



Пробиотики, постбиотики и парапробиотики

Корниенко Е. А.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2, Россия

Для цитирования: Корниенко Е. А. Пробиотики, постбиотики и парапробиотики. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;205(9): 240–250. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-205-9-240-250

✉ Для переписки:

Корниенко

Елена

Александровна

elenkornienk

@yandex.ru

Корниенко Елена Александровна, д.м.н., профессор кафедры детских болезней имени профессора И. М. Воронцова Факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования

Резюме

В последние годы в связи с широким внедрением молекулярно-генетических методов исследования кишечного микробиома и доказательства его роли в развитии многих социально-значимых заболеваний, стратегии воздействия на здоровье человека путем коррекции микробиоты и ее функций стали особенно востребованы. С этой целью обычно используют пробиотики, которые представляют собой живые микроорганизмы, которые улучшают здоровье хозяина. У них есть определенные показания и, в целом, хорошая переносимость. Но крайне редко их прием может осложняться развитием бактериемии, особенно у иммунокомпромированных пациентов. Условие сохранения живых функционально активных бактерий не всегда достижимо. Это побуждает к поиску возможностей использования неживых бактериальных клеток, получивших название парапробиотиков, или компонентов микробных клеток и их метаболитов — постбиотиков. Исследования показывают, что парапробиотики по воздействию на иммунную систему и кишечный барьер не уступают эффекту пробиотиков, но отличаются лучшей сохранностью и безопасностью. Постбиотики также приближаются по многим параметрам к действию пробиотиков и отличаются большей стабильностью. Однако оптимальные технологии производства парапробиотиков и постбиотиков, а также показания к ним пока четко не разработаны. Это требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: пробиотики, парапробиотики, постбиотики, микробиота, дисбиоз

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: DPRIJB





Probiotics, postbiotics and paraprobiotics

E. A. Kornienko

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, 194100, Saint-Petersburg, str. Lytovskaya, 2, Russia

For citation: Kornienko E. A. Probiotics, postbiotics and paraprobiotics. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;205(9): 240–250. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-205-9-240-250

✉ *Corresponding author:*

Elena A. Kornienko
elenkornienk
@yandex.ru

Elena A. Kornienko, Doctor of Med.Sci., Professor of Pediatric Department after Professor Igor M. Vorontsov of Postgraduate faculty; ORCID ID: 0000–0003–2743–1460

Summary

In recent years, due to the widespread introduction of molecular genetic methods for the study of the intestinal microbiome and the proof of its role in the development of many socially significant diseases, strategies for influencing human health by correcting the microbiota and its functions have become especially in demand. For this purpose, probiotics are commonly used, which are living microorganisms that improve the health of the host. They have certain indications and, in general, good tolerability. But extremely rarely, their reception can be complicated by the development of bacteremia, especially in immunocompromised patients. The condition for the preservation of live functionally active bacteria is not always achievable. This prompts the search for possibilities for the use of non-living bacterial cells, called paraprobiotics, or components of microbial cells and their metabolites — postbiotics. Studies show that paraprobiotics in terms of effects on the immune system and intestinal barrier are not inferior to the effect of probiotic, but are better and safe. Postbiotics also approach the action of probiotics in many respects and are more stable. However, optimal technologies for the production of paraprobiotics and postbiotics, as well as indications for them, have not yet been clearly developed. This requires further research.

Keywords: probiotics, paraprobiotics, postbiotics, microbiota, dysbiosis

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

В последние годы, благодаря многочисленным исследованиям кишечного метагенома и широкому внедрению метода секвенирования, интерес к изучению кишечной микробиоты и различным способам воздействия на нее значительно вырос.

Пробиотики стали наиболее популярными в мире средствами, применяемыми для улучшения здоровья, для профилактики и лечения многих заболеваний. Это обусловлено установленными механизмами действия пробиотиков, которые объясняют их эффективность во многих клинических ситуациях.

Механизм действия пробиотиков и возможности их применения

Действие пробиотиков не сводится к простому заселению кишечника, как это зачастую представляется. Их влияние более сложно и многопланово. Оно осуществляется на 3 уровнях: в полости, на уровне эпителия и на уровне иммунной системы кишечника. Это:

- Конкуренция с патогенной и условно-патогенной микробиотой,
- Усиление защитного кишечного барьера,
- Иммуномодулирующий эффект.

Учитывая многообразие механизмов действия пробиотиков, а также многочисленные работы, доказавшие их эффективность в профилактике и лечении различной патологии, **показания к их назначению** достаточно широки:

- Острые кишечные инфекции легкой и средней степени тяжести, особенно вирусные – профилактика и лечение
- Антибиотико-ассоциированная диарея – профилактика
- Профилактика и лечение функциональных расстройств ЖКТ: синдрома раздраженного кишечника и младенческих кишечных колик.
- Профилактика некротизирующего энтероколита у недоношенных детей
- Инфекция *H. pylori* – в качестве адъювантной терапии
- Воспалительные заболевания кишечника: почит и язвенный колит – для достижения и поддержание ремиссии

Таблица 1.
Критерии для использования штамма в качестве пробиотика [5]

- Микроорганизм должен быть полностью идентифицирован: род, вид и штамм
- Должны отсутствовать патогенные эффекты и токсичность, микроорганизм не должен ассоциироваться с заболеванием или нести гены резистентности к антибиотикам
- Он должен быть жизнеспособным и стабильным (по крайней мере, в течение короткого времени) в желудочно-кишечном тракте, и устойчивым к кислоте, желчи и пищеварительным ферментам
- Он должен прикрепляться к поверхности слизистой оболочки и сохранять функциональные свойства в кишечнике (по крайней мере, в течение короткого времени)
- Он должен быть стабильным во время производственного процесса, в процессе обработки, подготовки и хранения
- Он должен иметь достаточное количество жизнеспособных клеток
- Он должен быть исследован *in vitro* и *in vivo*, где должна быть доказана его клиническая эффективность, в том числе специальные эффекты.

В 2002г определение пробиотиков было дано рабочей группой ФАО/ВОЗ [1]:

Пробиотики – это живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах вызывают улучшение здоровья организма-хозяина.

