



MD/EP 3638271 T2 2021.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3638271 (13) T2

(51) Int. Cl.: A61K 35/74 (2015.01.01)
A61P 25/00 (2006.01.01)
A61P 37/00 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2020 0411 (22) Data de depozit: 2018.06.14 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 18731444.8, 2018.06.14 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3638271, 2020.04.22 (31) Numărul cererii prioritare: 201709466; 201709533 (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2017.06.14; 2017.06.15 (33) Țara cererii prioritare: GB; GB	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 03/2021, 2021.03.31 (80) Data publicării mențiunii eliberării de către OEB: EPB nr. 42/2020, 2020.10.14 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 05/2020, 2020.05.31
(71) Solicitanți: 4D PHARMA RESEARCH LIMITED, GB (72) Inventatori: MULDER Imke Elisabeth, GB; ETTORRE Anna, GB; AHMED Suaad, GB; FOTIADOU Parthena, GB; YUILLE Samantha, GB; SAVIGNAC Helene, GB (73) Titular: 4D PHARMA RESEARCH LIMITED, GB (74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru	

(54) Compoziții cuprinzând tulpini bacteriene

(57) Rezumat:

1
Invenția furnizează compoziții cuprinzând tulpini bacteriene pentru tratarea și prevenirea unei boli neurodegenerative.

2
Secvențe: 6
Revendicări: 15
Figuri: 13

MD/EP 3638271 T2 2021.03.31

(54) Compositions comprising bacterial strains**(57) Abstract:**

1
The invention provides compositions comprising bacterial strains for treating and preventing a neurodegenerative disorder.

2
Sequences: 6
Claims: 15
Fig.: 13

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL TEHNIC**

- 5 Această invenție este în domeniul compozițiilor care cuprind tulpini bacteriene izolate din tractul digestiv de mamifer și utilizarea de astfel de compoziții în tratamentul bolilor.

FUNDALUL INVENȚIEI

- 10 Se crede că intestinul uman este steril *in utero*, dar este expus la o largă varietate de microbi maternali și din mediu imediat după naștere. Apoi, are loc o perioadă dinamică de colonizare și succesiune microbială, care este influențată de factori cum ar fi modul de livrare, mediul, dieta și genotipul gazdă, din care toate impactează asupra compoziției microbiotei intestinale, în special în timpul primilor ani de viață. Ulterior, microbiota se stabilizează și devine asemănătoare celei adulte [1]. Microbiota intestinului uman conține mai mult de 500-1000 de filotipuri diferite aparținând în mod esențial la două divizii bacteriene majore, Bacteroidetele și Firmicutele [2].
- 15 Relațiile simbiotice de succes care apar din colonizarea bacteriană a intestinului uman au dat o largă varietate de funcții metabolice, structurale, protectoare și alte funcții benefice. Activitățile metabolice sporite ale intestinului colonizat asigură că, componentele alimentare altfel indigerabile sunt degradate cu eliberarea de produse secundare care furnizează o sursă nutritivă importantă pentru gazdă. În mod similar, importanța imunologică a microbiotei intestinale este bine recunoscută și este exemplificată la animalele fără germen care au un sistem imunitar alterat care este reconstituit funcțional după introducerea bacteriei comensale [3-5].

- 20 Modificările dramatice în compoziția microbiotei au fost documentate în tulburările gastrointestinale cum ar fi boala inflamatorie intestinală (IBD). De exemplu, nivelurile de bacterie XIVa cluster *Clostridium* sunt reduse la pacienții cu IBD în timp ce numărul de *E. coli* este crescut, sugerând un defazaj în echilibrul simbiionților și patobionților din intestin [6-9].

- 25 În recunoașterea potențialului efect pozitiv pe care anumite tulpini bacteriene îl pot avea asupra intestinului animalului, diferite tulpini au fost propuse pentru utilizare în tratamentul diferitelor boli (vezi, de exemplu, [10-13]). De asemenea, anumite tulpini, incluzând cele mai multe tulpini *Lactobacillus* și *Bifidobacterie*, au fost propuse pentru utilizare în tratarea diferitelor boli inflamatorii și autoimune care nu sunt direct legate de intestin (vezi [14] și [15] pentru revizii). Abilitatea *Roseburia hominis* de a regla sistemul imunitar a fost sugerată în [16]. Totuși, relația între diferite boli și diferite tulpini bacteriene, și efectele precise ale anumitor tulpini bacteriene asupra intestinului și la un nivel sistemic și pe orice tip particular al bolilor sunt slab caracterizate, în special pentru tulburările neurodegenerative.

- 35 Recent, a crescut interesul în domeniu referitor la alterările din microbiomul intestinal care pot juca un rol patofiziologic în bolile creierului uman [17]. Dovezile preclinice și clinice sugerează puternic o legătură între dezvoltarea creierului și microbiotă [18]. Un corp în creștere din literatura preclinică a demonstrat semnalizarea bidirecțională între creier și microbiomul intestinal, care implică multiple sisteme de semnalizare neurocrine și endocrine. Într-adevăr, nivelurile crescute de specii *Clostridium* în microbiom au fost legate de tulburările creierului [19], și un dezechilibru al filei de *Bacteroidete* și *Firmicute* a fost de asemenea implicat în dezvoltarea tulburărilor creierului [20]. Sugestiile că nivelurile alterate ale nivelurilor de comensale intestinale, incluzându-le pe cele de *Bifidobacterie*, *Lactobacillus*, *Sutterella*, *Prevotella* și *Ruminococcus* genera și ale familiei *Alcaligenaceae*, sunt implicate în tulburările sistemului nervos central (CNS) mediate-imun, sunt întrebări ale studiilor sugerând o lipsă de
- 45 alterare în microbiotă între pacienți și subiecții sănătoși [10]. *Roseburia hominis* au fost propuse pentru tratarea unei varietăți de tulburări incluzând astmul, artrita reumatoidă și scleroza multiplă [21].

- 50 Ca și astmul și artrita reumatoidă, scleroza multiplă este în primul rând mediată de sistemul imunitar. Sistemul imunitar atacă axonii mielinăți în sistemul nervos central, distrugând mielina denumită plăci sau leziuni. Demielinarea are loc în particular în nervul optic, subpial în măduva spinării, în trunchiul cerebral, în cerebel, și juxtacortical și periventricular regiunilor de materie albă.

- 55 Ca atare, scleroza multiplă are o patologie diferită de a altor boli neurodegenerative, cum ar fi boala Parkinson, boala Alzheimer sau demența. De exemplu, scleroza multiplă este în mod obișnuit diagnosticată la pacienți de 20 și 30 de ani, în timp ce multe alte boli neurodegenerative, cum ar fi boala Parkinson, Alzheimer și demența, sunt diagnosticate predominant la pacienți cu vârste peste 65 ani.

Boala Parkinson, ca și multe boli neurodegenerative, este în primul rând mediată de acumularea de proteină pliată incorect. Boala Parkinson este o sinucleinopatie care implică acumularea de α -sinucleină, care se agregă ca fibrile insolubile în corpi Lewy în citoplasma corpului neuronal. Acumularea de α -sinucleină este toxică și afectează funcțiile mitocondriilor, lisozomilor, și ale reticulului endoplasmatic, și interferează cu transportul microtubulelor.

Medicamentele anti-inflamatorii nonsteroidiene (NSAID) cum ar fi ibuprofenul, au fost testate pentru eficacitatea lor în tratarea unei varietăți de boli neurologice, dar impactul clinic al NSAID asupra bolilor neurodegenerative cum ar fi boala Parkinson rămâne neclar. În timp ce unele studii au prezentat că utilizarea cronică de NSAID este protectoare împotriva bolii Parkinson, alte studii ar putea să nu confirme existența unei relații semnificative. O meta-analiză recentă a indicat că utilizarea de NSAID non-aspirinice, în special a ibuprofenului, reduce riscul de PD cu 15% în timp ce utilizarea de aspirină nu a prezentat nici un efect [22].

Acest lucru indică faptul că, în prezent, efectul practic al legăturii între microbiom și bolile creierului uman este slab caracterizat. Corespunzător, sunt necesare studii analitice mai directe pentru a identifica impactul terapeutic al alterării microbiomului asupra tulburărilor neurodegenerative.

Există o cerință în domeniu pentru noi metode pentru tratarea tulburărilor neurodegenerative. Există de asemenea o cerință pentru efectele potențiale ale bacteriei intestinale de a fi caracterizată astfel încât noi terapii utilizând bacteria intestinală să poată fi dezvoltate.

US2015/132264 descrie utilizarea de *Roseburia hominis* în tratamentul tulburărilor imunitare, homeostazei imune și tulburărilor intestinale. US 2015/071957 descrie utilizarea speciilor de *Roseburia* în tratamentul tulburărilor autoimune sau anti-inflamatorii. WO 2016/203221 descrie utilizarea unei tulpini bacteriene din genul *Roseburia* pentru tratarea și prevenirea tulburărilor inflamatorii și autoimune caracterizate în primul rând prin semnalizarea aberantă a căii Th17/IL17. Keshavarzian și colab. (Movement Disorders 2015; 30(10) 1351-1360) descriu compoziția bacteriană colonică la pacienții cu boala Parkinson. Jai Yin și colab. (J Am Heart Assoc 2015; 4(11), pagina e002699) descriu microbiota intestinală la pacienții cu accident vascular cerebral și atac ischemic.

