.57	7.72	0.11	8.72	7.6
<i>S. salivarius thermophilus</i> CT 14	141.9	31.34	8.76	9.44	6.48	19.19	3.8	19.39	9.18	7.06
<i>S. salivarius thermophilus</i> CT-9	193.35	4.5	13.11	24.64	6.02	0.85	6.44	63.95	7.06	17.16
<i>S. salivarius thermophilus</i> CT 160	210.22	9.33	35.14	36.08	4.78	0.51	2.4	5.69	12.33	20.29
<i>S. salivarius thermophilus</i> TP-20	197.83	117.92	20.23	40.62	20.57	0.25	9.52	49.92	22.08	1.95
<i>L. acidophilus</i> АСТ-41	198.77	15.53	11.94	40.62	24.62	1.4	7.48	0.37	30.91	8.09
<i>L. acidophilus</i> АЕ-5	171.04	0	26.34	28.42	3.77	29.93	2.94	3.88	6.3	18.82
<i>L. acidophilus</i> АД-3	229.19	9.53	20.72	56.44	23.64	34.46	2.05	23.5	12.26	13.7
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> БГ-Г	188.56	8.23	19.03	12.37	21.82	0.18	4.89	44.66	9.59	10.61
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> VG-9	217.23	19.64	16.32	53.95	5.02	36.97	5.15	6.04	17.4	23.11
Среда ГМ (контроль)	10.3	10.0	0.00	5.35	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Штаммовый разброс продуктивности	130–240	0–10	12–25	5–50	3–24	1–48	3–20	20–50	10–30	10–20
Усредненный уровень накопления нейромедиаторов	170–220	5–20	12–25	10–35	5–20	1–30	4–15			

Таблица 3. Содержание биогенных аминов в среде роста МКБ: при выращивании на среде МПБ

Штамм	NA	DOPA	A	DOPAC	DA	5-НПА	5-НТР	HVA	3МТ	5-НТ
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> LLN-E2	40.5	2.32	145.12	26.07	17.37	0.33	39.56	39.07	78	30.31
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 125	19	0.03	73.8	29.4	3.8	0.54	25.83	24.3	101.15	38.16
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 18AK	39/09	29.59	65.98	25.47	19.51	0.79	3.25	41.25	94.85	28.22
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LL-52	121.46	38.74	41.72	14.72	17.3	6.35	3.46	7.18	94.84	36.82
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LCN-98	17.59	1.25	52.39	17.28	16.67	11.4	18.29	289.32	89.92	34.73
<i>S. salivarius thermophilus</i> СТ 14	40.34	32.18	31.24	11.98	6.92	3.52	3.77	2.87	141.62	28.31
<i>S. salivarius thermophilus</i> СТ 9	11.09	2.82	62.71	1.12	3.44	0.99	1.28	2.13	97.45	35.29
<i>S. salivarius thermophilus</i> TP-20	34.52	22.42	75.7	10.01	3.91	1.15	2.89	1.57	119.04	31.4
<i>L. acidophilus</i> АСТ-41	37.54	44.63	45.32	2.22	191.95	0.57	15.35	0.52	121.42	20.78
<i>L. acidophilus</i> АЕ-5	37.75	19.28	66.01	26.01	6.47	2.11	3.93	11.01	98.1	26.22
<i>L. acidophilus</i> АД-3	32.29	22.14	48.76	10.25	105.81	0.51	13.71	6.9	107.76	35.85
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> БГ-G	24.92	0.14	22.72	10.11	11.48	0.03	4.74	40.27	>50.17	10.76
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> VG-9	15.58	27.12	54.05	5.1	88.29	0	0	0.1	>58.48	17.86
Среда МПБ (контроль)	97.2	0.00	0.00	36.8	9.95	53.25	0.00	0.00	0.00	0.00
Штаммовый разброс уровня накопления нейромедиаторов	0	0.5–44	22–150	0	7–180	0	3–40	10–280	50–120	10–38
Усредненный уровень накопления нейромедиаторов	0	20–40	50–140	0	20–100	?	3–20	2–180	50–100	20–35

Таблица 4. Содержание биогенных аминов в среде роста МКБ: при выращивании на среде с сушлом

Штамм	NA	DOPA	A	DOPAC	DA	5-НПА	5-НТР	HVA	3MT	5-НТ
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> LLN-E2	298,4	0	618,9	101,54	3988,22	719,21		47362,85	0	1275,05
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 125	0	0	854,69	113,27	3692,67	971,52		50717,91	0	1075,57
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> B-102	175,28	0	625,57	219,28	4445,88	755		53160,37	0	1413,42
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 36с	0	0	266,75	12,38	2552,2	957,79		40421,07	0	770,85
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 18AK	0	0	451,8	115,66	2670,82	1011,83		45413	0	1019,41
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LL-52	249,04	0	0	327,77	4202,44	474,62		228,14	76,2	1473,72
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LCN-98	0	0	410,38	134,07	389,32	585,97		196,9	118,05	1459,22
<i>S. salivarius thermophilus</i> СТ 14	397,83	0	432,57	62,44	3511,49	680,43		48781,55	0	1269,9
<i>S. salivarius thermophilus</i> СТ 160	55,23	0	543,45	88,2	3736,15	581,9		162,86	32,83	1504,0
<i>S. salivarius thermophilus</i> TP-20	508,03	0	296,74	15,12	3834,12	637,66		350	9,27	1239,66
<i>L. acidophilus</i> АСТ-41	0	0	0	52,33	1908,16	1684,67		601,78	0	1279,44
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> БГ-G	180,25	0	180,25	403,39	4483,62	459,8		200,75	82,93	1581,81
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> VG-9	0	0	715,7	198,24	4856,47	805,61		60170,05	0	1594,6
Среда С (контроль)	0,00	0,00	0,00	0,00	3570,15	329,24	0,00	236,48	88,0	915,29
Штаммовый разброс уровня накопления нейромедиаторов	55–500		180–800	15–400	200–1000	150–1300		100–59000	0–118	100–600
Усредненный уровень накопления нейромедиаторов	180–400		300–700	50–200	200–800	300–1000		300–45000	0–70	300–600

Таблица 5. Содержание биогенных аминов в среде роста МКБ: при выращивании на капустном соке