В этом определении заложены основные требования, предъявляемые к пробиотикам: сохранность живых микробов, их достаточное количество и доказанная эффективность. Однако ряд исследований последних лет продемонстрировал эффективность не только живых микробов, но и определенных компонентов бактерий [2]. Тем не менее, в совместных рекомендациях ФАО/ВОЗ утверждает, что в качестве пробиотиков не применяют неживые и генетически модифицированные микроорганизмы, при этом микробы должны сохранять жизнеспособность при прохождении по пищеварительному тракту вплоть до толстой кишки [3]. Следует подчеркнуть также, что данное определение не предполагает обязательное человеческое происхождение бактериального штамма в качестве критерия отбора, а оценивать действие пробиотика рекомендует в соответствии с оказываемым эффектом [4]. Именно это в конечном итоге определяет штамм как пробиотик. В соответствии с современными требованиями, он должен соответствовать следующим критериям (таблица 1).

При выборе пробиотического препарата возникает несколько проблемных вопросов, первый из которых *выживаемость* входящих в его состав микроорганизмов. Как указано выше, функциональными свойствами, в частности, адгезией, обладают только живые микробы. Поэтому сохранность жизнеспособных штаммов в пробиотическом продукте или препарате является важнейшим требованием и должна быть доказана в микробиологических исследованиях готового продукта. Для этого, по рекомендации ФАО/ВОЗ, пробиотические штаммы должны храниться в виде коллекций в соответствии с международной номенклатурой и периодически проверяться бактериологически с последующим генотипическим анализом для подтверждения свойств и устойчивости штамма [1].

Второй вопрос, который возникает при назначении пробиотика – оптимальная *доза*. Она может существенно варьировать и устанавливается по клинической эффективности. Например, для устранения симптомов СРК достаточно назначение *Bifidobacterium infantis* в дозе 10^8 КОЕ в сутки, а VSL#3–3–4- 10^{11} КОЕ в сутки. Хотя единой дозы для различных пробиотиков не существует, и она устанавливается для каждого препарата по результатам

клинических исследований, рядом работ было показано, что минимально достаточной дозой, способной осуществлять значимое действие, может считаться доза не менее 10^7 КОЕ в сутки [1, 6].

Следует учитывать разрушительное действие желудочного сока на незащищенную микрофлору. Доказано, что лишь небольшое число штаммов лактобацилл и бифидобактерии обладает *кислотоустойчивостью*, большинство микробов погибает в желудке. Поэтому предпочтительны пробиотики, заключенные в кислотоустойчивую капсулу. По данным Bezkorovainy A. [7], лишь 20–40% селективных штаммов выживает в желудке. Из 10^8 микр.тел лактобацилл, принятых в кислотоустойчивой капсуле, в кишечнике обнаруживается 10^7 , после приема такого же количества в йогурте – 10^4 микр.тел, а после приема той же дозы в виде порошка натошак микробы в кишечнике не обнаруживаются вовсе.

В тонкой кишке пробиотики подвергаются воздействию *желчных кислот* и *панкреатических ферментов*. Вследствие этого многие микробы, например, *L. fermentum* KLD, *L. lactis* MG1363 почти полностью погибают. Это может объясняться усилением проницаемости клеточной мембраны, которая развивается в ответ на воздействие желчных кислот. В то же время. *L. rhamnosus* GG, *L. reuteri*, *S. boulardii* оказались резистентны к воздействию желудочного и панкреатического сока, а также желчи. Выживание большинства бактерий зависит от того, каким образом они принимаются: в защитной капсуле, в виде йогурта, с молоком или без всякой защиты. Эти данные ставят под сомнение эффективность незащищенных и не обладающих кислотоустойчивостью пробиотиков, а также обосновывают целесообразность приема незащищенных препаратов во время еды.

Исключение составляют дети первого года жизни, которые из-за более высоких значений pH в желудке могут получать пробиотики в незащищенном виде, но и для них оптимален прием препарата во время еды, поскольку буферные свойства молока повышают сохранность микроорганизмов. Включение пробиотиков в состав молочной смеси обеспечивает их сохранность и оправдано в связи с доказанным в ряде работ присутствием в женском молоке микроорганизмов, в том числе – лактобацилл и младенческих бифидобактерий. Научный Комитет по Питанию Еврокомиссии рекомендует использовать пробиотики в детском питании [8]. Выбор штамма бифидобактерий должен проводиться в соответствии с возрастными

Рисунок 1.
Пробиотики,
постбиотики
и парапробиотики



особенностями кишечного микробиома. Так, назначение *B. breve*, *B. longum spp. infantis*, *B. lactis BB12* целесообразно детям раннего возраста, а *B. longum*, *B. adolescentis* – детям старшего возраста и взрослым.

Важнейшим условием выбора штамма в качестве пробиотика является *безопасность*.

Под безопасностью понимают:

- отсутствие патогенных свойств у микроорганизма;
- фенотипическую и генотипическую стабильность;
- отсутствие риска передачи генов антибиотико-резистентности другим микробам, обитающим в кишечнике;
- отсутствие возможности повреждать и преодолеть слизистый кишечный барьер;
- временный характер колонизации кишечника (способность к самоэлиминации).

Последний аспект был изучен по обнаружению микробов, входящих в состав пробиотика, после окончания его приема. Срок персистенции в кишечнике пробиотических микробов составил от 2 до 7 дней [9]. То есть, целью назначения пробиотиков является не колонизация ими кишечника пациента, а выполнение ими необходимых функций и последующая самоэлиминация.

В целом, многие пробиотические штаммы признаны полностью безопасными (GRAS) и хорошо переносятся человеком. Однако в крайне редких случаях, в первую очередь, у иммунокомпромированных пациентов, описаны случаи бактериемии и сепсиса, вызванного пробиотическими бактериями. Рассчитано, что риск бактериемии от принятых внутрь лактобацилл составляет менее 1 на 1 млн случаев [10], а риск фунгемии от *S. boulardii* составляет 1 на 5,6 млн случаев [11]. Тем не менее,

European Food Safety Authority (EFSA) в течение многих лет регистрирует случаи осложнений пробиотической терапии. Среди зарегистрированных 89 случаев бактериемии, вызванной *Lactobacillus*, летальность составила 26% в течение 1 мес. и 48% в течение года от начала инфекции [12]. Крайне редко описаны случаи эндокардита с летальностью около 30%. Назначение пробиотиков больным с острым панкреатитом увеличило летальность в сравнении с контрольной группой, не получавших их, с 6 до 16% [13]. Систематический обзор статей, опубликованных с 1976 по 2018 год, выявил 93 случая инфекционных осложнений на фоне приема пробиотиков. *Saccharomyces* были причиной в 47 случаях, *Lactobacillus* – в 26, *Bifidobacterium* – в 12, *Bacillus* – в 5, *Pediococcus* – в 2, *Escherichia* – в 1 [14]. Возможно, такое распределение объясняется частотой применения тех или других пробиотических микробов. Описанные в литературе редкие случаи подобных осложнений подчеркивают необходимость осторожного применения пробиотиков, особенно у больных с иммунодефицитными состояниями, а также с системной воспалительной реакцией.