REZUMATUL INVENȚIEI

Inventatorii au dezvoltat noi terapii pentru tratarea și prevenirea tulburărilor neurodegenerative. Inventatorii au identificat că tulpinile bacteriene din genul *Roseburia* pot fi eficiente pentru tratarea bolilor neurodegenerative. Cum s-a descris în exemple, administrarea compozițiilor cuprinzând *Roseburia hominis* poate proteja împotriva speciilor reactive de oxigen și preveni inflamația, acționând astfel ca neuroprotector. Inventatorii au identificat de asemenea că tratamentul cu *Roseburia hominis* poate reduce activarea moleculelor proinflamatoare, cum ar fi NTκB și IL-6, prin LPS și α -sinucleina mutantă A53T. Inventatorii au identificat că tratamentul cu *Roseburia hominis* poate reduce activitatea de deacetilare histonă și preoxidarea lipidă *in vitro*, care poate ajuta la reducerea morții celulei și apoptozei. Inventatorii au identificat de asemenea că *Roseburia hominis* poate produce indol care poate atenua inflamația și stresul oxidativ. Mai mult, inventatorii au demonstrat că tratamentul cu *Roseburia hominis* poate crește nivelurile de kinurenine.

Invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din genul *Roseburia*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a unei boli sau afecțiuni selectate din grupul constând din: boala Parkinson, incluzând paralizia supranucleară progresivă, sindromul Steele-Richardson-Olszewski, hidrocefalea cu presiune normală, parkinsonismul vascular sau arteriosclerotic și parkinsonismul indus de medicamente; boala Alzheimer, incluzând sindromul Benson; boala Huntington; scleroză laterală amiotrofică; boala Lou Gehrig; boala neuronului motor; boala prion; ataxia spinocerebrală; atrofia musculară spinală; demența, incluzând corpuri Lewy, demența vasculară și frontotemporală; afazia progresivă primară; deprecierea cognitivă ușoară; deprecierea cognitivă asociată cu HIV și degenerarea corticobasală.

În realizările preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din genul *Roseburia*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson, cum ar fi din mediu, Parkinson familial sau asociate cu starea inflamatorie generală. Inventatorii au identificat că tratamentul cu tulpini de *Roseburia* poate reduce activarea moleculelor proinflamatoare, cum ar fi NTκB și IL-6, prin LPS și α -sinucleina mutantă A53T în modelele *in vitro* la parkinsonul din mediu și familial. În realizările preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia hominis*, pentru utilizare în tratamentul bolii Parkinson. Compozițiile utilizând *Roseburia hominis* pot fi în special eficiente pentru tratarea parkinsonului.

În realizările preferate ale invenției, tulpina bacteriană din compoziție este de *Roseburia hominis*. Tulpini strans înrudite pot fi de asemenea utilizate, cum ar fi tulpinile bacteriene care au o

secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu secvența ARNr 16S a unui tulpini bacteriene de *Roseburia hominis*. Preferabil, tulpina bacteriană are o secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO:1, 2 sau 3. Preferabil, identitatea de secvență este cu SEQ ID NO:3.

5 Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are secvența ARNr 16S reprezentată de SEQ ID NO:3.

În anumite realizări, compoziția invenției este pentru administrare orală. Administrarea orală a tulpinilor invenției poate fi eficientă pentru tulburările neurodegenerative. De asemenea, administrarea orală este convenabilă pentru pacienți și practicieni și permite livrarea la și/sau

10 colonizarea parțială sau totală a intestinului.

În anumite realizări, compoziția invenției cuprinde unul sau mai mulți excipienți acceptabili farmaceutic sau purtători.

În anumite realizări, compoziția invenției cuprinde o tulpină bacteriană care a fost liofilizată. Liofilizarea este o tehnică eficientă și convenabilă pentru prepararea compozițiilor

15 stabile care permit livrarea bacteriei.

În anumite realizări, invenția furnizează un produs alimentar cuprinzând compoziția cum s-a descris mai sus.

În anumite realizări, invenția furnizează o compoziție de vaccin cuprinzând compoziția cum s-a descris mai sus.

20 În anumite realizări ale invenției, compoziția este pentru utilizare în tratarea leziunii creierului. Activitatea neuroprotectoare a compozițiilor invenției și abilitatea lor de a reduce nivelurile activității deacetilazei histone (HDAC) le poate face utile pentru tratarea leziunii creierului. În realizările preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea

25 accidentului vascular cerebral, cum ar fi tratarea leziunii creierului care rezultă dintr-un accident vascular cerebral.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

Figura 1: Reglare negativă a secreției de IL-6

Figura 2: Inhibarea activării promotorului NFkB indus de α -sinucleină

30 **Figura 3:** Inhibarea activării promotorului NFkB indus de LPS

Figura 4: Modificare în capacitatea antioxidantă

Figura 5: Modificare în capacitatea totală antioxidantă (oxidare lipidă)

Figura 6: Modificare în activitatea de deacetilază histonă (HDAC)

Figura 7: Nivelul producției de indol

35 **Figura 8:** Nivelul producției de kirunenină

Figura 9: Reglarea negativă a secreției de IL-6 prin MRX001

Figura 10: Reglare negativă of IL-6 secreție prin tulpina A

Figura 11: A) Inhibarea activării promotorului NFkB indus de α -sinucleină și B) Inhibarea activării promotorului NFkB indus de LPS prin tulpina A

40 **Figura 12:** Reglarea negativă a secreției de IL-6 prin tulpina B

Figura 13: A) Inhibarea activării promotorului NFkB indus de α -sinucleină și B) Inhibarea activării promotorului NFkB indus de LPS prin tulpina B

DIVULGAREA INVENȚIEI

Tulpini bacteriene

45 Compozițiile invenției cuprind o tulpină bacteriană din genul *Roseburia*. Exemplele demonstrează că bacteriile din acest gen sunt utile pentru tratarea sau prevenirea tulburărilor neurodegenerative. Tulpinile bacteriene preferate sunt ale speciilor *Roseburia hominis*, *Roseburia faecis* și *Roseburia intestinalis*.

Exemple de specii *Roseburia* pentru utilizare în invenție includ *Roseburia hominis*, *Roseburia cecicola*, *Roseburia faecis*, *Roseburia intestinalis*, și *Roseburia inulinivorans*. Bacteriile *Roseburia* sunt celule în formă de tijă puțin curbate care sunt strict anaerobice și indigene la intestinul de mamifer. Ele fac parte din clusterul filogenetic XIVa din filumul de Firmicute. Bacteriile sunt produse butiric și sunt activ mobile prin mai mulți flageli prezenți de-a lungul părții concave și într-un cluster la un capăt [23]. *Roseburia hominis* și *Roseburia intestinalis* sunt

55 exemple descrise recent.

Un exemplu de *Roseburia hominis* este tulpina depozitată sub termenii Tratatului de la Budapesta la Colecțiile Naționale de Bacterii Industriale, Alimentare și Marine (NCIMB) la NCIMB Ltd, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, UK, AB21 9YA, pe 21 Octombrie 2004 de către Institutul de Cercetare Rowett sub numărul de acces NCIMB 14029^T *Roseburia hominis* A2-183^T (DSM = 16839^T). Alte exemple de tulpini *Roseburia hominis* sunt descrise în [24]. Numerele de acces GenBank/EMBL/DDBJ pentru secvența genetică ARNr

16S a tulpinilor de *Roseburia hominis* sunt AY804148 și AJ270482 (divulgate aici ca SEQ ID NO:1 și SEQ ID NO:2).

Un exemplu de *Roseburia intestinalis* este tulpina depozitată sub numărul de acces NCIMB 13810 *Roseburia intestinalis* L1-82^T (DSM = 14610^T). Un alt exemplu este tulpina *Roseburia intestinalis* cum s-a descris în [24]. Referința [24] descrie de asemenea exemple de tulpini *Roseburia faecis* și *Roseburia inulinivorans*.

Bacteria *Roseburia hominis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 42383 a fost testată în exemple și este de asemenea cea la care se face referire în acest document ca tulpină 433. O secvență ARNr 16S pentru tulpina 433 care a fost testată este prevăzută în SEQ ID NO:3. Tulpina 433 a fost depozitată cu autoritatea de depozitare internațională NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) de către GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) pe 12 martie 2015 ca „*Roseburia hominis* 433” și i-a fost asignat numărul de acces NCIMB 42383. GT Biologics Ltd. și-a modificat ulterior numele în 4D Pharma Research Limited.

WO 2016/203221 descrie administrarea tulpinii 433 la șoareci și arată că ea poate afecta procesele bolii din afara intestinului (cum ar fi astmul și artrita). Tulpina 433 afectează de asemenea procesele bolii din afara intestinului în tratamentul tulburărilor neurodegenerative descrise aici.

O secvență genom pentru tulpina 433 este prevăzută în WO2018/229188 ca SEQ ID NO:4. Această secvență a fost generată utilizând platforma PacBio RS II.

Bacteria *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043 a fost testată în exemple și este de asemenea cea la care se face referire în acest document ca tulpină A. O secvență ARNr 16S pentru tulpina A care a fost testată este prevăzută în SEQ ID NO:5. Tulpina A a fost depozitată cu autoritatea de depozitare internațională NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) de către 4D Pharma Research Limited (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) pe 3 mai 2018 ca „*Roseburia intestinalis*” și i-a fost asignat numărul de acces NCIMB 43043.