Штамм	NA	DOPA	A	ДОРАС	DA	5-НША	5-НТР	HVA	3МТ	5-НТ
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> LLN-E2	253.81	0	1911.08	1077.86	1350.36	497.75		11742.12	0	1092.04
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 125	227.21	0	789.36	0	1123.91	442		15628.45	0	364.07
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> B-102	0	0	2885.3	2213.19	1977.54	722.81		15743.62	0	466.17
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 36с	407.79	0	573.02	741.62	984.89	1011.83		1251.09	0	242.72
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 18AK	160.69	0	2034.18	1214.42	1040.39	473.55		14980.68	0	237.32
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LL-52	294.45	0	1955.7	1327.61	1564.99	470.98		11407.5	0	692.09
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LCN-98	110.21	0	21.95	1220.98	1135.25	427.28		12590.7	0	170.65
<i>S. salivarius thermophilus</i> СТ 14	152.97	0	2633.91	1227.11	1581.64	557.28		13653.15	0	286.13
<i>S. salivarius thermophilus</i> СТ 160	235.49	0	1382.36	571.62	1184.61	382.18		9378.46	0	200.48
<i>S. salivarius thermophilus</i> TP-20	268.2	0	1036.87	106.99	718.48	246.22		6783.23	0	222.44
<i>L. acidophilus</i> АСТ-41	0	0	0	597.89	28.35	708.21		12551.36	0	10.75
<i>L. acidophilus</i> АЕ-5	0	0	235.81	511.78	1436.78	122.09		240.79	0	0
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> БГ-G	245.15	0	245.15	363.65	1226.49	380.75		13286.65	41.13	183.17
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> VG-9	202.91	0	1195.36	970.69	1072.27	323.41		8342.61	0	180.73
Среда КС (контроль)	164.24	0.00	2403.01	692.20	2039.09	315.29		16400.63	18.07	353.9
Штаммовый разброс уровня накопления нейромедиаторов	40–240		20–200	150–1500	0	60–800		0	0	100–800
Усредненный уровень накопления нейромедиаторов	40–80		0–10	300–600	0	100–300				

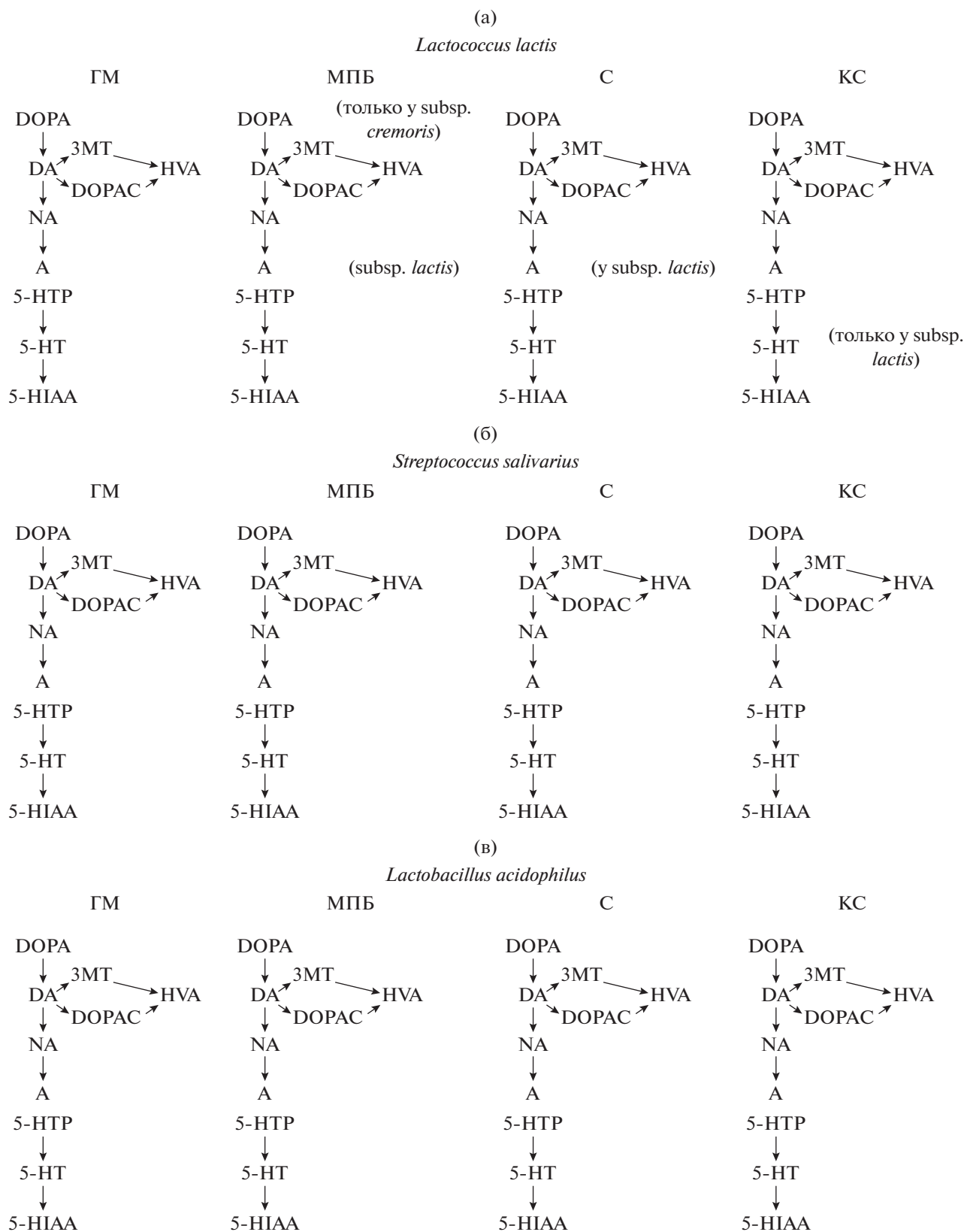


Рис. 2. Уточненные по итогам настоящей работы метаболические пути образования биогенных аминов молочнокислыми бактериями: (а) *Lactococcus lactis*; (б) *Streptococcus salivarius*; (в) *Lactobacillus acidophilus*; (г) *Lactobacillus delbueckii*. Обозначения: дофамин (DA), норадrenalин (NA), адреналин (A), ди-гидрофенилаланин (DOPA), 3-метокситирамин (3-МТ), ди-гидроксифенилуксусная кислота (DOPAC), гомованилиновая кислота (HVA), серотонин (5-НТ), 5-гидрокси-симетилтриптофан (5-НТP), 5-гидроксииндолилуксусная кислота (5-НIAA).

предшествующих работах, синтезируется и выделяется в среду культивирования в микромолярных концентрациях *Escherichia coli* К-12 (Шишов и соавт., 2009), *Bacillus cereus* (Шишов, 2010) и, что представляется особенно важным в контексте настоящей работы, молочнокислыми бактериями тестированных штаммов видов *Lactobacillus helveticus* (причем, наиболее продуктивный штамм НК-1 выделяет до 3.7 мкМ DOPA на среде с гидролизатом молока), *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Oleskin et al., 2014; Олескин и соавт., 2014), а также *L. lactis* subsp. *lactis* (штаммами К-205, F-119 и F-116) (Vodolazov et al., 2018) – в субмикромольных количествах (0.15–0.21 мкМ).