Как известно, свойства разных пробиотиков отличаются как в отношении антибактериального и конкурентного действия, так и влияния на иммунную систему. С одной стороны, штаммоспецифичность, при условии доказанного эффекта, может быть положительной чертой, с другой – она сужает спектр действия пробиотика. В отношении взаимодействия с облигатной микробиотой хозяина, возникает также риск передачи генов патогенности и антибиотикоустойчивости, что может осуществляться присутствующими в кишечнике вирусами-бактериофагами [15]. В последние годы растет интерес к новым микроорганизмам, которые

обитают в большом количестве в кишечнике здоровых людей и выполняют важные полезные функции (*Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides species*) [16], но применение их в качестве пробиотиков пока не изучено, и их эффективность и безопасность требуют проведения серьезных исследований.

Таким образом, проблемные вопросы, касающиеся выживаемости, дозы и безопасности пробиотиков, остаются не до конца решенными и побуждают к поиску новых видов терапии, направленной на достижение аналогичного пробиотикам клинического эффекта, но с гарантированным и безопасным воздействием.

С 2004г растет доказательная база, подтверждающая физиологическую активность не только

живых, но и неживых бактерий, а также их компонентов. Обычные пробиотические продукты и препараты обычно содержат как живые, так и неживые бактериальные клетки. Неживые бактерии могут вызывать биологический ответ со стороны организма хозяина не менее выраженный, чем их живые аналоги. Это получило название «пробиотический парадокс». С одной стороны, это может гарантировать сохранение эффективности пробиотика сверх предполагаемого срока хранения, с другой – открывает возможности для более безопасного использования неживых бактерий и их компонентов. Эти неживые бактерии, в соответствии с определением ВОЗ, не могут быть отнесены к пробиотикам [17], поэтому было предложено новое название – парaproбиотики.

Парапробиотики

Парапробиотики – это неживые пробиотики (инактивированные пробиотики, содержащие неживые микробные клетки или их частицы), которые при назначении улучшают здоровье организма хозяина [15, 18].

Тонкие механизмы действия парапробиотиков нуждаются в дальнейшем изучении, но научные исследования уже показали, что, подобно пробиотикам, молекулы, находящиеся на поверхности мембран микробных клеток в парапробиотиках (пептидогликаны, тейхоевые кислоты, полисахариды, белки) являются первой линией взаимодействия с организмом хозяина и объясняют их эффективность [19]. Имеются доказательства противовоспалительного и иммуномодулирующего действия парапробиотиков с некоторыми преимуществами в сравнении с пробиотиками.

Модуляция врожденного и адаптивного иммунитета хозяина является ключевым механизмом, лежащим в основе положительного воздействия пробиотиков на здоровье, и используется в профилактике и лечении инфекций и аллергии, функциональных и хронических желудочно-кишечных и респираторных заболеваний.

Врожденный иммунный ответ зависит от трансмембранных паттерн-распознающих рецепторов (PPR), таких как Toll-подобные рецепторы (TLR) эпителиальных и иммунных клеток хозяина (нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, естественных клеток-киллеров), которые связывают молекулярные паттерны, ассоциированные с микробами (MAMP). PPR присутствуют и внутри клеток – на белках внутриклеточного нуклеотид-связывающего домена олигомеризации (NOD), они воспринимают MAMP в цитоплазме и распознают внутриклеточные патогены [20]. Эти механизмы не требуют жизнеспособности бактериальных клеток, они также могут быть индуцированы молекулами, входящими в состав клеточной стенки микробов (пептидогликаны, тейхоевые кислоты, белки) и структурными компонентами клеточной оболочки, включая S-слой и липополисахариды [21]. Это открывает возможность использования парапробиотиков, особенно у людей с ослабленным иммунитетом [22].

В нескольких исследованиях изучалось влияние парапробиотиков на иммунный ответ, по сравнению с их пробиотическим аналогом. Например, Chuang с соавт. исследовали влияние трех штаммов *Lactobacillus*, убитых нагреванием, на пролиферацию спленоцитов мышей и активацию дендритных клеток, и продемонстрировали их эффективность в увеличении секреции интерлейкинов [23]. Lopez с соавт. обнаружили, что как жизнеспособные, так и УФО-инактивированные клетки *Lactobacillus rhamnosus* GG снижали продукцию IL-8 клетками кишечного эпителия Caco-2 [24]. Сообщалось, что живые и убитые нагреванием клетки *L. rhamnosus* ATCC 7469 были способны индуцировать макрофагами мышей синтез различных цитокинов – как с провоспалительным действием (TNF- и IL-6), так и регуляторных (IL-10) [25]. Недавно была оценена антиоксидантная активность и иммуностимулирующий потенциал убитых нагреванием клеток *L. brevis* KCCM 12203P по сравнению с их живыми аналогами [26], а также эффекты живых и инактивированных нагреванием *B. animalis* subsp. *lactis*, BB-12 и *L. rhamnosus* GG на культивируемых клетках Caco-2 – в основном изучались целостность барьера и продукция медиаторов воспаления [27].

В последнее десятилетие доказательства эффективности парапробиотиков в профилактике и лечении ряда заболеваний, вызывающих диарею, колит, респираторные, кишечные расстройства, воспаление и аллергию, были подтверждены исследованиями *in vivo* на животных и клиническими испытаниями на людях [28]. Особые усилия были направлены на изучения эффективности парапробиотиков в группах риска, где пробиотики могут представлять некоторую угрозу. Пожилые люди и дети могут быть более восприимчивыми к инфекциям и возрастным воспалительным заболеваниям вследствие дисфункций врожденного (количественные и функциональные изменения нейтрофилов, моноцитов, дендритных и естественных клеток-киллеров, включая измененную экспрессию TLR и цитокинов) и адаптивного иммунитета (качественные и количественные изменения в субпопуляциях T- и B-клеток) [29]. Было показано, что в этих наиболее уязвимых возрастных группах

парапробиотики могут быть предпочтительны из-за преимуществ, прежде всего, с точки зрения безопасности.

Преимущества парапробиотиков перед пробиотиками заключаются в следующем:

1. Большой безопасности: при их назначении не возникает никакого риска сепсиса или других инфекционных осложнений, формирования антибиотикорезистентности, усиления токсичности и т.д. [30].
2. Парапробиотики упрощают технологический процесс, не требуют строгих условий хранения или приема, сохраняют стабильность состава [31].
3. Назначение парапробиотиков на фоне антибиотиков не меняет их свойств, но уменьшает побочные эффекты антибиотиков в отношении собственной микробиоты кишечника.
4. Парапробиотики не могут взаимодействовать с пищей, в частности, с её пре- и пробиотическими компонентами, они не влияют на пищевой матрикс и органолептические качества продукта. Тем самым, открываются новые возможности для производства продуктов функционального питания с парапробиотиками, они могут добавляться в пищу перед проведением термической или другой обработки, не требуют особых условий хранения.