Exemplele descriu de asemenea o bacterie *Roseburia faecis* care a fost testată și la care se face referire ca tulpină B. O secvență ARNr 16S pentru tulpina B care a fost testată este prevăzută în SEQ ID NO:6.

În anumite realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție este *Roseburia hominis*. În anumite realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție este *Roseburia intestinalis*. În anumite realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție este *Roseburia faecis*.

Tulpinile bacteriene strâns înrudite cu tulpina testată în exemple sunt de asemenea de așteptat să fie eficiente pentru tratarea sau prevenirea bolilor neurodegenerative și afecțiunilor mediate de calea IL-17 sau Th17. În anumite realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu secvența ARNr 16S a unei tulpini bacteriene de *Roseburia hominis*. Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO:1, 2 sau 3. Preferabil, identitatea de secvență este cu SEQ ID NO:3. Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are secvența ARNr 16S reprezentată de SEQ ID NO:3.

În alte realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu secvența 16S ARNr a unei tulpini bacteriene de *Roseburia intestinalis*. Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO:5. Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are secvența ARNr 16S reprezentată de SEQ ID NO:5.

În alte realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu secvența ARNr 16S a unei tulpini bacteriene de *Roseburia faecis*. Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență ARNr 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO:6. Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are secvența ARNr 16S reprezentată de SEQ ID NO:6.

Tulpinile bacteriene care sunt biotipuri de bacterii depozitate sub numărul de acces 42383 sau NCIMB 43043 sunt de asemenea de așteptat să fie eficiente pentru tratarea sau prevenirea tulburărilor neurodegenerative. Un biotip este o tulpină strâns înrudită care are aceleași sau foarte similare caracteristici fiziologice și biochimice.

Tulpinile care sunt biotipuri ale bacteriilor depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 și care sunt adecvate pentru utilizare în invenție pot fi identificate prin

secvențierea altor secvențe de nucleotidă pentru bacteriile depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043. De exemplu, substanțial întregul genom poate fi secvențiat și o tulpină biotip pentru utilizare în invenție poate avea cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identitate de secvență de-a lungul a cel puțin 80% din întregul său genom (de exemplu de-a lungul a cel puțin 85%, 90%, 95% sau 99%, sau de-a lungul întregului său genom). Alte secvențe adecvate pentru utilizare în identificarea tulpinilor biotip pot include hsp60 sau secvențe repetitive cum ar fi BOX, ERIC, (GTG)₅, sau REP sau [25]. Tulpinile biotip pot avea secvențe cu cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identitate de secvență cu secvența corespunzătoare a bacteriei depozitate sub numărul de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043.

În anumite realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are un genom cu identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188. În realizările preferate, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are un genom cu cel puțin 90% identitate de secvență (de exemplu cel puțin 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență) cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a cel puțin 60% (de exemplu cel puțin 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% sau 100%) din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188. De exemplu, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție poate avea un genom cu cel puțin 90% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 70% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 90% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 80% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 90% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 of WO2018/229188 de-a lungul a 90% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 90% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 100% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 95% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 70% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 95% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 80% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 95% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 90% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 95% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 100% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 98% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 70% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 98% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 80% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 98% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 90% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188, sau cel puțin 98% identitate de secvență cu SEQ ID NO:4 din WO2018/229188 de-a lungul a 100% din SEQ ID NO:4 din WO2018/229188.

Alternativ, tulpinile care sunt biotipuri ale bacteriilor depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 și care sunt adecvate pentru utilizare în invenție pot fi identificate prin utilizarea numerelor de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 depozitul și analiza de restricție a fragmentului și/sau analiza PCR, de exemplu prin utilizarea polimorfismului cu lungimea fragmentului amplificată fluorescent (FAFLP) și element ADN repetitiv (rep)-amprentă PCR, sau profil de proteină, sau secvențiere parțială ADNr 16S sau 23S. În realizările preferate, astfel de tehnici pot fi utilizate pentru a identifica alte tulpini *Roseburia hominis*, *Roseburia faecis* și *Roseburia intestinalis*.

În anumite realizări, tulpinile care sunt biotipuri ale bacteriilor depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 și care sunt adecvate pentru utilizare în invenție sunt tulpini care furnizează același tipar ca bacteriile depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 când au fost analizate prin analiză de restricție ADN ribozomală amplificată (ARDRA), de exemplu când se utilizează enzima de restricție Sau3AI (pentru exemple de metode și instrucțiuni vezi, de exemplu, [26]). Alternativ, tulpinile biotip sunt identificate ca tulpini care au aceleași tipare de fermentare ale carbohidratului ca bacteriile depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043.

Alte tulpini *Roseburia* care sunt utile în compozițiile și metodele invenției, cum ar fi biotipuri de bacterii depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043, pot fi identificate utilizând orice metodă sau strategie adecvate, incluzând testele descrise în exemple. De exemplu, tulpinile pentru utilizare în invenție pot fi identificate prin cultivare cu celule neuroblastom și apoi prin evaluarea nivelurilor de citokine și nivelurilor de neuroprotecție sau neuroproliferare. În particular, tulpinile bacteriene care au tipare de creștere, tip metabolic și/sau antigeni de suprafață similari cu bacteriile depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 pot fi utile în invenție. O tulpină utilă va avea activitatea modulatorie imună comparabilă cu tulpinile NCIMB 42383 sau NCIMB 43043. În particular, o tulpină biotip va declanșa efecte comparabile asupra modelelor neurodegenerative de boală și efecte comparabile

asupra nivelurilor de citokine cu efectele prezentate în exemple, care pot fi identificate prin utilizarea protocoalelor de cultivare și administrare descrise în exemple.

O tulpină în special preferată a invenției este tulpina *Roseburia hominis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 42383. Aceasta este exemplul de tulpină 433 testat în exemple și prezentat ca fiind eficient pentru tratarea bolii. Prin urmare, divulgarea furnizează o celulă, cum ar fi o celulă izolată, de tulpină de *Roseburia hominis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 42383, sau un derivat al acesteia. Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție cuprinzând o celulă de tulpină *Roseburia hominis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 42383, sau un derivat al acesteia. Invenția furnizează de asemenea o cultură biologic pură de tulpină *Roseburia hominis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 42383. Divulgarea furnizează de asemenea o celulă de tulpină *Roseburia hominis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 42383, sau un derivat al acesteia, pentru utilizare în terapie, în particular pentru bolile descrise aici.

O tulpină în special preferată a invenției este tulpina *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043. Aceasta este exemplul de tulpină A testat în exemple și prezentat ca fiind eficient pentru tratarea bolii. Prin urmare, divulgarea furnizează o celulă, cum ar fi o celulă izolată, de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043, sau un derivat al acesteia. Divulgarea furnizează de asemenea o compoziție cuprinzând o celulă de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043, sau un derivat al acesteia. Divulgarea furnizează de asemenea o cultură biologic pură de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043. Divulgarea furnizează de asemenea o celulă de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043, sau un derivat al acesteia, pentru utilizare în terapie, în particular pentru bolile descrise aici. Un derivat al tulpinii depozitate sub numerele de acces NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 poate fi o tulpină fiică (descendentă) sau o tulpină cultivată (subclonată) din cea originală. Un derivat al unei tulpini a invenției poate fi modificat, de exemplu la nivel genetic, fără ablaarea activității biologice. În particular, un derivat al tulpinei invenției este terapeutic activ. Un derivat al tulpinii va avea activitate modulatorie imună comparabilă cu tulpina originală NCIMB 42383 sau NCIMB 43043. În particular, un derivat al tulpinii va declanșa efecte comparabile asupra modelelor neurodegenerative de boală și efecte comparabile asupra nivelurilor de citokine ca efectele arătate în exemple, care pot fi identificate prin utilizarea protocoalelor de cultivare și administrare descrise în exemple. Un derivat al tulpinii NCIMB 42383 sau NCIMB 43043 va fi în general un biotip al tulpinii NCIMB 42383 sau NCIMB 43043.

Referirile la celulele de tulpină *Roseburia hominis* depozitate sub numărul de acces NCIMB 42383 cuprind orice celule care au aceleași caracteristici de siguranță și eficacitate terapeutică ca tulpinile depozitate sub numărul de acces NCIMB 42383, și astfel de celule sunt cuprinse în invenție.

Referirile la celulele de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitate sub numărul de acces NCIMB 43043 cuprind orice celule care au aceleași caracteristici de siguranță și eficacitate terapeutică ca tulpinile depozitate sub numărul de acces NCIMB 43043, și astfel de celule sunt cuprinse în invenție.

În realizările preferate, tulpinile bacteriene din compozițiile invenției sunt viabile și capabile de colonizarea parțială sau totală a intestinului.

Divulgarea furnizează de asemenea o cultură biologic pură de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043. Divulgarea furnizează de asemenea o celulă de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043, sau un derivat al acesteia, pentru utilizare în terapie, în particular pentru bolile descrise aici. Un derivat al tulpinii depozitate sub numărul de acces NCIMB 43043 poate fi o tulpină fiică (descendentă) sau o tulpină cultivată (subclonată) din cea originală.