В настоящей работе методом ВЭЖХ с амперометрической детекцией DOPA в концентрации около 10 нМ обнаружена в среде на основе гидролизата молока (ГМ). На этом средовом фоне явно проявились штаммовые различия: в культурах штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LL-52, *S. salivarius* subsp. *thermophilus* СТ14, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* VG-9 наблюдалось некоторое накопление DOPA, хотя не в такой мере, как в тестированных ранее штаммах *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Oleskin et al., 2014; Олескин и соавт., 2014). Наибольшая концентрация DOPA (31.3 нМ) достигнута в культуре *S. salivarius* subsp. *thermophilus* СТ14. В то же время в культурах штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* 125 и *L. acidophilus* АСТ-41 наблюдали резкое снижение концентрации ДОФА по сравнению с уровнем в среде, т.е. поглощение DOPA с вероятной конверсией в дофамин по вышеприведенной схеме.

Мясо-пептонный бульон (МПБ) отличался отсутствием DOPA (до инокуляции тестируемых бактерий). На этом фоне DOPA в концентрациях порядка десятков наномолей содержалась в культурах *L. lactis* subsp. *cremoris* 18АК и LL-52, *S. salivarius* subsp. *thermophilus* (у двух штаммов из трех тестированных), всех штаммов *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* VG-9. Максимальная концентрация DOPA (44.6 нМ) продуцировалась *L. acidophilus* АСТ-41.

Две также использованных в настоящей работе питательных среды (солодовое сусло и капустный сок) не содержали DOPA изначально, и ни один из тестируемых штаммов не выделял DOPA на этих средах.

Дофамин (DA) отсутствовал до инокуляции бактерий в гидролизате молока (ГМ). Он на данной среде выделялся всеми штаммами. Относительно более эффективными продуцентами (выделявшими около 20 нМ DA) были: 1) *L. lactis* subsp. *lactis* (2 штамма из 3), отметим выработку DA другими штаммами того же вида в работе (Vodolazov et al., 2018), причем штамм *L. lactis* subsp. *lactis* 729 также выделял 20 нМ DA в среду; 2) *L. acidophilus* (2 штамма из трех); 3) *L. lactis* subsp. *cremoris* 36с;

4) *S. salivarius* (только штамм TP-20); 5) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* штамм БГ-Г, отметим продукцию примерно таких же концентраций DA (30 нМ) штаммом того же вида при культивации на молоке в работе (Oleskin et al., 2014).

МПБ содержал примерно 10 нМ DA до культивации бактерий. Только три штамма существенно (до уровней примерно 0.1–0.2 мкМ) обогащали среду DA: два штамма *L. acidophilus* (которые выделяли и предшественник DA – DOPA, см. выше) и штамм VG-9 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Наиболее эффективным продуцентом DA на МПБ был штамм АСТ-41 *L. acidophilus*. В то же время, все штаммы *S. salivarius* subsp. *thermophilus* поглощали DA из среды, особенно штаммы СТ 9 и TP 20-, снижавшие уровень DA в среде до 3–4 нМ. Это находит свое возможное объяснение в постоянном соприкосновении данного представителя оральной микробиоты с содержащимися в слюне нейромедиаторами, включая дофамин (Oleskin и соавт., 2020). До уровня 3.8 нМ поглощал из среды DA также штамм 125 *L. lactis* subsp. *lactis*.

Сусло содержало высокие концентрации DA (3.6 мкМ) до инокуляции, и в этих условиях дополнительного синтеза не наблюдалось, более того, 4 из тестированных штаммов активно поглощали DA из среды (своего рода пример принципа Ле Шателье в случае как недостатка – ГМ и МПБ, так и избытка DA), особенно штамм *L. lactis* subsp. *cremoris* LCN-98, снижавший концентрацию DA в среде до 0.39 мкМ.

Капустный сок также изначально содержал высокие концентрации DA (2 мкМ), и в данной среде поглощение DA осуществлялась всеми штаммами, причем наиболее активно штаммом *L. acidophilus* АСТ-41, снижавший уровень DA в среде до 28 нМ.

Норадrenalин (NA), продукт гидроксирования DA по боковой цепи, содержался в концентрации около 10 нМ в ГМ. Конверсия DOPA → DA → NA функционировала, судя по повышению уровня NA в среде до концентраций около 0.2 мкМ, у всех тестированных бактериальных штаммов. Следует отметить, что синтез субмикромольных количеств NA на гидролизате молока всеми тестированными штаммами лактобацилл, кроме *Lactobacillus casei* К₃III₂₄, показан ранее (Oleskin и соавт., 2014; Oleskin et al., 2014), но среди изученных в работе (Vodolazov et al., 2018) лактококков, статистически достоверный синтез NA (более 1 мкМ) детектирован лишь у штамма *L. lactis* subsp. *lactis* F-116.

МПБ изначально содержал более высокую (около 100 нМ) концентрацию NA, и в этих условиях принцип Ле Шателье работал в сторону поглощения NA из среды всеми штаммами, кроме

L. lactis subsp. *cremoris* LL-52, существенно не менявшего концентрацию NA.

Сусло не содержало NA, побуждая многие штаммы бактерий (кроме *L. lactis* subsp. *cremoris* 36с) реализовать отмеченный принцип в сторону повышения уровня NA до концентраций от 55 нМ (*S. salivarius thermophilus* СТ 160) до максимально 0.5 мкМ (тот же вид, штамм TP 20); этот факт наглядно демонстрирует штаммовую специфичность уровней синтеза нейроактивных соединений, которая имеет серьезные биотехнологические последствия (см. раздел “Обсуждение”).

В капустном соке, имеющем изначально субмикромольный уровень NA (0.16 мкМ), как и в МПБ, наблюдали поглощение NA только у трех штаммов (виды *L. acidophilus* и *L. lactis* subsp. *lactis*), которые снизили концентрацию NA до нуля. При этом остальные тестированные штаммы не снижали уровня NA в среде. Один штамм (*L. lactis* subsp. *cremoris* 36с) даже повысил уровень NA до 0.4 мкМ. Вероятное объяснение кроется в особых свойствах растительных соков, которые активно связывают нейромедиаторы, маскируя их для микроорганизмов и, тем самым, препятствуя запуску программ поддержания гомеостаза.

Адреналин (А) синтезировался в низких концентрациях (10–30 нМ) всеми изученными штаммами при культивировании на ГМ, который не содержал А до инокуляции; при росте на МПБ и сусле (которые также не содержали А) наблюдались более высокие концентрации А, достигавшие максимально 0.15 мкМ на МПБ и 0.85 мкМ на сусле в случае штаммов подвида *L. lactis* subsp. *lactis* (штаммы LLN-E2 и 125 соответственно).

Капустный сок содержал много А (2.4 мкМ), и, следуя принципу Ле Шателье, все штаммы, кроме *S. salivarius thermophilus* СТ 14, поглощали А из среды с разной степенью активности. В случае штамма *L. acidophilus* АСТ-41 в среде совсем не оставалось А.