Недостатками парапробиотиков, в сравнении с пробиотиками, следует считать неспособность продуцировать бактериоцины, молочную кислоту, короткоцепочечные жирные кислоты, витамины – то, что свойственно живым бактериям. Это снижает их антагонистическое действие в отношении патогенных микробов и ограничивает полезные метаболические эффекты.

Производство парапробиотиков предполагает инактивацию живых микробных клеток, которая может быть достигнута путем химического или физического воздействия, не представляющего опасности для последующего употребления продукта. Чаще всего с этой целью используется термическая обработка, реже – ультрафиолетовое облучение, электрический ток, высокое давление или ультразвук [32], иногда их комбинации. В процессе обработки повреждаются структуры клеток с сохранением определенных физиологических свойств. При термической обработке, например, повреждаются мембраны клеток, вытекающие нутриенты и ионы вызывают рибосомальную агрегацию, денатурацию белка и повреждение ДНК. Электропорация (следствие воздействия электрического тока) повышает проницаемость мембран и вызывает гибель клеток. Эти методы используются для обработки культур *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium animalis* [33]. Высокое давление способствует разрыву клеточных мембран, альтерации рибосом и необратимой денатурации белка и коагуляции, приводящим к инаktivации ферментов и снижению внутриклеточного pH [34]. Ультразвук высокой интенсивности разрушает мембраны, способствует образованию свободных радикалов, повреждению ДНК и лизису клеток [35]. Ультрафиолетовое облучение нарушает

транскрипцию и трансляцию ДНК, способствует образованию фотопродуктов ДНК [36].

Конечно, методы, используемые для обработки живых микробных культур, должны быть строго регламентированы с точки зрения безопасности, особенно когда речь идет о пищевых продуктах, продуктах детского питания, чтобы избежать негативного воздействия на компоненты пищи. Эти аспекты еще недостаточно изучены. Можно также предположить, что парапробиотики, приготовленные разными способами, отличаются по физиологическим свойствами, что требует дальнейшего тщательного изучения.

Главный физиологический механизм парапробиотиков связан с их иммуномодулирующим действием [37]. Интересно, что пробиотические и парапробиотические клетки одних и тех же штаммов индуцируют одинаковый иммунный ответ, включая одни и те же или разные механизмы. Например, инаktivированные УФО и живые *L. rhamnosus* GG были в равной степени эффективны в снижении продукции IL-8 клетками кишечного эпителия Caco-2, но механизмы их действия при этом отличались [24].

Агрегация и адгезия – важнейшие свойства пробиотиков, обеспечивающие способность к колонизации и антагонистический эффект против патогенов. Ostad и соавт. продемонстрировали, что как живые, так и термически инаktivированные *L. acidophilus* препятствовали адгезии к клеткам кишечного эпителия патогенных бактерий (*Escherichia coli* и *Salmonella typhi*) [38]. Убитые *L. rhamnosus* CNCM I-3698 и *Lactobacillus farciminis* CNCM I-3699 сохраняли способность к коагрегации *Campylobacter jejuni* и препятствовали его проникновению в слизистый слой и адгезию к муцину, которая даже превышала свойства аналогичных живых бактерий [38]. Singh с соавт. исследовали адгезию и антагонистическую активность нескольких штаммов *L. reuteri*. Эти свойства оказались строго штаммоспецифичны. Инаktivированные клетки несколько слабее адгезировались к эпителию, чем живые, и менее значительно ингибировали патогены. Способность к адгезии и инаktivации патогенов зависела от способа воздействия на пробиотик – сохранялась при термическом и утрачивалась при химическом воздействии, что, вероятно, объясняется денатурацией поверхностных белков в последнем случае [39].

Эмиссионная сканирующая электронная микроскопия позволила обнаружить различия в поверхностных мембранных структурах, которые становились более грубыми после термической обработки микробов. Чем более высокая температура применялась для инаktivации, тем в большей степени снижалась способность к адгезии. Однако это никак не отражалось на иммуностимулирующей активности парапробиотика. [40].

Другое интересное свойство, обнаруженное у парапробиотиков – способность устранять холестерин из окружающей среды за счет встраивания его в мембрану микробной клетки и ассимиляцию [41]. Однако это свойственно лактобациллам только при слабом ультразвуковом воздействии, а при

обработке высокой интенсивности способность к снижению холестерина теряется. [42].

Таким образом, способы инаktivации микробных клеток существенно влияют на конечные свойства парапробиотика. Для того, чтобы разработать

оптимальные методы подготовки бактериальных культур, необходимы дальнейшие исследования как *in vitro*, так и *in vivo*. В настоящее время вопрос о технологии приготовления парапробиотиков с заданными свойствами остается открытым.

Постбиотики

Концепция постбиотиков основана на наблюдении, что положительные эффекты микробиоты опосредованы секрецией различных метаболитов. Однако их точное определение остается предметом обсуждения. Согласно Tsilingiri et al. [43],

Постбиотики – это вещества, которые высвобождаются или продуцируются вследствие метаболической активности микроорганизмов и оказывают благотворное влияние на организм хозяина, прямо или косвенно.

В качестве постбиотиков могут выступать бесклеточные супернатанты микробных культур, экзополисахариды, короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), секретируемые ферменты, бактериоцины, витамины, аминокислоты и др. Это многообразие предполагает широкую вариабельность техник, используемых для приготовления постбиотиков. Лизис бактериальных клеток может достигаться химическим или механическим путем. Экстракция, сонификация, диализ, хроматография служат для выделения определенных метаболитов.

Бесклеточные супернатанты содержат биологически активные метаболиты, секретируемые бактериями в окружающую жидкость, они могут быть получены непосредственно из клеточных культур. После инкубации микробы центрифугируются, а затем удаляются, полученный экстракт фильтруют для обеспечения стерильности.