Un derivat al unei tulpini a invenției poate fi modificat, de exemplu la nivel genetic, fără ablaarea activității biologice. În particular, un derivat al tulpinii invenției este terapeutic activ. Un derivat al tulpinii va avea activitate modulatorie imună comparabilă cu a tulpinii originale NCIMB 42761. În particular, un derivat al tulpinii va declanșa efecte comparabile asupra modelelor neurodegenerative de boală cu efectele prezentate în exemple, care pot fi identificate prin utilizarea protocoalelor de cultivare și administrare descrise în exemple. Un derivat al tulpinii NCIMB 43043 va fi în general un biotip al tulpinii NCIMB 43043.

Referirile la celulele de tulpină *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043 cuprind orice celule care au aceleași caracteristici de siguranță și eficacitate terapeutică ca tulpina depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043, și astfel de celule sunt cuprinse în invenție. Astfel, în unele realizări, referința la celulele tulpinii *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043 se referă numai la tulpina A depozitată

sub NCIMB 43043 și nu se referă la o tulpină bacteriană care nu a fost depozitată sub NCIMB 43043.

În realizările preferate, tulpina bacteriană din compozițiile invenției este viabilă și capabilă de colonizarea parțială sau totală a intestinului.

5 *Utilizări terapeutice*

După cum s-a demonstrat în exemple, compozițiile bacteriene ale invenției sunt eficiente pentru tratarea tulburărilor neurodegenerative. În particular, tratamentul cu compozițiile invenției crește neuroproliferația și acționează ca neuroprotector împotriva agenților care distrug neuronii dopaminergici. Prin urmare, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea

10 tulburărilor neurodegenerative care conduc la moartea neuronilor.

Compozițiile invenției pot reduce activarea promotorului NFκB, care activează producția de citokine, de exemplu IL-1β, IL-1α, IL-18, TNFα și IL-6. Tratarea celulelor cu α-sinucleină mutantă este un model pentru Parkinsonul familial. O mutație punctuală la poziția 53 de la adenină la treonină conduce la o pliere incorectă a α-sinucleinei. α-sinucleina pliată incorect se agregă

15 ulterior în fibrile insolubile care formează corpi Lewy. Prin urmare, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea tulburărilor neurodegenerative care sunt rezultatul neuroinflamației, plierii incorecte a proteinei și/sau a expunerii la mediu. Compozițiile invenției pot fi utilizate pentru tratamentul Parkinsonului familial. Activarea promotorului NFκB este mediată prin ligandul TLR4. TLR4 este cunoscut pentru medierea morții celulei la modelul MPTP la

20 soarece, care simulează boala Parkinson. Compozițiile invenției pot fi utilizate pentru a inhiba abilitatea de semnalizare TLR4 pentru a activa promotorul NFκB. De o anumită relevanță pentru PD, ambele TLR2 și TLR4 au fost găsite ca fiind reglate pozitiv în creierele pacienților cu PD [27]. Mai mult α-sin a fost descris ca ligand pentru TLR2 [28] și am demonstrat că α-sin este de asemenea un ligand pentru TLR4 utilizând celulele HEK-TLR4.

25 Compozițiile invenției scad secreția de citokine pro-inflamatorii cum ar fi IL-6, care poate fi indusă de lipopolizaharidă (LPS). Tratamentul celulelor cu LPS simulează Parkinsonul cauzat de factorii din mediu. Compozițiile invenției pot fi utilizate pentru a scădea secreția de IL-6. Compozițiile invenției pot fi utilizate pentru tratamentul Parkinsonului de mediu.

Exemple de boli neurodegenerative tratate cu compozițiile invenției includ: boala

30 Parkinson, incluzând paralizia supranucleară progresivă, sindromul Steele-Richardson-Olszewski, hidrocefalea cu presiune normală, parkinsonismul vascular sau arteriosclerotic și parkinsonismul indus de medicamente; boala Alzheimer, incluzând sindromul Benson; boala Huntington; scleroza laterală amiotrofică; boala Lou Gehrig; boala neuronului motor; boala prion; ataxia spinocerebrală; atrofia musculară spinală; demența, incluzând corpii Lewy, demența vasculară și frontotemporală;

35 afazia progresivă primară; deprecierea cognitivă ușoară; deprecierea cognitivă asociată cu HIV și degenerarea corticobasală. O altă boală neurodegenerativă care poate fi tratată cu compozițiile divulgate aici este neuropatia inflamatorie progresivă.

În anumite realizări, compozițiile invenției pot fi eficiente pentru tratarea tulburărilor neurodegenerative care apar la pacienții în vârstă. Exemplele arată că compozițiile invenției pot

40 trata boala Parkinson care este predominant diagnosticată la pacienții cu vârsta peste 65 ani. În realizările preferate, compozițiile invenției sunt pentru tratarea pacienților de 65 ani sau mai în vârstă. În alte anumite realizări, pacienții sunt cu vârste între 40 până la 65 ani. În alte realizări, pacienții sunt mai în vârstă de 40 ani. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru

45 utilizare în tratarea unei boli asociate cu vârsta înaintată, de exemplu, o boală diagnosticată după vârsta de 50 ani.

În anumite realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea unei tulburări neurodegenerative mediată sau caracterizată prin acumularea de proteină, în particular de proteină pliată incorect.

În anumite realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în

50 tratarea unei tulburări neurodegenerative asociată cu pierderea neuronală a materiei gri. În anumite realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru tratarea unei tulburări neurodegenerative care nu este asociată cu leziunile materiei albe.

În anumite realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în

55 tratarea unei tulburări neurodegenerative asociate cu simptome permanente.

În anumite realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în

60 tratarea unei tulburări neurodegenerative care nu este o tulburare auto-imună. În anumite realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea unei tulburări neurodegenerative care nu este scleroza multiplă.

În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în reducerea morții

neuronilor, în particular, în tratamentul tulburărilor neurodegenerative. În anumite realizări,

compozițiile invenției sunt pentru utilizare în protejarea neuronilor, în particular în tratamentul tulburărilor neurodegenerative.

Proprietățile neuroprotectoare ale compozițiilor invenției, așa cum se arată în exemple, înseamnă că compozițiile pot fi în particular eficiente pentru prevenirea sau întârzierea debutului sau progresului tulburărilor neurodegenerative. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în întârzierea debutului sau progresului unei tulburări neurodegenerative.

Modularea axei microbiotă-intestin-creier

Comunicația între intestin și creier (axa microbiotă-intestin-creier) are loc printr-un sistem de comunicație neurohumoral bidirecțional. Dovezi recente arată că microbiota care rezidă în intestin poate modula dezvoltarea creierului și produce fenotipuri comportamentale prin axa microbiotă-intestin-creier. Într-adevăr, un număr de revizii sugerează un rol al axei microbiotă-intestin-creier în menținerea funcționalității sistemului nervos central și implică disfuncția axei microbiotă-intestin-creier în dezvoltarea tulburărilor și afecțiunilor sistemului nervos central [17],[20],[29].

Comunicația bidirecțională între creier și intestin (*adică* axa intestin-creier) include sistemul nervos central, sistemele neuroendocrine și neuroimunitare, incluzând axa hipotalamus-hipofiză-adrenală (HPA), brațele simpatice și parasimpatice ale sistemului nervos autonom (ANS), incluzând sistemul nervos enteric (ENS) și nervul vag, și microbiota intestinală.

După cum s-a demonstrat în exemple, compozițiile prezentei invenții pot modula axa microbiotă-intestin-creier și reduc moartea celulei asociate cu tulburările neurodegenerative. Corespunzător, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea tulburărilor neurodegenerative, în particular a acelor tulburări și afecțiuni asociate cu disfuncția axei microbiotă-intestin-creier.

În realizări particulare, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea unei boli sau afecțiuni selectate din grupul constând din: boala Parkinson, incluzând paralizia supranucleară progresivă, sindromul Steele-Richardson-Olszewski, hidrocefalea cu presiune normală, parkinsonismul vascular sau arteriosclerotic și parkinsonismul indus de medicamente; boala Alzheimer, incluzând sindromul Benson; boala Huntington; scleroza laterală amiotrofică; boala Lou Gehrig; boala neuronului motor; boala prion; ataxia spinocerebrală; atrofia musculară spinală; demența; incluzând corpii Lewy; demența vasculară și frontotemporală; afazia progresivă primară; deprecierea cognitivă ușoară; deprecierea cognitivă asociată cu HIV și degenerarea corticobasală.

Compozițiile invenției poate fi în special utile pentru tratarea sau prevenirea bolilor cronice, tratarea sau prevenirea bolilor la pacienții care nu au răspuns la alte terapii (cum ar fi tratamentul cu Levodopa, agoniști de dopamină, inhibitori de MAO-B, inhibitori de COMT, antagoniști de glutamat, și/sau anticolinergice), și/sau tratarea sau prevenirea deteriorării țesutului și simptoamelor asociate cu disfuncția axei microbiotă-intestin-creier.

În anumite realizări, compozițiile invenției modulează CNS. În unele realizări, compozițiile invenției modulează sistemul nervos autonom (ANS). În unele realizări, compozițiile invenției modulează sistemul nervos enteric (ENS). În unele realizări, compozițiile invenției modulează axa hipotalamică, hipofiză, adrenală (HPA). În unele realizări, compozițiile invenției modulează calea neuroendocrină. În unele realizări, compozițiile invenției modulează calea neuroimună. În unele realizări, compozițiile invenției modulează CNS, ANS, ENS, axa HPA și/sau căile neuroendocrine și neuroimune. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile de metaboliți comensali și/sau permeabilitatea gastrointestinală a unui subiect. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează sistemul dopaminergic.