Распад катехоламинов идет под действием двух типов ферментов: моноаминоксидаз (МАО) и катехол-О-метилтрансфераз (КОМТ). Превращение DA под воздействием МАО дает дигидроксифенилукусусную кислоту (DOPAC), которая в концентрациях порядка десятков нМ присутствовала в культурах всех тестированных в настоящей работе штаммов при росте на ГМ, содержащем изначально 5 нМ DOPAC.

Дополнительного выделения DOPAC в среду, однако, не наблюдалось на МПБ, где уже до инокуляции содержалось несколько больше (37 нМ) DOPAC, что, возможно, также объяснимо с позиций принципа Ле Шателье.

DOPAC также представляется применимым к культурам на сусле, где в полном отсутствии среднего DOPAC наблюдался его активный синтез до концентраций в десятки или сотни нМ (“чем-

пионом” выступала культура *L. lactis* subsp. *cremoris* LL-52, выделившая 0.33 мкМ DOPAC; она также единственная из всех тестированных культур синтезировала небольшое дополнительное количество DA на фоне его 3.6 мкМ в сусле).

Наконец, на капустном соке многие штаммы дополнительно обогащали среду DOPAC, несмотря на его изначально высокую концентрацию (0.69 мкМ), особенно штамм *L. lactis* subsp. *lactis* В-102, в культуре которого содержалось 2.2 мкМ DOPAC. Как уже отмечено выше, капустный сок связывает нейромедиаторы и их метаболиты, поэтому гомеостазные механизмы бактерий могут не распознавать имеющиеся в связанном виде концентрации DOPAC. Интересно, что другой испытанный штамм вида *L. lactis* subsp. *lactis* – штамм 125 – был в числе немногих штаммов, поглощавших DOPAC, причем именно данный штамм снижал концентрацию DOPAC в среде до нуля. Эти различия штаммов одного вида показывают биотехнологический потенциал тестированных видов как биотехнологических продуцентов, “биофабрик нейромедиаторов” (см. раздел “Обсуждение”), ибо причинение незначительных изменений – на уровне штаммов одного вида – оказывается достаточным для резкого повышения выхода целевого нейромедиатора.

Отметим, что аналогичная логика на базе принципа Ле Шателье приложима к ранее полученным данным о синтезе DOPAC лактобациллами. В присутствии всех тестированных бактериальных штаммов, концентрации DOPAC возрастали в 3–5 раз на молоке. Напротив, культивация штаммов лактобацилл на панкреатическом гидролизате молока, изначально содержавшем много DOPAC (~1 мкМ), вела к снижению концентрации DOPAC в 1.5–10 раз (Oleskin et al., 2014).

Действие фермента КОМТ на DA дает 3-метилтирамин (3-МТ). Все использованные в настоящей работе штаммы, выращенные на ГМ и МПБ имели КОМТ: они обогащали лишенные 3-МТ среды примерно 10 нМ (на ГМ) или порядка 100 нМ (на МПБ) этого соединения.

Иная картина наблюдалась на сусле и капустном соке с изначальной концентрацией 3-МТ 88 и 18 нМ соответственно: все испытанные штаммы, кроме двух штаммов подвида *L. lactis* subsp. *cremoris* и штамма *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* БГ-Г на сусле и только штамма БГ-Г на капустном соке, активно поглощали 3-МТ, причем 8 штаммов снижали уровень 3-МТ до нуля на сусле и все штаммы (кроме БГ-Г) на капустном соке. Капустный сок, по-видимому, не был способен связывать 3-МТ, другие нейроактивные агенты.

Оба отмеченных метаболита дофамина – DOPAC и 3-МТ далее энзиматически превращаются в финальный продукт пути катехоламинов – го-

мованилиновую кислоту (HVA). Она отсутствовала до инокуляции в средах ГМ и МПБ. При концентрационном разбросе от 0.1 до 290 нМ она выделялась в эти среды тестируемыми бактериальными штаммами.

Трудно объяснить явление “сверхсинтеза” некоторыми штаммами HVA на сусле (236 нМ до инокуляции), где штаммы подвида *L. lactis* subsp. *lactis* и штамм *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* VG-9 продуцировали 47–60 мкМ HVA. В биотехнологическом плане это кандидаты на роль биофабрик нейромедиаторов.

Однако на капустном соке (16 мкМ до инокуляции) активно работали механизмы поглощения HVA, особенно у штамма *L. acidophilus* AE-5, снижавшего уровень HVA в среде до 0.24 мкМ.

Серотонин, его предшественник и продукт метаболизма. Серотонин (5-гидрокситриптамин), 5-НТ, относится к классу триптамина. Он образуется в животном организме из аминокислоты триптофана путем ее последовательного ферментативного 5-гидроксилирования и последующего декарбоксилирования получившегося 5-гидрокситриптофана. В растительных тканях описан альтернативный путь синтеза 5-НТ по принципу: триптофан → триптамин → 5-НТ (Рощина, 1991).

5-Гидрокситриптофан (5-НТР). В ранее проведенных исследованиях на лактобациллах и лактококках не удалось получить достоверные данные о синтезе 5-НТР этими бактериями (Oleskin et al., 2014; Vodolazov et al., 2018). В настоящей работе на средах ГМ и МПБ (не содержащих 5-НТР) наблюдали выделение в среду небольших количеств (1–40 нМ) 5-НТР всеми изученными штаммами. Возможно, бактерии синтезировали большие количества 5-НТР и частично трансформировали его в 5-НТ и далее в продукт его деградации (5-НИАА, см. ниже). Исключение представлял штамм *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* VG-9, при росте которого на МПБ не обнаружено достоверное содержание 5-НТР.

Серотонин (5-НТ), непосредственный продукт 5-НТР, у всех тестируемых культур присутствовал примерно в том же диапазоне концентраций (2–30 нМ), что его предшественник, на средах ГМ и МПБ, исходно лишенных 5-НТ.

Однако способность к синтезу пусть и невысоких количеств серотонина не универсальна в микробном мире. Предшествующие исследования говорят о штаммоспецифическом характере этой способности. Из исследованных ранее видов и штаммов лактобацилл, лишь штамм *Lactobacillus helveticus* 100аш выделял в среду 5-НТ, зато в сравнительно высоких концентрациях (0.4–0.5 мкМ) (Oleskin et al., 2014). Из длинного списка изученных методом ВЭЖХ прокариот наличие 5-НТ в биомассе было показано только у грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* и *Staphylococcus*

aureus в концентрациях порядка 1 мкМ (Цавкелова и соавт., 2000).

Сусли и капустный сок до инокуляции содержали субмикромольные концентрации 5-НТ (0.92 и 0.35 мкМ соответственно). На сусле мы не детектировали достоверного изменения средовых концентраций 5-НТ при культивировании всех тестируемых штаммов. Большинство штаммов при культивировании на капустном соке также существенно не влияли на эти средовые концентрации 5-НТ, кроме штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* LLN-E2 и *L. lactis* subsp. *cremoris* LL-52, обогащавших среду субмикромольными количествами 5-НТ, а также обоих исследованных штаммов *L. acidophilus*, активно поглощавших 5-НТ из среды.