Супернатанты разных бактерий отличаются по своим свойствам: *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus casei* обладают противовоспалительным и антиоксидантным действием, а *L. casei* и *L. rhamnosus GG*, могут предотвратить инвазию клеток рака толстой кишки [44]. Недавно было показано, что супернатанты *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* предотвращают инвазию энтероинвазивных штаммов *E. coli* в энтероциты *in vitro* [45]. Хотя эти антибактериальные свойства могут быть результатом ингибирования адгезии патогенных бактерий из-за конкуренции за рецепторные сайты, супернатанты могут влиять на кишечную среду, клеточный барьер и экспрессию защитных генов [45]. Например, супернатанты *Lactobacillus plantarum* улучшают созревание и морфологическую структуру кишечного барьера [46]. Супернатанты *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces boulardii* восстанавливают нарушенную кишечную перистальтику, вызванную стрессом [47]. Супернатанты *S. boulardii* также демонстрировали противовоспалительную и антиоксидантную активность, сходную с воздействием цельных клеточных культур, а также ускорение заживления ран и регенерацию кишечного барьера [48].

Экзополисахариды. В процессе своего роста микроорганизмы продуцируют биополимеры с различными химическими свойствами, которые

выделяются наружу, формируя гетерогенную группу веществ, называемых экзополисахаридами (ЭПС). Они используются сейчас в пищевой промышленности для стабилизации, эмульгирования и связывания влаги [49], хотя их биологические свойства не до конца ясны. ЭПС способны модулировать иммунный ответ, взаимодействуя с дендритными клетками и макрофагами и усиливая пролиферацию Т- и НК-клеток [50]. ЭПС из тофу, продуцируемые *L. plantarum*, индуцируют секрецию окиси азота (NO) и увеличивает фагоцитарную активность макрофагов и уровень IgA [51]. ЭПС, продуцируемые штаммами *Lactobacillus*, изолированные из дуриана, обладают антимикробными и антиоксидантными свойствами [52]. Антиоксидантное действие объясняют способностью ЭПС связывать ионы железа, что характерно также для зеленого чая [53]. ЭПС также влияют на жировой обмен, ингибируя всасывание холестерина. Регулярное употребление ЭПС из кефира замедляет прогрессирование атеросклероза, предотвращает артериальную гипертензию и стабилизирует уровень глюкозы в крови у крыс с гиперхолестеринемией [54].

Другой класс ЭПС – β -гликаны, взаимодействуют с рецепторами дектина-1 на поверхности макрофагов и активируют их [55]. В результате усиливается клеточный иммунный ответ против бактерий, вирусов, паразитов и раковых клеток. β -гликаны улучшают также всасывание β -каротиноидов, обладающих противовоспалительными и антиоксидантными свойствами.

Ферменты. облигатные бактерии кишечника синтезируют ферменты: глутатион-пероксидазу (ГП), супероксиддисмутазу (СОД), каталазу, НАДФ-оксидазу, играющие ключевую роль в связывании свободных радикалов. Было показано, что 2 штамма *L. fermentum* содержат высокую концентрацию ГП [56] и обладают высокой антиоксидантной активностью *in vitro*. Генетически модифицированные штаммы *Lactobacillus*, способные синтезировать СОД или каталазу, достоверно более существенно облегчали симптомы у мышей с колитом, по сравнению с немодифицированными штаммами [57]. Генетически модифицированная *Lactobacillus lactis*, выделяющая каталазу, предотвращала формирование колоректального рака у мышей. Однако пока отсутствуют данные о результатах использования этих постбиотиков у людей.

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК). КЦЖК – ацетат (С2), пропионат (С3), бутират (С4) – наиболее изученные продукты микробного метаболизма растительных полисахаридов с доказанным энергетическим, противовоспалительным и толерогенным действием. Бутират является наиболее важным источником энергии для колоноцитов,

он обладает противовоспалительным и противоопухолевым действием и усиливает регенерацию кишечного эпителия. Он оказывает иммуносупрессивное действие, снижая экспрессию рецепторов и выработку провоспалительных цитокинов (TLR-2/4, Caspase-1, NLRP3, IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-25, MAPK) и повышая уровень IL-10, TGF- β [58]. Это обусловлено инактивацией ядерного фактора транскрипции NF- κ B. У больных язвенным колитом ректальное введение бутирата уменьшает активность воспаления в толстой кишке [59].

Колонизация мышей *Roseburia intestinalis* – продуцента бутирата, тормозит процессы атерогенеза [60] вследствие укрепления кишечного барьера и уменьшения эндотоксемии.

Среди потенциальных механизмов ацетата показана возможность регуляции энергетических процессов за счет стимуляции рецепторов G-белка и секреции глюкагон-подобного пептида (GLP-1), снижающего чувствительность рецепторов к инсулину и стимулирующего процессы регенерации и адаптации в кишечнике [61]. Кроме того, ацетат регулирует аппетит за счет центрального механизма воздействия и укрепляет кишечный барьер, снижая его проницаемость для энтеротоксинов [62].

Пропионат обеспечивает глюконеогенез в печени, уменьшает синтез холестерина, оказывает противовоспалительный эффект [63].

Препараты, содержащие КЦЖК, используются на практике в лечении дисбиотических состояний у детей и взрослых и имеют доказанную эффективность, сравнимую с таковой у пробиотиков.

Другие метаболиты. Кишечная микробиота продуцирует целый ряд молекул, участвующих в метаболических процессах организма хозяина: витамины, феноловые дериваты, ароматические аминокислоты и т.д. Благодаря высокой биодоступности, антиоксидантным свойствам и сигнальным функциям, эти вещества являются важнейшими элементами для поддержания здоровья.

Фолаты, продуцируемые кишечными бактериями, абсорбируются и участвуют в тканях в синтезе и метилиции ДНК, оказывают антиоксидантное действие. В опытах *in vitro* продуцирующие фолат *Lactobacillus helveticus* CD6 и их бесклеточные экстракты демонстрировали равный антиоксидантный эффект [64]. Некоторые бактериальные штаммы синтезируют витамин B₁₂ *de novo*. Йогурт, обогащенный *Lactobacillus acidophilus* повышал уровень витамина B₁₂ и фолата в сыворотке крови и достоверно снижал частоту анемии [65]. Уровень синтеза витамина K зависит от состава кишечной микробиоты, но не имеет прямой связи с показателями воспаления [66].