Semnalizarea axei microbiotă-intestin-creier este modulată de către sistemele neurale. Corespunzător, în unele realizări, compozițiile invenției modulează semnalizarea în sistemele neurale. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează semnalizarea sistemului nervos central. În unele realizări, compozițiile invenției modulează semnalizarea în neuronii senzoriali. În alte realizări, compozițiile invenției modulează semnalizarea în neuronii motori. În unele realizări, compozițiile invenției modulează semnalizarea în ANS. În unele realizări, ANS este sistemul nervos parasimpatic. În realizările preferate, compozițiile invenției modulează semnalizarea nervului vag. În alte realizări, ANS este sistemul nervos simpatic. În alte realizări, compozițiile invenției modulează semnalizarea în sistemul nervos enteric. În anumite realizări, semnalizarea neuronilor ANS și ENS răspunde direct la conținuturile lumenale ale tractului gastrointestinal. În alte realizări, semnalizarea neuronilor ANS și ENS răspunde indirect la substanțele neurochimice produse de bacteria luminală. În alte realizări, semnalizarea neuronilor ANS și ENS răspunde la substanțele neurochimice produse de bacteria luminală sau de celulele enteroendocrine. În anumite realizări preferate, neuronii ENS activează aferenții vagali care influențează funcțiile CNS. În unele realizări, compozițiile invenției reglează activitatea celulelor enterocromafine.

Boli neurodegenerative

Tauopatiile sunt boli neurodegenerative asociate cu agregarea patologică a proteinei tau în încălcirile neurofibrilare sau gliofibrilare din creierul uman. Boala Alzheimer este un exemplu de tauopatologie. Sinucleinopatiile (denumite de asemenea α -Sinucleinopatii) sunt boli neurodegenerative caracterizate prin acumularea anormală de agregate de α -sinucleină în neuroni, fibrele nervoase sau celulele gliale. Boala Parkinson este un exemplu de sinucleinopatologie.

Există o suprapunere clinică și patologică între aceste două patologii. Pacienții cu boala Parkinson au frecvent demență și pacienții cu boala Alzheimer manifestă adesea parkinsonism [30]. De exemplu, paralizia supranucleară progresivă (cunoscută de asemenea ca sindromul Steele-Richardson-Olszewski) are o tauopatologie, dar conduce de asemenea la parkinsonism proeminent [31]. Mutațiile în *LRKK2* despre care se știe că cauzează parkinsonism sunt asociate cu acumularea de proteine de sinucleină, tau, cu nici una, sau cu ambele proteine [32].

Boala cu corpi Lewy (LBD) este o boală neurodegenerativă care este una dintre cele mai comune cauze de demență la vârstnici. LBD exemplifică existența unei continuități între patologiiile tau și sinucleină. LBD partajează caracteristicile clinice și patologice cu boala Parkinson, demența bolii Parkinson și boala Alzheimer [30].

În realizări particulare, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea tauopatiilor și/sau sinucleinopatiilor. În realizări particulare, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea tauopatiilor. În realizări particulare, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea sinucleinopatiilor. În anumite realizări, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea unei boli sau afecțiuni selectate din grupul constând din: boala Parkinson, incluzând paralizia supranucleară progresivă, sindromul Steele-Richardson-Olszewski, hidrocefalea cu presiune normală, parkinsonismul vascular sau arteriosclerotic și parkinsonismul indus de medicamente; boala Alzheimer, incluzând sindromul Benson; și demența; incluzând corpii Lewy; demența vasculară și frontotemporală.

În realizările preferate, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea bolii Parkinson, incluzând paralizia supranucleară progresivă, sindromul Steele-Richardson-Olszewski, hidrocefalea cu presiune normală, parkinsonismul vascular sau arteriosclerotic și parkinsonismul indus de medicamente. În realizările preferate, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea bolii Alzheimer, incluzând sindromul Benson. În alte realizări preferate, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea demenței; incluzând corpii Lewy; demența vasculară și frontotemporală.

Boala Parkinson

Boala Parkinson este o boală neurodegenerativă comună, caracterizată neuropatologic prin degenerarea populațiilor eterogene de celule neurale (celule care produc dopamină). Diagnosticul clinic al bolii Parkinson necesită bradikinezie și cel puțin unul din următoarele simptome de bază: tremur de odihnă; rigiditate musculară și deprecierea reflexelor posturale. Alte semne și simptome care pot fi prezente sau dezvoltate în timpul progresului bolii sunt perturbările autonome (sialoree, seboare, constipație, perturbări de micțiune, funcționalitate sexuală, hipertensiune ortostatică, hiperhidroză), perturbări de somn și perturbări în sens de miros sau în sens de temperatură. Boala Parkinson este o boală neurodegenerativă care se poate dezvolta sau persista din cauza disfuncției axei microbiotă-intestin-creier. Prin urmare, în realizările preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea bolii Parkinson la un subiect.

În alte realizări preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din genul *Roseburia*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson. Compozițiile cuprinzând o tulpină bacteriană din genul *Roseburia* pot îmbunătăți funcțiile motoare și cognitive în modelele bolii Parkinson. Tratamentul cu tulpini de *Roseburia* poate modula semnalizarea în sistemele nervoase central, autonomice și enterice; poate modula activitatea căii axei HPA; poate modula căile neuroendocrine și/sau neuroimune; și poate modula nivelurile de metaboliți comensali, markeri inflamatori și/sau permeabilitatea gastrointestinală a unui subiect, din care toate sunt implicate în neuropatologia bolii Parkinson. În realizările preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia hominis* pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson. Compozițiile utilizând *Roseburia hominis* pot fi în special eficiente pentru tratarea bolii Parkinson.

În realizările preferate, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează unul sau mai multe simptome ale bolii Parkinson la un subiect. În realizările preferate, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează unul sau mai multe simptome de bază ale bolii Parkinson la un subiect. În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează bradikinezia la un subiect. În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează tremurul de odihnă; rigiditatea musculară și/sau deprecierea reflexelor posturale la un subiect. În anumite

realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează unul sau mai multe simptome asociate cu progresul bolii Parkinson selectate dintre perturbările autonome (sialoree, seborree, constipație, perturbări de micțiune, funcționalitate sexuală, hipertensiune ortostatică, hiperhidroză), perturbări de somn și perturbări în sens de miros sau în sens de temperatură.

5 În realizările preferate, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează simptomele depresive comorbide cu boala Parkinson. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc memoria verbală și/sau funcțiile executive. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc atenția, memoria de lucru, fluența verbală și/sau anxietatea.

10 În alte realizări preferate, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează disfuncțiile cognitive comorbide cu boala Parkinson.

În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează progresul bolii Parkinson. În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează complicațiile motoare mai târzii. În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează fluctuațiile motoare mai târzii. În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează pierderea neuronală. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc simptomele de demență ale bolii Parkinson (PDD). În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează deprecierea funcției executive, atenției și/sau memoriei de lucru. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc neurotransmiterea dopaminergică. În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează neurotransmiterea dopaminergică alterată.

20 În unele realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc simptomele bolii Parkinson în conformitate cu o scală simptomatică sau de diagnostic. În anumite realizări, testele pentru evaluarea îmbunătățirii simptomatice a funcționării motoare în boala Parkinson sunt reprezentate de Scala de Notare Unificată a bolii Parkinson. În particular, UPDRS II ia în considerare activitatea vieții zilnice și UPDRS III ia în considerare examinarea motorie.

25 În unele realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc simptomele asociate cu PDD în conformitate cu un test de diagnosticare și/sau scală simptomatică. În anumite realizări, testul sau scala sunt selectate dintre Testul de Învățare Verbală Hopkins - Revizuit (HVLTR); Testul de Interferență Culoare-Cuvânt al Sistemului Funcției Executive Delis-Kaplan (D-KEFS); Scala de Notare a Depresiei Hamilton (HAM-D 17; depresie); Scala de Notare a Anxietății Hamilton (HAM-A; anxietate) și Scala de Notare Unificată a Bolii Parkinson (UPDRS; severitatea simptomelor PD).

30 În unele realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc scala de Impresie Clinică Globală - Îmbunătățire Globală (CGI-I) pentru evaluarea tulburărilor psihiatrice și neurologice. În unele realizări, compozițiile invenției afișează un efect pozitiv asupra deprecierei sociale și ocupaționale globale a subiectului cu boală Parkinson.

Boala Alzheimer și demența

35 În DSM-5, termenul demență a fost înlocuit cu termenii tulburare neurocognitivă majoră și tulburare neurocognitivă ușoară. Tulburarea neurocognitivă este o clasă eterogenă de boli psihiatrice. Cea mai comună tulburare neurocognitivă este boala Alzheimer, urmată de demența vasculară sau de forme amestecate ale celor două. Alte forme de tulburări neurodegenerative (*de exemplu* boală cu corpi Lewy, demența frontotemporală, demența Parkinson, boala Creutzfeldt-Jakob, boala Huntington, și sindromul Wernicke-Korsakoff) sunt însoțite de demență.