5-Гидроксииндолилуксусная кислота (5-НИАА). Ферментативное окисление серотонина с помощью MAO приводит к формированию 5-гидроксииндолилуксусной кислоты (5-НИАА). Аналогично самому 5-НТ, 5-НИАА при культивировании тестируемых в данной работе штаммов на ГМ и МПБ образуется в этих средах в низких (наномольных) концентрациях (исключение представляли штамм *L. lactis* subsp. *cremoris* LL-52 на ГМ и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* VG-9 на МПБ, вовсе не выделявшие 5-НТ в среду). При культивировании на исходно богатых 5-НИАА средах — сусле и капустном соке — мы наблюдали дальнейшее накопление 5-НИАА в них: всеми штаммами в случае сусли и большинством (кроме 4 штаммов) на капустном соке.

В целом, полученные данные свидетельствуют о функционировании у изученных бактериальных видов и штаммов “животных” путей синтеза и деградации катехоламинов и индоламина (серотонина).

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящая работа служит продолжением ряда исследований микробного синтеза нейроактивных соединений, в частности, биогенных аминов (БА). Ранее показано, что заквасочные штаммы лактобацилл (*Lactobacillus helveticus* 100аш, *L. helveticus* NK-1, *L. casei* K31124 и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) различались уровнем накопления нейромедиаторов: DA синтезировали только *L. helveticus* NK-1 и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; все штаммы, кроме *L. casei* K31124, обогащали среды NA. Штаммы также образовывали DOPA. Серотонин детектирован в культуральной жидкости *L. helveticus* 100аш, но не у остальных тестируемых в цитируемых работах лактобацилл (Олескин и соавт., 2014; Oleskin et al., 2014). В литературе представлены данные о синтезе 5-НТ *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MG 1363, *L. lactis* subsp. *lactis* IL 1403, *Lactobacillus plantarum* NCFB2392 (Özogul et al., 2012).

Значение настоящего исследования на фоне более ранних авторских и литературных данных состоит, во-первых, в том, что у 13 штаммов 5 видов прокариот, взаимодействующих с человеческим организмом в ролях симбионтов и/или пробиотиков, прослежены пути синтеза и деградации 1) катехоламинов и 2) серотонина. В целом, эти энзиматические пути соответствуют классическим путям, реализуемым в организмах животных и человека. Для катехоламинов они включают этапы синтеза: $DOPA \rightarrow DAA \rightarrow NA \rightarrow A$, а деградация DA реализуется в двух вариантах: $DA \rightarrow DOPAC \rightarrow HVA$ и $DA \rightarrow 3\text{-MT} \rightarrow HVA$ (рис. 1 и 2).

Во-вторых, в результате исследования показана зависимость уровня накопления нейроактивных соединений от состава питательной среды. В частности, на гидролизате молока, содержащем, в отличие от других сред, DA, выражены как его синтез из предшественника DOPA, так и дезаминирование с образованием DOPAC. На МПБ, напротив, выражен путь превращения DA в 3-МТ, а затем в HVA. Обогащение среды МПБ NA подавляло его синтез, в противоположность этому был очень выражен синтез NA при росте бактерий на ГМ. Выше мы уже интерпретировали этот факт как свидетельство реализации принципа Ле Шателье и стремление системы сохранить состояние гомеостаза. При этом на МПБ отмечено большее накопление A, чем на ГМ. Путь синтеза нейробиотиков из L-триптофана был более выражен при росте бактерий на МПБ, где основным продуктом был 5-НТ, тогда как на молоке отмечено его дезаминирование в 5-НИАА. Для большинства штаммов *L. lactis* subsp. *cremoris* на сусле также в значительной степени выражен путь $DA \rightarrow A$ и путь $DA \rightarrow DOPAC$, но это не всегда приводит к накоплению в среде HVA. Однако во всех случаях при росте на сусле количество образовавшихся нейромедиаторов было значительно (на порядок) больше чем при культивировании на ГМ и МПБ.

В цепи нейроактивных соединений, берущих начало от триптофана, при культивировании МКБ на сусле, также отмечен интенсивный синтез, в результате которого содержание серотонина в среде значительно превышает концентрацию этого нейромедиатора при использовании в качестве среды ГМ и МПБ. Количество серотонина и продукта его распада 5-НИАА в сусле на порядок выше, чем в ГМ и МПБ, причем это характерно для всех исследованных штаммов, за исключением одного штамма *L. lactis* subsp. *cremoris* 18AK, при культивировании которого в среде снижалось содержание 5-НИАА. При культивировании этого штамма на капустном соке, характеризующемся высоким содержанием соединений типа DA, A, HVA, 5-НТ, количество этих соединений в случае DA и HVA на два порядка превышало содержание этих соединений в ГМ и МПБ.

В-третьих, в настоящей работе рельефно выступила зависимость образующихся соединений от таксономической принадлежности МКБ. Так, для *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* наблюдался значительный прирост DA и продукта его распада DOPAC, а также накопление A в количествах, значительно превышающих его образование при выращивании на МПБ и ГМ. При культивировании *L. acidophilus* происходило поглощение DA из среды, синтез A отсутствовал. Поглощение DA сопровождалось увеличением количества продуктов его распада DOPAC и HVA. *S. salivarius* при культивировании на сусле характеризовался высокой активностью синтетических процессов в цепи $DA \rightarrow NA \rightarrow A$. Количество образовавшихся БА было значительно больше на сусле, чем при культивировании на ГМ и МПБ. *L. lactis* также проявлял значительно более высокую синтетическую активность в цепи $DA \rightarrow A$ при выращивании на сусле в сравнении с ГМ и МПБ. Также необходимо отметить выраженный путь $DA \rightarrow DOPAC \rightarrow HVA$, который приводит к накоплению в среде больших количеств HVA.

В-четвертых, в рамках понятия “таксономическая принадлежность” следует особо очертить роль штаммовых различий. Так, два штамма одного и того же вида *S. salivarius thermophilus* СТ 160 и ТР 20- отличались по выходу NA на одной и той же среде (сусле) в ~10 раз (55 и 508 нМ). При культивировании на капустном соке штаммы *L. lactis* subsp. *lactis* демонстрировали диаметрально противоположные активности – штамм В-102 повышал уровень средового DOPAC на примерно 1.5 мкМ, а штамм 125 снижал этот уровень до нуля. Подобные факты имеют биотехнологический потенциал. Селекция на штаммовом уровне или сравнительно небольшое по объему генноинженерное вмешательство могут резко поднять эффективность синтеза интересующих нас продуктов, к числу которых, несомненно, принадлежат имеющие многочисленные применения в медицине и психиатрии нейроактивные соединения.