Кишечная микробиота активно участвует в метаболизме *ароматических аминокислот* (ААК). Это биоактивные молекулы, которые всасываются в кишечнике и, поступая в различные органы (почки, мозг, сердечно-сосудистая система), могут оказывать влияние на их функции. Взаимодействие полифенолов пищи и микробиоты кишечника имеет двустороннюю связь: полифенолы могут модулировать состав микробиоты, а микробиота конкурентно метаболизирует полифенолы, причем этот метаболический профиль (метаботип) зависит

от состава микробиоты и имеет индивидуальный характер. Постбиотики, содержащие микробные метаболиты полифенолов, в частности, ААК, могут целенаправленно корректировать конечный спектр метаболитов. К ним относятся: уролитин А (UA), эквол и 8-пренилнарингенин (8-PN). UA способствует снижению веса при ожирении, снижает инсулинорезистентность [67]. Исследование у людей продемонстрировало эффективность и высокий профиль безопасности UA, улучшение показателей окисления жирных кислот, концентрации ацетилкарнитина [68]. Прием в течение года добавки эквола, как было показано в японском исследовании у женщин среднего возраста, нормализовало уровень артериального давления и липидный профиль, а также повышало минеральную плотность костной ткани [69].

Таким образом, постбиотики обладают целым рядом доказанных эффектов:

- Иммуномодуляция с достижением противовоспалительного, антиаллергического и толерогенного действия
- Противоопухолевое действие (усиление регенерации, снижение пролиферации, воспаления, воздействие на ДНК, антиоксидантное действие)
- Усиление кишечного барьера, снижение проницаемости для токсинов и аллергенов
- Нормализация жирового обмена, инсулинорезистентности, снижение риска сердечно-сосудистых заболеваний

Это приближает их действие к уже доказанным эффектам пробиотиков, но, как и у парапробиотиков, более стабильному и предсказуемому результату. Это объясняется большей стабильностью постбиотиков при хранении, транспортировке и употреблении. Подобно парапробиотикам, постбиотики обладают высоким уровнем безопасности. Однако технологии производства, показания к назначению постбиотиков еще окончательно не установлены. Клинические исследования на пациентах пока не многочисленны, поэтому в настоящее время постбиотики рассматриваются, скорее, как компоненты продуктов функционального питания с профилактическим, а не лечебным действием. Для окончательного суждения об их эффективности у больных, тем более – в детском возрасте, нужны широкие плацебо контролируемые исследования.

Тем не менее, постбиотики можно считать весьма перспективными, благодаря влиянию на созревание и регуляцию иммунной системы, барьерные функции и формирование микробиома. В связи с этим, а также с учетом высокого профиля безопасности, они могут быть особенно показаны в первые месяцы жизни, в раннем детском возрасте, когда активно идет процесс становления кишечной микробиоты. Постбиотики могут оказаться эффективными и в профилактике заболеваний, истинная причина которых пока не установлена, но важная роль кишечной микробиоты доказана, например, воспалительные заболевания кишечника, болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз и т.д. Постбиотики могут быть также полезны в профилактике и лечении инфекции SARS-CoV-2, поскольку структура и метаболическая активность

кишечного микробиома может быть ассоциирована с появлением биомаркеров – предикторов тяжелого течения COVID-19 [70].

Таким образом, стратегии применения пробиотиков, парaproбиотиков и постбиотиков направлены на одни и те же мишени: воздействие на иммунную систему, кишечный барьер, снижение заболеваемости. Подавление выработки провоспалительных цитокинов (IL-8, TNF-α, IL-17, IL-23) и усиление иммунологической толерантности за счет синтеза IL-10 является ключевыми механизмами, связанными с положительными эффектами всех трех классов бактериальных препаратов при любых воспалительных заболеваниях. Переклечение дифференцировки клеток Th1/Th2, которое проявляется повышением синтеза IL-12 и IFN-γ и снижением IL-4 и IL-13, является основой положительного воздействия при аллергии. Укрепление кишечного барьера препятствует инвазии патогенов, проникновению аллергенов, развитию эндотоксемии. Вероятно, противопоставление трех стратегий является излишним, поскольку конечная цель каждой из них – улучшение здоровья хозяина. Возможно, в дальнейшем будет

пересмотрено само определение пробиотиков и ограничение, касающееся жизнеспособности и целостности микробных клеток, будет снято. Ведь главный критерий применения любого препарата или продукта, содержащего живые и неживые бактерии или микробные метаболиты – достижение клинического эффекта. То есть, за основу в подходе к применению микробных препаратов должна быть взята их функциональность, независимо от категории, к которой препарат относится. Нельзя говорить о пробиотиках вообще, также как о парaproбиотиках или постбиотиках вообще. Пока для каждого из применяемых бактериальных штаммов или компонентов не проведены глубокие клинические исследования, он не может считаться эффективным. Штаммы применяемых пробиотиков существенно отличаются по своим свойствам, то же можно утверждать применительно к парaproбиотикам и постбиотикам. Это не означает, что поиск новых компонентов пора остановить: напротив, это должно побуждать к проведению новых более интенсивных научных исследований, новых технологий производства. Будущее – за эффективными и безопасными препаратами!

Литература | References

1. FAO/WHO. Working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002. Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>.
2. Madsen K., Jijon H., Jeung H. DNA from probiotic bacteria exerts anti-inflammatory action on epithelial cells by inhibition of NF-κB. *Gastroenterology*, 2002, vol.122, pp.A-64.
3. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2004, vol.38, pp.365–374.
4. Cruchet S., Furoes R., Maruy A., et al. The use of probiotics in pediatric gastroenterology: A review of literature and recommendations by Latin-American experts. *Pediatric Drugs*. doi:10.1007/s40272-015-0124-6.
5. Borchers A. T. Probiotics and immunity. *Journal of Gastroenterology*, 2009, vol.4, pp.26–46.
6. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systemic review and comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2011;52(2):238–250.
7. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2001;73(2):399–405.
8. General report of the Scientific Committee on Food of European Commission on the revision of essential requirements of infant formulas and follow-up formulas. 2003. Available at: <http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index.en.html> (Accessed at 03 July 2003).
9. Mercenier A., Pavan S., Pot B. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design*, 2003;9(2):175–191.
10. Borriello S.P., Hammes W.P., Holzapfel W., Marteau P., Schrezenmeier J., Vaara M., Valtonen V. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 2003;36(6):775–780.
11. Karpa K.D. Probiotics for *Clostridium difficile* diarrhea: putting it into perspective. *Annals of Pharmacotherapy*, 2007, vol.41, pp.1284–1287.
12. Siciliano R.A., Reale A., Mazzeo M.F., Morandi S., Silveti T., Brasca M. Paraprobiotics: A New Perspective for Functional Foods and Nutraceuticals. *Nutrients*, 2021, vol.13, pp.1225.
13. Kothari D., Patel S., Kim S.K. Probiotic supplements might not be universally effective and safe: A review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2019, vol.111, pp.537–547.
14. Costa R.L., Moreira J., Lorenzo A., Lamas C. C. Infectious complications following probiotic ingestion: A potentially underestimated problem? A systematic review of reports and case series. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2018, vol.18, pp.1–8.
15. Nataraj B.H., Ali S.A., Behare P.V., Yadav H. Postbiotics-paraprobiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbiology*, 2020, vol.19, pp.168.
16. Lin T.L., Shu C.C., Lai W.F., Tzeng C.M., Lai H.C., Lu C.C. Investiture of next generation probiotics on amelioration of diseases – Strains do matter. *Medical Microecology*, 2019, vol.1, pp.100002.
17. Wilcox H., Carr C., Seney S., Reid G., Burton J. Expired probiotics: What is really in your cabinet? *Research Gate*, 2020, Available at: <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-34777/v1/>. (Accessed at March 2020).
18. Taverniti V., Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: Proposal of paraprobiotic concept). *Genes and Nutrition*. 2011, vol.6, pp.261–274.
19. Teame T., Wang A., Xie M., Zhang Z., Yang Y., Ding Q., Gao C., Olsen R.E., Ran C., Zhou Z. Paraprobiotics and postbiotics of probiotic Lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: A review. *Frontiers of Nutrition*, 2020, vol.7, pp.570344.
20. Bermudez-Brito M., Plaza-Díaz J., Muñoz-Quezada S., Gómez-Llorente C., Gil A. Probiotic mechanisms of