40 Boala Alzheimer și demența sunt de asemenea caracterizate prin pierdere neuronală, astfel încât efectele neuroprotectoare și neuroproliferative prezentate în exemplele pentru compozițiile invenției au indicat că acestea pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea acestor afecțiuni.

45 Criteriile simptomatice pentru demență sub DSM-5 sunt dovada scăderii cognitive semnificative de la un nivel de performanță anterior în unul sau mai multe domenii cognitive selectate dintre: învățare și memorie; limbaj; funcție executivă; atenție complexă; cogniție perceptual-motoare și socială. Deficiențele cognitive trebuie să interfere cu independența activităților zilnice. În plus, deficiențele cognitive nu apar exclusiv în contextul unui delir și nu sunt mai bine explicate de o altă tulburare mentală (de exemplu MDD sau schizofrenie).

50 În plus față de simptomul primar, subiecții cu tulburări neurodegenerative afișează simptome comportamentale și psihiatrice incluzând agitare, agresiune, depresie, anxietate, apatie, psihoză și perturbări ale ciclului somn-veghe.

55 Tulburările neurodegenerative se pot dezvolta sau persista din cauza disfuncției axei microbiotă-intestin-creier. Prin urmare, în realizările preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea tulburărilor neurodegenerative la un subiect. În realizările preferate, tulburarea neurodegenerativă este boala Alzheimer. În alte realizări, tulburarea neurodegenerativă este selectată dintre demență vasculară; forme amestecate de boală Alzheimer și

demență vasculară; boală cu corpi Lewy; demență frontotemporală; demență Parkinson; boală Creutzfeldt-Jakob; boală Huntington; și sindrom Wernicke-Korsakoff.

În realizările preferate, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează unul sau mai multe simptome ale tulburărilor neurodegenerative la un subiect. În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează apariția scăderii cognitive la un subiect. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc nivelul de performanță al unui subiect cu tulburări neurodegenerative în unul sau mai multe domenii cognitive selectate dintre: învățare și memorie; limbaj; funcție executivă; atenție complexă; cogniție perceptual-motoare și socială. În unele realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează apariția unuia sau mai multor simptome comportamentale și psihiatrice asociate cu tulburări neurodegenerative selectate dintre agitare, agresiune, depresie, anxietate, apatie, psihoză și perturbări ale ciclului somn-veghe.

În anumite realizări, compozițiile invenției previn, reduc sau atenuează boala simptomatică prin intervenție în mecanismele patologice suspectate la un stadiu preclinic. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc modificarea bolii, cu încetinirea sau oprirea progresului simptomelor. În unele realizări, încetinirea sau oprirea progresului simptomelor se corelează cu dovezile în întârzierea procesului neuropatologic de bază. În realizările preferate, compozițiile invenției îmbunătățesc simptomele tulburărilor neurodegenerative cuprinzând sporirea cognitivă și îmbunătățirea funcțională. În realizările preferate, compozițiile invenției îmbunătățesc simptomele comportamentale și psihiatrice de demență (BPSD). În realizările preferate, compozițiile invenției îmbunătățesc abilitatea unui subiect cu tulburare neurodegenerativă să întreprindă activități zilnice.

În realizările preferate, compozițiile invenției îmbunătățesc atât cogniția cât și funcționarea la un subiect cu boală Alzheimer. În unele realizări, compoziția invenției îmbunătățește obiectivul cognitiv la un subiect cu boală Alzheimer. În unele realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc obiectivul funcțional la un subiect cu boală Alzheimer. În realizările preferate, compozițiile invenției îmbunătățesc obiectivele cognitive și funcționale la un subiect cu boală Alzheimer. În încă alte realizări preferate, compozițiile invenției îmbunătățesc răspunsul clinic global (obiectivul global) la un subiect cu boală Alzheimer.

În unele realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc simptomele tulburărilor neurodegenerative în conformitate cu un test simptomatic sau de diagnosticare. În anumite realizări, testele pentru evaluare simptomatică a îmbunătățirii bolii Alzheimer (și a altor tulburări neurodegenerative) sunt selectate dintre obiectivul cognitiv, activitățile vieții zilnice, modificările evaluării globale, teste de calitate a vieții asociate cu sănătatea și teste de evaluare a simptomelor comportamentale și psihiatrice ale tulburărilor neurodegenerative.

În anumite realizări, testele obiectivului cognitiv pentru evaluarea îmbunătățirii simptomatice utilizează subscala cognitivă a scalei de evaluare a bolii Alzheimer (ADAS-cog) și scala clasică ADAS. În anumite realizări, îmbunătățirea simptomatică a cogniției este evaluată utilizând Bateria de Test Neurofiziologic pentru Utilizare în Boala Alzheimer (NTB).

În unele realizări, evaluarea globală a testelor de modificare utilizează scala de Impresie Clinică Globală - Îmbunătățire Globală (CGI-I) pentru evaluare psihiatrică și tulburări neurologice. În unele realizări, scala globală este Impresia pe Baza Interviuului Medicului a Modificărilor plus (CIBIC-plus). În unele realizări, scala globală este Impresia Globală a Medicului Unității de Studiu Cooperativ al Bolii Alzheimer asupra modificărilor (ADCS-CGIC).

În anumite realizări, măsurătorile calității vieții asociate cu sănătatea sunt QOL asociată cu boala Alzheimer (ADRQL) și QOL al bolii Alzheimer (QOL-AD).

În anumite realizări, testele de evaluare a simptomelor comportamentale și psihiatrice ale tulburărilor neurodegenerative sunt selectate dintre patologia comportamentală pe scala de notare a bolii Alzheimer (BEHAVE-AD); scala de notare comportamentală a demenței (BRSD); inventarul neuropsihiatric (NPI); și inventarul de agitare Cohen-Mansfield (CMAI).

În unele realizări, compozițiile invenției sunt în special eficiente la prevenirea, reducerea sau atenuarea tulburărilor neurodegenerative când sunt utilizate în combinație cu o altă terapie pentru tratarea tulburărilor neurodegenerative. În anumite realizări, astfel de terapii includ inhibitori de acetilcolinesterază incluzând donepezil (Aricept®), galantamină (Razadyne®) și rivastigmină (Exelon®), și memantină.

55 **Factori neurochimici, neuropeptide și neurotransmițători și axa microbiotă-intestin-creier**

Cum s-a evidențiat mai sus, axa microbiotă-intestin-creier este modulată de către un număr de diferite sisteme fiziologice. Axa microbiotă-intestin-creier este modulată de către un număr de molecule de semnalizare. Alterările în nivelurile acestor molecule de semnalizare conduc la boli neurodegenerative. Experimentele efectuate de inventatori au indicat că administrarea de specii *Roseburia*, și în particular de *Roseburia hominis*, poate modula nivelurile de indol și

kinurenină. Dereglarea aceste metaboliți poate conduce la boli neurodegenerative, cum ar fi boala Parkinson.

În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile de monoamine din creier și metaboliții acestora. În realizările preferate metabolitul este kinurenina. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează kinurenina, care este principala cale a metabolismului triptofanului, care servește ca o cale la producția de dinucleotidă adenină nicotinamidă (NAD⁺). Kinurenina poate fi metabolizată la compuși neuroactivi cum ar fi acidul kinurenic (KYNA) și 3-hidroxi-1-kinurenina (3-OH-1-KYN), și în etape suplimentare la acid chinolinic (QUIN). Dereglarea căii kinurenine poate conduce la activarea sistemului imunitar și la acumularea de compuși potențial neurotoxici. Alterările în metabolismul kinureninei pot fi implicate în dezvoltarea bolii Parkinson. S-a demonstrat că nivelurile de kinurenină sunt scăzute în cortexul frontal, putamen și substantia nigra pars compacta ale pacienților cu PD [33]. Prin urmare, în anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în creșterea nivelurilor de kinurenină în tratamentul bolii Parkinson.

În anumite realizări ale invenției compozițiile invenției pot crește nivelurile de kinurenină. S-a arătat că nivelurile crescute de kinurenină atenuează moartea celulelor neuronale indusă de MPP⁺ *in vitro* într-o linie celulară neuroblastom dopaminergică umană [34]. În anumite realizări, kinurenina și acidul kinurenic, pot activa receptorul aril de hidrocarbură GI (Ahr) și receptorii GPR35. Activarea receptorului Ahr induce producția de IL-22, care poate inhiba inflamația locală. Activarea GPR35 induce producerea de trifosfat de inozitol și mobilizarea Ca²⁺.

În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile de indol. În realizările preferate metabolitul este kinurenina. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează kinurenina, care este calea principală a metabolismului triptofanului.

Semnalezarea axei microbiotă-intestin-creier este modulată de către nivelurile de factori neurochimici, neuropeptide și neurotransmițători. Corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile de factori neurochimici, neuropeptidele și neurotransmițătorii. Corespunzător, în anumite realizări preferate, compozițiile invenției alterează direct biochimia CNS.

Semnalezarea axei microbiotă-intestin-creier este modulată de către nivelurile de acid γ -aminobutiric (GABA). Corespunzător, în realizările preferate, compozițiile invenției modulează nivelurile de GABA. GABA este un neurotransmițător inhibitor care reduce excitabilitatea neuronală. În anumite realizări, compozițiile invenției cresc nivelurile de GABA. În anumite realizări, compozițiile invenției scad nivelurile de GABA. În anumite realizări, compozițiile invenției alterează neurotransmiterea GABAergică. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelul transcripției GABA în diferite regiuni ale sistemului nervos central. În anumite realizări, GABA derivat din comensale traversează bariera hematoencefalică și afectează direct neurotransmiterea. În anumite realizări, compozițiile invenției conduc la o reducere a GABA în hipocampus, amigdale și/sau locus coeruleus. În anumite realizări, compozițiile invenției conduc la o creștere a GABA în regiunile corticale.