Понятно, что потенциально многообещающая идея превращения продуцирующих нейромедиаторы микроорганизмов в “биофабрики” нейромедиаторов (их предшественников, метаболитов, агонистов) наталкивается на проблему концентрации микробных нейромедиаторов: в большинстве случаев они слишком низки для биотехнологического производства (Олескин и соавт., 2020). В наших опытах речь идет пока лишь о микромолях или даже наномолях нейроактивных соединений. Тем не менее, современные эффективные методы селекции, в том числе с использованием генетической инженерии в современной биотехнологии, в принципе, дают нам основания ожидать создания суперпродуцентов ценных нейромедиаторов (и родственных биологически активных соединений).

Успешные примеры создания подобных супер-продуцентов касаются нейроактивных аминокислот. Так, поиски эффективных продуцентов γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и оптимизация условий их культивирования привели к созданию суперпродуцентов этой аминокислоты (Олескин и соавт., 2020; Oleskin, Shenderov, 2020). Высокопродуктивными оказались стартерные культуры лактобацилл и бифидобактерий, изолированные из ЖКТ людей, проживающих в Центральном регионе России. Штамм *Bifidobacterium adolescentis* 150 продуцировал до 5.6 г/л ГАМК, что соответствует примерно 50 мМ ГАМК (Юнес, 2017).

Среди тестированных в настоящей работе штаммов выделяются продуцирующие субмикромольные (>0.1 мкМ) концентрации нейромедиаторов на определенных средах. Например, в плане синтеза NA таковыми были все выращенные на гидролизате молока штаммы *L. lactis* subsp. *lactis* (при почти двукратных межштаммовых различиях), что полностью согласуется с ранее полученными данными для других штаммов того же подвида (где “чемпионом” был штамм F-116 с выходом 1.9 мкМ; Vodolazov et al., 2018). Два из трех исследованных в данной работе штаммы *L. acidophilus* продуцировали более 0.1 мкМ дофамина на среде МПБ. Подобные субмикромольные концентрации являются физиологически активными как для организма человека (в случае использования соответствующих МКБ как пробиотиков), так и внутри микробного сообщества.

Необходимо отметить, что многие нейромедиаторы одновременно функционируют в качестве коммуникативных сигналов у микроорганизмов. “Общение” между микробными клетками посредством нейромедиаторов носит двусторонний характер – они и продуцируют эти сигналы, и реагируют на них. Важно подчеркнуть, что они влияют на рост различных представителей симбиотической и паразитической микробиоты организма человека. Катехоламины стимулируют также рост симбиотических штаммов *E. coli* (Freestone et al., 2007; Анучин и соавт., 2008) и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Маликина и соавт., 2010; Oleskin et al., 2010).

В то же время нейромедиаторы стимулируют рост и, в некоторых системах, образование токсинов у многих патогенных микроорганизмов, например, *Yersinia enterocolitica*, энтеротоксических, энтерогеморрагических штаммов *E. coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, *B. bronchiseptica*, *Aeromonas hydrophila*, *Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* (Олескин и соавт., 2016, 2020; Oleskin, Shenderov, 2020). Некоторые из нейромедиаторов распознаются микроорганизмами, как сигналы QS-систем. Этим объясняются механизмы стимуляторного действия катехоламинов на рост,

формирование биопленок и другие процессы у микроорганизмов, у которых обнаружены функциональные аналоги аденорецепторов, такие как киназы QseC и QseE у *E. coli* (Clarke et al., 2006; Hughes et al., 2009). Серотонин также выступает как сигнал одной из QS-систем *P. aeruginosa* (Knecht et al., 2016).

Дальнейшее рассмотрение широчайшего спектра сигнальных и регуляторных эффектов нейроактивных соединений в микробном мире лежит за пределами настоящей экспериментальной работы (Олескин и соавт., 2016, 2020; Oleskin et al., 2017; Oleskin, Shenderov, 2019, 2020).

Весьма важным аспектом микробной продукции нейроактивных соединений является воздействие производимых микробиотой нейроактивных соединений на человеческий организм, в особенности на его нервную систему. “Мы зависим от множества важнейших нейрохимических факторов, производимых микробами” (Dinan et al., 2015). Так, серотонергическая (зависимая от нейромедиатора серотонина) система головного мозга, ведающая многими аспектами эмоционального поведения, не может развиваться в полной мере при отсутствии микробиоты (Clarke et al., 2013). Из числа продуцируемых микроорганизмами нейрохимических факторов особое значение имеют те вещества, которые способны проходить через два барьера – барьер между кишечной слизистистой и кровотоком и барьер между кровотоком и мозгом (гемато-энцефалический барьер, ГЭБ).

Что касается детектированных в настоящей работе нейроактивных соединений, то способностью проникать через указанные барьеры обладает DOPA. Это представляет интерес в рамках понимания оси микробиота–кишечник–мозг, ибо вырабатывающие DOPA микроорганизмы, как пробиотические (лактобациллы), так и потенциально патогенные, включая *Bacillus cereus* (Шишов, 2010; Oleskin et al., 2010), могут вызывать у контактирующего с ними индивида состояние эйфории в результате превращения микробной DOPA в дофамин в мозге. В нашем исследовании максимальные (субмикромольные) концентрации DOPA получены в случае штамма *S. salivarius thermophilus* TP20- на гидролизате молока. Необходимо отметить, что *S. salivarius thermophilus* рассматриваются как условные патогены. При этом они являются важными пробиотиками для гигиены ротовой полости (предотвращения инфекций), а также для поддержания иммунитета против *Staphylococcus pyogenes*.

Другие, неспособные преодолеть ГЭБ, нейроактивные вещества – катехоламины, серотонин, тем не менее, могут оказывать важное локальное действие на уровне желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), если привносятся в организм с пробиотиками или вырабатываются резидентной микро-

биотой. Подчеркнем, что уже наномолярные и тем более субмикромольные концентрации NA или DA имеют физиологическое значение и сопоставимы с концентрациями нейромедиаторов в физиологических жидкостях организма. В частности, кровь человека в среднем содержит 1–10 нМ DA (в свободной форме, есть также 0.2–0.3 мкМ сульфоконъюгированного DA) и примерно 0.1 мкМ NA, а также 0.5–1.5 мкМ 5-HT (Eldrup, 2004; McPherson, Pincus, 2011).

В кишечнике микробные нейромедиаторы прямо взаимодействуют с содержащей около 0.5 млн нервных клеток энтеральной нервной системой (ЭНС), которая взаимодействует с головным мозгом посредством блуждающего нерва (nervus vagus). Микробные нейромедиаторы действуют на центральную нервную систему также посредством иммунной системы, которая вырабатывает нейроактивные факторы. Иммунная система находится под непосредственным влиянием химических продуктов кишечной микробиоты, поскольку в стенке кишечника расположен ее важный отдел (gut-associated lymphoid tissue, GALT). В частности, катехоламины способны оказывать иммуносупрессорное и противовоспалительное действие, хотя их эффекты на иммунную систему носят сложный и не до конца изученный характер (Олескин и соавт., 2020; Oleskin et al., 2017; Oleskin, Shenderov, 2020).