- action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2012, vol.61, pp.160–174.
21. Siciliano R.A., Lippolis R., Mazzeo M. F. Proteomics for the investigation of surface-exposed proteins in probiotics. *Frontiers of Nutrition*, 2019, vol.6, pp.52.
 22. Zawistowska-Rojek A., Tyski, S. Are probiotics really safe for humans? *Polish Journal of Microbiology*, 2018, vol.67, pp.251–258.
 23. Chuang L., Wu K. G., Pai C., Hsieh P. S., Tsai J. J., Yen J. H., Lin M. Y. Heat-killed cells of lactobacilli skew the immune response toward T helper 1 polarization in mouse splenocytes and dendritic cell-treated T cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2007, vol.55, pp.11080–11081.
 24. Lopez M., Li N., Kataria J., Russell M., Neu J. Live and ultraviolet-inactivated *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease flagellin induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. *Journal of Nutrition*, 2008, vol.138, pp.2264–2268.
 25. Jorjao A.L., de Oliveira F. E., Leao M. V.P., Carvalho C. A.T., Jorge A. O.C., de Oliveira L.D. Live and heat-killed *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 may induce modulatory cytokines profiles on macrophages RAW 264.7. *Scientific World Journal*, 2015, no.716749. doi:10.1155/2015/716749.
 26. Song M.W., Jang H. J., Kim K. T., Paik H. D. Probiotic and antioxidant properties of novel *Lactobacillus brevis* KCCM 12203P isolated from kimchi and evaluation of immunostimulating activities of its heat-killed cells in RAW 264.7 cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, vol.29, pp.1894–1903.
 27. Castro-Herrera V.M., Rasmussen C., Wellejus A., Miles E. A., Calder P. C. In vitro effects of live and heat-inactivated *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, BB-12 and *Lactobacillus rhamnosus* GG on Caco-2 Cells. *Nutrients*, 2020, vol.12, pp.1719.
 28. Kanauchi O., Andoh A., Abu Bakar S., Yamamoto N. Probiotics and paraprobiotics in viral infection: Clinical application and effects on the innate and acquired immune systems. *Current Pharmaceutical Design*, 2018, vol.24, pp.710–717.
 29. Aiello A., Farzaneh F., Candore G., et al. Immunosenescence and its hallmarks: How to oppose aging strategically? A review of potential options for therapeutic intervention. *Frontiers of Immunology*, 2019, vol.10, pp.2247.
 30. Wang Y., Jiang, Y., Deng Y., Yi C., Wang Y., Ding M., Liu J., Jin X., Shen L., He Y. Probiotic supplements: Hope or hype? *Frontiers of Microbiology*, 2020, vol.11, pp.160.
 31. Aguilar-Toala J.E., Garcia-Varela R., Garcia H. S., Mata-Haro V., Gonzalez-Cordova A.F., Vallejo-Cordoba B., Hernandez-Mendoza A. Postbiotics: an evolving term within the functional foods field. *Trends of Food Science and Technology*, 2018, vol.75, pp.105–114.
 32. De Almada C. N., Almada C. N., Martinez R. C.R., Sant'Ana A. S. Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends of Food Science and Technology*, 2016, vol.58, pp.96–114.
 33. Barros C.P., Pires R.P.S., Guimaraes J. T., et al. Ohmic heating as a method of obtaining paraprobiotics: Impacts on cell structure and viability by flow cytometry. *Food Research International*, 2021, vol.140, pp.110061.
 34. Patrignani F., Lanciotti R. Applications of high and ultra-high pressure homogenization for food safety. *Frontiers of Microbiology*, 2016, vol.7, pp.1132.
 35. Pagnossa J.P., Rocchetti G., Ribeiro A. C., Piccoli R. H., Lucini L. Ultrasound: Beneficial biotechnological aspects on microorganisms-mediated processes. *Current Opinion in Food Science*, 2020, vol.31, pp.24–30.
 36. Franz C., Specht I., Cho G.-S., Graef V., Stahl M. UV-C inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. *Food Control*, 2009, vol.20, pp.1103–1107.
 37. Adams C. A. The probiotic paradox: Live and dead cells are biological response modifiers. *Nutritional Research Review*, 2010, vol.23, pp.37–46.
 38. Ostad S.N., Salarian A. A., Ghahramani M. H., Fazeli M. R., Samadi N., Jamalifar H. Live and heat-inactivated lactobacilli from feces inhibit *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* adherence to Caco-2 cells. *Folia Microbiologica*, 2009, vol.54, pp.157–163.
 39. Singh T.P., Kaur G., Kapila S., Malik R. K. Antagonistic activity of *Lactobacillus reuteri* strains on the adhesion characteristics of selected pathogens. *Frontiers of Microbiology*, 2017, vol.8, pp.486.
 40. Ou C.C., Lin S. L., Tsai J. J., Lin M. Y. Heat-killed lactic acid bacteria enhance immunomodulatory potential by skewing the immune response toward Th1 polarization. *Journal of Food Science*, 2011, vol.76, M260–M267.
 41. Ooi L.G., Liong M. T. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: A review of in vivo and in vitro findings. *International Journal of Molecular Science*, 2010, vol.11, pp.2499–2522.
 42. Lye H.S., Alias K. A., Rusul G., Liong, M. T. Ultrasound treatment enhances cholesterol removal ability of lactobacilli. *Ultrasonic Sonochemistry*, 2012, vol.19, no.3, pp.632–641.
 43. Tsilingiri K., Rescigno M. Postbiotics: What else? *Benefit Microbes*, 2013, no.4, pp.101–107.
 44. Escamilla J., Lane M. A., Maitin V. Cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. *Nutrition and Cancer*, 2012, vol.64, pp.871–878.
 45. Khodaii Z., Ghaderian S.M.H., Natanzi M.M. Probiotic bacteria and their supernatants protect enterocyte cell lines from enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) invasion. *International Journal of Molecular Cellular Medicine*, 2017, vol.6, no.3, pp.183–189.
 46. Izuddin W.I., Loh T. C., Foo H. L., Samsudin A. A., Humam A. M. Postbiotic *L. plantarum* RG14 improves ruminal epithelium growth, immune status and upregulates the intestinal barrier function in post-weaning lambs. *Scientific Reports*, 2019, vol.9, no.1, pp.9938.
 47. West C., Stanisz A. M., Wong A., Kunze W. A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* or *boulardii* yeasts on acute stress induced intestinal dysmotility. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, vol.22, no.4, pp.10532–10544.
 48. Canonici A., Siret C., Pellegrino E., Pontier-Bres R., Pouyet L., Montero M. P., Colin C., Czerucka D., Rigot V., Andre F. *Saccharomyces boulardii* improves intestinal cell restitution through activation of the alpha2beta1 integrin collagen receptor. *PLoS One*, 2011, vol.6, no.3, e18427.
 49. Singh P., Saini P. Food and health potentials of exopolysaccharides derived from lactobacilli. *Microbiology Research Journal International*, 2017, vol.22, no.2, pp.1–14.
 50. Makino S., Sato A., Goto A., et al. Enhanced natural killer cell activation by exopolysaccharides derived from yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* ssp.