40 **Răspuns imun**

Semnalezarea axei microbiotă-intestin-creier este modulată de către alterările în răspunsul imun și factori și markeri inflamatori. Corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției pot modula răspunsul imun. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile sistemice ale moleculelor de semnalizare neuroimune în circulație. În anumite realizări preferate, compozițiile invenției modulează producția de citokine pro-inflamatoare și inflamația. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează starea inflamatorie. În anumite realizări, compozițiile invenției scad producția și secreția de IL-6. În anumite realizări, compozițiile invenției scad activarea promotorului NF κ B. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt capabile să moduleze activarea producției de IL-6 prin lipopolizaharidă endotoxină pro-inflamatorie potentă (LPS). În anumite realizări, compozițiile invenției sunt capabile să moduleze activarea promotorului NF κ B prin LPS și proteine mutante de α -sinucleină cum ar fi A53T. Nivelurile crescute de citokine în circulație sunt strâns asociate cu diferite tulburări neurodegenerative, incluzând Parkinson, demența și Alzheimer. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în reducerea nivelurilor IL-6 și/sau a nivelurilor NF κ B în tratamentul unei tulburări neurodegenerative.

Semnalezarea axei microbiotă-intestin-creier este modulată de către nivelurile de metaboliți comensali. Corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile sistemice de metaboliți ai microbiotei. În anumite realizări preferate, compozițiile invenției modulează nivelul catenei scurte a acizilor grași (SCFA). În anumite realizări nivelul de SCFA este crescut sau scăzut. În unele realizări, SCFA este acid butiric (BA) (sau butirat). În unele realizări, SCFA este acid propionic (PPA). În unele realizări, SCFA este acid acetic. În

anumite realizări, compozițiile invenției modulează abilitatea SCFA de a traversa bariera hematoencefalică.

Acetilarea și deacetilarea histonă sunt regulatori epigenetici importanți de exprimare a genei. Un dezechilibru în acetilarea și deacetilarea histonă poate conduce la apoptoză. Dereglarea unor astfel de acetiltransferaze histone a fost implicată în patogeniza asociată cu bolile neurodegenerative asociate cu vârsta, cum ar fi boala Parkinson, boala Huntington, boala Alzheimer, scleroza laterală amiotrofică și scăderea cognitivă [35]. Corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției pot modula activitatea de deacetilază histonă. În anumite realizări, compozițiile invenției pot reduce activitatea de deacetilază histonă. În anumite realizări, compozițiile invenției pot reduce activitatea de acetilază histonă.

Pacienții cu boli neurodegenerative, incluzând boala Parkinson, boala Huntington, boala Alzheimer și scleroză laterală amiotrofică, prezintă niveluri ridicate de peroxidare lipidă. Lipidele sunt vulnerabile la oxidare cu specii reactive de oxigen, și creierul este bogat în acizi grași polinesaturați. Corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției pot modula peroxidarea lipidă. În anumite realizări, compozițiile invenției pot reduce peroxidarea lipidă. Reducerea deteriorării oxidative cauzate de speciile reactive de oxigen poate fi utilizată pentru a ținti stadiile timpurii ale bolilor neurodegenerative. Corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea neurodegenerării în stadiu timpuriu. De asemenea corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în prevenirea dezvoltării unei tulburări neurodegenerative. În astfel de realizări, compozițiile invenției pot fi pentru utilizare la un pacient care a fost identificat sau cu risc de a dezvolta o tulburare neurodegenerativă.

Semnalezarea axei microbiotă-intestin-creier este modulată de către nivelurile de permeabilitate gastrointestinală. Corespunzător, în unele realizări, compozițiile invenției alterează integritatea epitelului tractului gastrointestinal. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează permeabilitatea tractului gastrointestinal. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează funcționarea și integritatea barierei tractului gastrointestinal. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează motilitatea tractului gastrointestinal. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează translocarea metaboliților comensali și a moleculelor inflamatoare de semnalizare în fluxul sanguin din lumenul tractului gastrointestinal.

Semnalezarea axei microbiotă-intestin-creier este modulată de către compoziția microbiomă din tractul gastrointestinal. Corespunzător, în anumite realizări, compozițiile invenției modulează compoziția microbiomă a tractului gastrointestinal. În anumite realizări, compozițiile invenției previn disbioza microbiomei și creșterea asociată a metaboliților toxici (de exemplu LPS). În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile de clostridium în tractul gastrointestinal. În realizările preferate, compozițiile invenției reduc nivelul de clostridium în tractul gastrointestinal. În anumite realizări, compozițiile invenției reduc nivelurile de jejuni campilobacterii. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează proliferarea bacteriilor nocive anaerobe și producția de produse neurotoxice de către aceste bacterii. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile microbiome de lactobacili și/sau bifidobacterii. În anumite realizări, compozițiile invenției modulează nivelurile microbiome de Sutterella, Prevotella, Ruminococcus genera și/sau ale familie Alcaligenaceae. În anumite realizări, compozițiile invenției cresc nivelul de lactobacili plantarum și/sau bulardii Saccharomyces.

Leziunea creierului

Exemplele demonstrează că compozițiile invenției sunt neuroprotectoare și au activitate inhibitoare HDAC. HDAC2 este o țintă crucială pentru recuperarea funcțională dintr-un accident vascular cerebral [36] și inhibarea HDAC poate preveni leziunea materiei albe [37], astfel încât compozițiile divulgate aici pot fi utile în tratamentul leziunii creierului.

În anumite realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului. În unele realizări, leziunea creierului este o leziune traumatică a creierului. În unele realizări, leziunea creierului este o leziune dobândită a creierului. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului care rezultă dintr-o traumă. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului care rezultă dintr-o tumoră. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului care rezultă dintr-un accident vascular cerebral. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului care rezultă dintr-o hemoragie a creierului. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului care rezultă din encefalită. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului care rezultă din hipoxie cerebrală. În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului care rezultă din anoxie cerebrală.

În realizările preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral. Efectele prezentate în exemple sunt în special relevante pentru tratamentul accidentului vascular cerebral. Accidentul vascular cerebral are loc când curgerea sângelui în cel puțin o parte a creierului este întreruptă. Fără o alimentare adecvată cu sânge pentru a furniza oxigen și nutrienți țesutului cerebral și pentru a îndepărta deșeurile produse din țesutul cerebral, celulele creierului încep să moară rapid. Simptoamele accidentului vascular cerebral sunt dependente de regiunea creierului care este afectată de curgerea inadecvată a sângelui. Simptoamele includ paralizie, amorțeală sau slăbiciune a mușchilor, pierderea echilibrului, amețeală, dureri de cap severe bruște, deprecierea vorbirii, pierderea memoriei, pierderea capacității de motivare, confuzie bruscă, deprecierea vederii, coma sau chiar moartea. Un accident vascular cerebral este de asemenea referit ca atac cerebral sau accident cerebrovascular (CVA). Simptoamele accidentului vascular cerebral pot fi scurte dacă curgerea adecvată a sângelui este refăcută într-o perioadă scurtă de timp. Totuși, dacă curgerea inadecvată a sângelui continuă pe o perioadă semnificativă de timp, simptoamele pot fi permanente.

În unele realizări, accidentul vascular cerebral este ischemie cerebrală. Ischemia cerebrală rezultă când există o curgere insuficientă a sângelui la țesuturile creierului pentru a îndeplini cererea metabolică. În unele realizări, ischemia cerebrală este ischemie cerebrală focală, adică restrânsă la o regiune specifică a creierului. În unele realizări ischemia cerebrală este ischemie cerebrală globală, adică care cuprinde o zonă largă a țesutului cerebral. Ischemia cerebrală focală are loc în mod obișnuit când un vas cerebral se blochează, fie parțial sau fie complet, reducând fluxul de sânge la o anumită regiune a creierului. În unele realizări ischemia cerebrală focală este accidentul vascular cerebral ischemic. În unele realizări, accidentul vascular cerebral ischemic este trombotic, adică cauzat de o tromboză sau cheag de sânge, care se dezvoltă într-un vas cerebral și restricționează sau blochează curgerea sângelui. În unele realizări accidentul vascular cerebral ischemic este un accident vascular cerebral trombotic. În unele realizări, accidentul vascular cerebral ischemic este embolic, adică cauzat de o embolie, sau o masă neatașată care circulă prin fluxul sanguin și restricționează sau blochează curgerea sângelui la un loc distant față de punctul său de origine. În unele realizări accidentul vascular cerebral ischemic este un accident vascular cerebral embolic. Ischemia cerebrală globală are loc în mod obișnuit când curgerea sângelui la creier ca întreg este blocată sau redusă. În unele realizări ischemia cerebrală globală este cauzată de hipoperfuzie, adică din cauza șocului. În unele realizări ischemia cerebrală globală este un rezultat al unui stop cardiac.