Подводя итог полученным в настоящей работе результатам, мы можем констатировать, что симбиотические и пробиотические штаммы, выращенные на органических средах в условиях, приближенных к физиологическим, способны продуцировать физиологически значимые концентрации важнейших нейромедиаторов, их предшественников и метаболитов. Последние должны оказывать существенное влияние на человеческий организм с его иммунной и нервной системами, а также на населяющую организм микробиоту в норме и патологии. Представленные данные имеют определенный биотехнологический потенциал, поскольку создают предпосылки для создания суперпродуцентов нейроактивных соединений (“микробных биофабрик”).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансировании по госзаданию ФИЦ Биотехнологии РАН, а также в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анучин А.М., Чувелев Д.И., Кировская Т.А., Олескин А.В. Действие нейромедиаторных моноаминов на ростовые характеристики *Escherichia coli* K-12 // Микробиология. 2008. Т. 77. С. 758–765.
- Anuchin A.M., Chuvelev D.I., Kirovskaya T.A., Oleskin A.V. Effects of monoamine neuromediators on the growth-related variables of *Escherichia coli* K-12 // Microbiology (Moscow). 2008. V. 77. P. 674–680.
- Жиленкова О.Г., Шендеров Б.А., Клодт П.М., Кудрин В.С., Олескин А.В. Молочные продукты как потенциальный источник соединений, модифицирующих поведение потребителей // Молочная промышленность. 2013. № 10. С. 16–19.
- Маликина К.Д., Шишов В.И., Чувелев Д.И., Кудрин В.С., Олескин А.В. Регуляторная роль нейромедиаторных аминов в клетках *Saccharomyces cerevisiae* // Прикл. биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. С. 672–677.
- Malikina K.D., Shishov V.A., Chuvelev D.I., Kudrin V.S., Oleskin A.V. The regulatory role of monoamine neuromediators in *Saccharomyces cerevisiae* cells // Appl. Biochem. Microbiol. 2010. V. 46. P. 620–626.
- Олескин А.В., Кировская Т.А., Ботвинко И.В., Лысак Л.В. Действие серотонина (5-окситриптамина) на рост и дифференциацию микроорганизмов // Микробиология. 1998. Т. 67. С. 306–311.
- Oleskin A.V., Kirovskaya T.A., Botvinko I.V., Lysak L.V. Effects of serotonin (5-hydroxytryptamine) on the growth and differentiation of microorganisms // Microbiology (Moscow). 1998. V. 67. P. 251–257.
- Олескин А.В., Жиленкова О.Г., Шендеров Б.А., Амерханова А.М., Кудрин В.С., Клодт П.М. Заквасочные культуры лактобацилл – продуценты нейромедиаторов: биогенных аминов и аминокислот // Молочная промышленность. 2014. № 9. С. 42–43.
- Олескин А.В., Эль-Регистан Г.И., Шендеров Б.А. Межмикробные химические взаимодействия и диалог микробиота–хозяин: роль нейромедиаторов // Микробиология. 2016. Т. 85. С. 3–25.
- Oleskin A.V., El'-Registan G.I., Shenderov B.A. Role of neuromediators in the functioning of the human microbiota: “business talks” among microorganisms and the microbiota–host dialogue // Microbiology (Moscow). 2016. V. 85. P. 1–22.
- Олескин А.В., Шендеров Б.А., Роговский В.С. Социальность микроорганизмов и взаимоотношения в системе микробиота–хозяин: роль нейромедиаторов. М.: Изд-во МГУ, 2020. 288 с.
- Рощина В.В. Биомедиаторы в растениях. Ацетилхолин и биогенные амины. Пушино: Биологический Центр АН СССР, 1991. 192 с.