- bulgaricus OLL1073R-1. *Journal of Dairy Science*, 2016, vol.99, no.6, pp.915–923.
51. Wang J., Wu T., Fang X., Min W., Yang Z. Characterization and immunomodulatory activity of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* JLK0142 isolated from fermented dairy tofu. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol.115, pp.985–993.
 52. Khalil E. S., Abd Manap M. Y., Mustafa S., Alhelli A. M., Shokryazdan P. Probiotic properties of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus* strains isolated from tempoyak. *Molecules*, 2018, vol.23, no.3, pp.3–6.
 53. Li W., Ji J., Chen X., Jiang M., Rui X., Dong M. Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2–1. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol.102, pp.351–359.
 54. Maeda H., Zhu X., Omura K., Suzuki S., Kitamura S. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors*, 2004, vol.22, pp.197–200.
 55. Brown G. D., Taylor P. R., Reid D. M., Willment J. A., Williams D. L., Martinez-Pomares L., Wong S. Y., Gordon S. Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. *Journal of Experimental Medicine*, 2002, vol.196, no.3, pp.407–412.
 56. Kullisaar T., Zilmer M., Mikelsaar M., Vihalemm T., Annuk H., Kairane C., Kilk A. Two antioxidative *Lactobacilli* strains as promising probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 2002, vol.72, pp.215–224.
 57. Kim H., Chae H. S., Jeong S. G., Ham J., Im S. K., Ahn C. N., Lee J. In vitro antioxidative properties of *Lactobacilli*. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 2006, vol.19, no.2, pp.262–265.
 58. Lee C., Kim B. G., Kim J. H., Chun J., Im, J. P., Kim J. S. Sodium butyrate inhibits the NF-kappa B signaling pathway and histone deacetylation, and attenuates experimental colitis in an IL-10 independent manner. *International Immunopharmacology*, 2017, vol.51, no.10, pp.47–56.
 59. Luhrs H., Gerke T., Muller J. G., Melcher R., Schaubert J., Boxberge F., Scheppach W., Menzel T. Butyrate inhibits NF-kappa B activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2002, vol.37, pp.458–466.
 60. Kasahara K., Krautkramer K. A., Org E., et al. Interactions between *Roseburia intestinalis* and diet modulate atherogenesis in a murine model. *Natural Microbiology*, 2018, vol.3, pp.1461–1471.
 61. Fukuda S., Toh H., Taylor T., Ohno H., Hattori M. Acetate-producing bifidobacteria protect the host for enteropathogenic infection via carbohydrate transporters. *Gut Microbes*, 2012, vol.3, pp.449–454.
 62. Frost G., Sleeth M. L., Sahuri-Arisoylu M., et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nature Communities*, 2014, vol.5, pp.3611.
 63. Tedelind S., Westberg F., Kjerrulf M., Vidal A. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2007, vol.13, no.20, pp.2826–2832.
 64. Ahire J. J., Mokashe N. U., Patil H. J., Chaudhari B. L. Antioxidative potential of folate producing probiotic *Lactobacillus helveticus* CD6. *Journal of Food Scientific Technology*, 2013, vol.50, pp.26–34.
 65. Mohammad M. A., Molloy A., Scott J., Hussein L. Plasma cobalamin and folate and their metabolic markers methylmalonic acid and total homocysteine among Egyptian children before and after nutritional supplementation with the probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt matrix. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2006, vol.57, pp.470–480.
 66. Karl J. P., Meydani M., Barnett J. B., et al. Fecal concentrations of bacterially derived vitamin K forms are associated with gut microbiota composition but not plasma or fecal cytokine concentrations in healthy adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2017, vol.106, pp.1052–1061.
 67. Xia B., Shi X. C., Xie B. C., Zhu M. Q., Chen Y., Chu X. Y., Cai G. H., Liu M., Yang S. Z., Mitchell G. A. Urolithin A exerts antiobesity effects through enhancing adipose tissue thermogenesis in mice. *PLoS Biology*, 2020, vol.18, no.3, e3000688.
 68. Andreux P. A., Blanco-Bose W., Ryu D., Burdet F., Ibberson M., Aebischer P., Auwerx, J., Singh A., Rinsch C. The mitophagy activator urolithin A is safe and induces a molecular signature of improved mitochondrial and cellular health in humans. *Nature Metabolism*, 2019, vol.1, pp.595–603.
 69. Yoshikata R., Myint K. Z. Y., Ohta H. Effects of equol supplement on bone and cardiovascular parameters in middle-aged Japanese women: A prospective observational study. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 2018, vol.24, no.7, pp.701–708.
 70. Gou W., Fu Y., Yue L., et al. Gut microbiota may underlie the predisposition of healthy individuals to COVID-19. *Research Square*, 2020. doi: 10.21203/rs.3.rs-45991/v1.