- Tenner E.Z., Pereverzeva G.I. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов вузов. 5-е изд. М.: Дрофа, 2004. 256 с.
- Цавкелова Е.А., Ботвинко И.Б., Кудрин В.С., Олескин А.В. Детекция нейромедиаторных аминов у микроорганизмов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Докл. Росс. Акад. Наук. 2000. Т. 372. С. 840–842.
- Шендеров Б.А. Микробная экология и ее роль в поддержании здоровья // Метаморфозы. 2014а. № 5. С. 72–80.
- Шишов В.А., Кировская Т.А., Кудрин В.С., Олескин А.В. Нейромедиаторные амины, их предшественники и продукты окисления в биомассе и супернатанте культуры *Escherichia coli* K-12 // Прикл. биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. С. 550–554.
- Shishov V.A., Kirovskaya T.A., Kudrin V.S., Oleskin A.V. Amine neuromediators, their precursors, and oxidation products in the culture of *Escherichia coli* K-12 // Appl. Biochem. Microbiol. 2009. V. 45. P. 489–493.
- Шишов В.А. Биогенные амины в динамике роста микроорганизмов. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2010.
- Юнес Р.А. Адаптивное значение для человека бактерий рода *Lactobacillus* и рода *Bifidobacterium*. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: РУДН, 2017.
- Barbara G., Stanghellini V., Brandi G., Cremon C., Nardo G., Giorgio R., Corinaldesi R. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease // Am. J. Gastroenterol. 2005. V. 100. P. 2560–2568.
- Bercik P., Park A.J., Sinclair D., Khoshdel A., Lu J., Huang X., Deng Y., Blennerhassett A., Fahnstock M., Moine D. et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication // Neurogastroenterol. Motile. 2011. V. 23. P. 1132–1139.
- Bravo J.A., Forsythe P., Chew M.V., Cryan J.F. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. P. 16050–16055.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108>
- Carabottia M., Scirocco A., Maselli M.A., Severia C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems // Ann. Gastroenterol. 2015. V. 28. P. 203–209.
- Clarke M.B., Hughe D.T., Zhu C., Boedeker E.C., Sperandio V. The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 10420–10425.
- Clarke G., Grenham S., Scully P., Fitzgerald P., Moloney R.D., Shanahan F., Dinan T.G., Cryan J.F. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner // Mol. Psychiatry. 2013. V. 18. P. 666–673.
- Dhakar R., Bajpai V.K., Baek K.H. Production of GABA (γ -aminobutyric acid) by microorganisms: a review // Braz. J. Microbiol. 2012. V. 43. P. 1230–1241.
- Dinan T.G., Stilling R.M., Stanton C., Cryan J.F. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior // J. Psych. Res. 2015. V. 63. P. 1–9.
- Eldrup E. Significance and origin of DOPA, DOPAC, and dopamine sulfate in plasma tissue, and cerebrospinal fluid // Dan. Med. Bull. 2004. V. 31. P. 34–62.
- Foster J.A., McVey Neufeld K.A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression // Trends Neurosci. 2013. V. 36. P. 305–312.
- Foster J.A., Lyte M., Meyer E., Cryan J.F. Gut microbiota and brain function: an evolving field in neuroscience // Int. J. Neuropsychopharmacol. 2016. V. 19.
<https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv114>
- Freestone P.P.E., Haigh R.D., Lyte M. Blockade of catecholamine-induced growth by adrenergic and dopaminergic receptor antagonists in *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* // BMC Microbiol. 2007. V. 7.
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-8>
- Gordon J.I. Honor thy gut symbionts redux // Science. 2012. V. 336. P. 1251–1253.
- Heijtz R.D., Wang S., Anuar F., Qian Y., Bjorkholm B., Samuelsson A., Hibberd M.L., Forsberg H., Pettersson S. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. P. 3047–3052.
- Hoffmann F. La Roche Ltd Roche Biochemical Pathways, 4th edn. Part 1: Metabolic Pathways 01.01.2014 // <http://biochemical-pathways.com/#/map/1>
- Hughes D.T., Clarke M.B., Yamamoto K., Rasko D.A., Sperandio V. The QseC adrenergic signaling cascade in enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) // PLoS Pathogen. 2009. V. 5. e1000553.
- Knecht L.D., O'Connor G.O., Mittal R., Liu X.Z., Daftarian P., Deo S.K., Daunert S. Serotonin activates bacterial quorum sensing and enhances the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in the host // EBioMedicine. 2016. V. 9. P. 161–169.
- Lim H.S., Cha I.-T., Lee H., Seo M.-J. Optimization of γ -aminobutyric acid production by *Enterococcus faecium* JK29 isolated from a traditional fermented foods // Microbiol. Biotechnol. Lett. 2016. V. 44. P. 26–33.
- McPherson R.A., Pincus M.R. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011.
- Naseribafrouei A., Hestad K., Avershina E., Sekelja M., Linlokken A., Wilson R., Rudi K. Correlation between the human fecal microbiota and depression // Neurogastroenterol. Motil. 2014. V. 26. P. 1155–1162.
- Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J., Burcelin R., Gibson G., Jia W., Pettersson S. Host-gut microbiota metabolic interactions // Science. 2012. V. 336. P. 1262–1267.
- Oleskin A.V., Malikina K.D., Shishov V.A. Symbiotic biofilms and brain neurochemistry. Hauppauge, N.Y.: Nova Science Publ., 2010.
- Oleskin A.V., Zhilenkova O.G., Shenderov B.A., Amerhanova A.M., Kudrin V.S., Klodt P.M. Lactic-acid bacteria supplement fermented dairy products with human behavior-modifying neuroactive compounds // J. Pharm. Nutrit. Sci. 2014. V. 4. P. 199–206.
- Oleskin A.V., Shenderov B.A., Rogovsky V.S. Role of neurochemicals in the interaction between the microbiota and the immune and the nervous system of the host organism // Probiot. Antimicrob. Proteins. 2017. V. 9. P. 215–234.
- Oleskin A.V., Shenderov B.A. Probiotics and psychobiotics: the role of microbial neurochemicals // Probiot. Antimicrob. Proteins. 2019. V. 11. P. 1071–1085.
- Oleskin A.V., Shenderov B.A. Microbial Communication and Microbiota-Host Interactivity: Neurophysiological,

Biotechnological, and Biopolitical Implications. Hauppauge (N.Y.): Nova Science Publishers, 2020.

Özogul F. Production of biogenic amines by *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Hafnia alvii* using a rapid HPLC method // Europ. Food Res. Technol. 2004. V. 219. P. 465–469.

Özogul F., Kuley E., Özogul Y., Özogul I. The function of lactic acid bacteria on biogenic amines production by food-borne pathogens in arginine decarboxylase broth // Food Sci. Technol. Res. 2012. V. 18. P. 795–804.

Ravel J., Gajer P., Abdo Z., Schneider G.M., Koenig S.S.K., McCulle S.L., Karlebach Sh., Gorle R., Russell J., Tacket C.C., Brotman R.M., Davis C.C., Ault K., Peralta L., Forney L. Vaginal microbiome of reproductive-age women // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. Suppl. 1. P. 4680–4687.

Siragusa S., Angelis M.D., Cagno R.D., Rizzello C.G., Coda R., Gobbetti M. Synthesis of γ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses // Appl. Environ. Microbiol. 2007. V. 73. P. 7283–7290.

Tsigos C., Chrousos G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // J. Psychosom. Res. 2002. V. 53. P. 865–871.

Vodolazov I.R., Dbar S.D., Oleskin A.V., Stoyanova L.G. Exogenous and endogenous neuroactive biogenic amines // Appl. Biochem. Microbiol. 2018. V. 54. P. 603–610.

Zhao A., Hu X., Pan L., Wang X. Isolation and characterization of a gamma-aminobutyric acid producing strain *Lactobacillus buchneri* WPZ001 that could efficiently utilize xylose and corncob hydrolysate // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. V. 99. P. 3191–3200.

Synthesis of Biogenic Amines by Lactic Acid Bacteria on Media of Plant and Animal Origin

E. F. Shanenko¹, Yu. A. Nikolaev², *, V. I. Ganina¹, I. N. Serykh¹, A. V. Oleskin³, T. G. Mukhamedzhanova¹, N. V. Grigorieva², and G. I. El'-Registan²

¹Moscow State University for Food Industry, Moscow, 125080 Russia

²Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

³Department of General Ecology and Hydrobiology, Biological Faculty, Moscow State University, Moscow 119234 Russia

*e-mail: nikolaevya@mail.ru

Received March 14, 2022; revised March 17, 2022; accepted March 22, 2022

Abstract—The intestinal microbiota is known to perform an important role in terms of the host organism's metabolism and life-sustaining activities. One of the main mechanisms of the interactions between microbiota and the human organism is based upon biogenic amines (BAs). Therefore, BA synthesis by lactic acid bacteria (LABs) is extensively researched currently, and the BA-forming capacity is considered an essential feature of LAB probiotics. The present work is concerned with BA production by 13 strains of three LAB species that were isolated from various habitats. They perform diverse ecophysiological functions and were grown on four different media. The media were characterized by different initial BA concentrations. It was established that the LABs could both consume BAs present in the medium and synthesize them *de novo* during their growth. The data should be taken into account while developing new probiotics. Based on the results of this work, a modified version of BA biosynthesis pathways by LABs was suggested. This work also deals with the implications of the data obtained in terms of the involvement of microbially produced neuroactive compounds in the functioning of the microbial consortium of the human organism and the operation of human nervous and the immune systems. Prospects for developing “neurotransmitters-producing biofactories” on the basis of the tested symbiotic and probiotic microorganisms are discussed.

Keywords: lactic acid bacteria, biogenic amines, probiotics, medium-dependent synthesis, metabolic pathways