În unele realizări subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o ischemie cerebrală. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o ischemie cerebrală focală. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un accident vascular cerebral ischemic. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un accident vascular cerebral trombotic. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un accident vascular cerebral embolic. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o ischemie cerebrală globală. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o hipoperfuzie. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un stop cardiac.

În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea ischemiei cerebrale. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea ischemiei cerebrale focale. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral ischemic. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral trombotic. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral embolic. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea ischemiei cerebrale globale. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea hipoperfuziei.

În unele realizări, accidentul vascular cerebral este accident vascular cerebral hemoragic. Accidentul vascular cerebral hemoragic este cauzat de sângerarea în, sau în jurul creierului conducând la umflarea, presiunea și deteriorarea celulelor și țesuturilor creierului. Accidentul vascular cerebral hemoragic este în mod obișnuit rezultatul ruperii unui vas de sânge slăbit și recoltării în jurul creierului. În unele realizări, accidentul vascular cerebral hemoragic este o hemoragie intracerebrală, adică cauzat de sângerarea în țesutul cerebral însuși. În unele realizări hemoragia intracerebrală este cauzată de o hemoragie intraparenchimală. În unele realizări hemoragia intracerebrală este cauzată de o hemoragie intraventriculară. În unele realizări accidentul vascular cerebral hemoragic este o hemoragie subarahnoidă adică sângerarea care apare în afara țesutului cerebral dar este încă în cavitatea craniană. În unele realizări, accidentul vascular cerebral hemoragic este un rezultat al angiopatiei amiloide cerebrale. În unele realizări, accidentul

vascular cerebral hemoragic este rezultatul unui anevrism cerebral. În unele realizări, accidentul vascular cerebral hemoragic este un rezultat al malformării arteriovenoase cerebrale (AVM).

În unele realizări subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un accident vascular cerebral hemoragic. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o hemoragie intracerebrală. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o hemoragie intraparenchimală. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o hemoragie intraventriculară. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o hemoragie subarahnoidă. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit o angiopatie amiloidă cerebrală. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un anevrism cerebral. În unele realizări, subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un AVM cerebral.

În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral hemoragic. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unei hemoragii intracerebrale. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unei hemoragii intraparenchimale. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unei hemoragii intraventriculare. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unei hemoragii subarahnoidale. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unei angiopatii amiloide cerebrale. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unui anevrism cerebral. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea AVM-ului cerebral.

Refacerea curgerii adecvate a sângelui la creier după o perioadă de întrerupere, deși eficientă în atenuarea simptomelor asociate cu accidentul vascular cerebral, poate conduce paradoxal la deteriorarea în continuare a țesutului cerebral. În timpul perioadei de întrerupere, țesutul afectat suferă de lipsă de oxigen și nutrienți, și refacerea bruscă a curgerii sângelui poate conduce la inflamație și deteriorare oxidativă prin inducerea de stres oxidativ. Acest lucru este cunoscut ca leziune de reperfuzie, și este bine documentat nu numai după accidentul vascular cerebral, ci de asemenea după un atac de cord sau altă deteriorare a țesutului când alimentarea cu sânge se întoarce la țesut după o perioadă de ischemie sau lipsă de oxigen. În unele realizări subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit de o leziune de reperfuzie ca rezultat al accidentului vascular cerebral. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea leziunii de reperfuzie ca rezultat al accidentului vascular cerebral.

Un atac ischemic tranzitoriu (TIA), referit adesea ca mini-accident vascular cerebral, este un semnal de avertizare recunoscut pentru un accident vascular cerebral mai serios. Subiecții care au suferit unul sau mai multe TIA sunt prin urmare la un risc mai mare de accident vascular cerebral. În unele realizări subiectul diagnosticat cu leziune a creierului a suferit un TIA. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unui TIA. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului la un subiect care a suferit un TIA.

Presiunea sanguină ridicată, colesterolul ridicat în sânge, un istoric familial al accidentului vascular cerebral, bolile de inimă, diabetul, anevrismul cerebral, malformațiile arteriovenoase, boala celulei sickle, vasculita, tulburările de sângerare, utilizarea unor medicamente anti-inflamatoare nonsteroidiene (NSAID), fumatul, consumul unor cantități mari de alcool, utilizarea medicamentelor ilegale, obezitatea, lipsa de activitate fizică și o dietă nesănătoasă sunt toți considerați a fi factori de risc pentru accidentul vascular cerebral. În particular, s-a arătat în concluzie că scăderea presiunii sanguine previne accidentul vascular cerebral atât ischemic cât și hemoragic [38, 39]. În unele realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea leziunii creierului la un subiect care are cel puțin un factor de risc pentru accident vascular cerebral. În unele realizări subiectul are doi factori de risc pentru accident vascular cerebral. În unele realizări subiectul are trei factori de risc pentru accident vascular cerebral. În unele realizări subiectul are patru factori de risc pentru accident vascular cerebral. În unele realizări subiectul are mai mult de patru factori de risc pentru accident vascular cerebral. În unele realizări subiectul are presiune sanguină ridicată. În unele realizări subiectul are colesterol ridicat în sânge. În unele realizări subiectul are un istoric familial de accident vascular cerebral. În unele realizări subiectul are o boală de inimă. În unele realizări subiectul are diabet. În unele realizări subiectul are un anevrism cerebral. În unele realizări subiectul are malformații arteriovenoase. În unele realizări subiectul are vasculită. În unele realizări subiectul are boala celulei sickle. În unele realizări subiectul are o tulburare de sângerare. În unele realizări subiectul are un istoric de utilizarea a unor medicamente anti-inflamatoare nonsteroidiene (NSAID). În unele realizări subiectul fumează. În unele realizări subiectul consumă cantități mari de alcool. În unele realizări subiectul utilizează medicamente ilegale. În unele realizări subiectul este obez. În unele realizări subiectul este

supraponderal. În unele realizări subiectul are o lipsă de activitate fizică. În unele realizări subiectul are o dietă nesănătoasă.

Exemplele au indicat că compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea leziunii creierului și ajută la recuperare când se administrează înainte ca evenimentul leziunii să aibă loc. Prin urmare, compozițiile invenției pot fi în special utile pentru tratarea leziunii creierului când se administrează la subiecți cu risc de leziune a creierului, cum ar fi accidentul vascular cerebral.

În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în reducerea deteriorării cauzate de o potențială leziune a creierului, preferabil un accident vascular cerebral. Compozițiile pot reduce deteriorarea cauzată când ele sunt administrate înainte ca potențiala leziune a creierului să aibă loc, în particular când se administrează unui pacient identificat cu risc de leziune a creierului.

Exemplele au indicat că compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea leziunii creierului și ajută la recuperare când sunt administrate după ce evenimentul de leziune a avut loc. Prin urmare, compozițiile invenției pot fi în special utile pentru tratarea leziunii creierului când sunt administrate subiecților după o leziune a creierului, cum ar fi accidentul vascular cerebral.

În unele realizări, compozițiile invenției tratează leziunea creierului prin reducerea deteriorării motorii. În unele realizări, compozițiile invenției tratează leziunea creierului prin îmbunătățirea funcționării motorii. În unele realizări, compozițiile invenției tratează leziunea creierului prin îmbunătățirea rezistenței mușchilor. În unele realizări, compozițiile invenției tratează leziunea creierului prin îmbunătățirea memoriei. În unele realizări, compozițiile invenției tratează leziunea creierului prin îmbunătățirea recunoașterii sociale. În unele realizări, compozițiile invenției tratează leziunea creierului prin îmbunătățirea funcționării neurologice.

Tratamentul leziunii creierului se poate referi la, de exemplu, o ameliorare a severității simptomelor. Tratamentul leziunii creierului se poate referi de asemenea la o reducere a deprecierii neurologice după accidentul vascular cerebral. Compozițiile invenției pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral pot fi furnizate către subiect înaintea debutului accidentului vascular cerebral, de exemplu la un pacient identificat ca fiind cu risc de accident vascular cerebral. Compozițiile invenției pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral pot fi furnizate după ce accidentul vascular cerebral a avut loc, de exemplu, în timpul recuperării. Compozițiile invenției pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral pot fi furnizate în timpul fazei acute de recuperare (adică până la o săptămână după accidentul vascular cerebral). Compozițiile invenției pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral pot fi furnizate în timpul fazei subacute de recuperare (adică de la o săptămână până la trei luni după accidentul vascular cerebral). Compozițiile invenției pentru utilizare în tratarea accidentului vascular cerebral pot fi furnizate în timpul fazei cronice de recuperare (de la trei luni după accidentul vascular cerebral).

În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în combinație cu un agent activ secundar. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în combinație cu aspirina sau un activator plasminogen al țesutului (tPA). Alți agenți secundari includ alte antitrombocite (cum ar fi clopidogrel), anticoagulanți (cum ar fi heparină, warfarină, apixaban, dabigatran, edoxaban sau rivaroxaban), antihipertensive (cum ar fi diuretice, inhibitori ai ACE, blocați ai canalelor de calciu, beta-blocați sau alfa-blocați) sau statine. Compozițiile invenției pot îmbunătăți răspunsul pacientului la agentul activ secundar.

În anumite realizări, compozițiile invenției reduc efectul ischemiei asupra țesuturilor. În anumite realizări, compozițiile invenției reduc cantitatea de deteriorare a țesuturilor cauzată de ischemie. În anumite realizări, țesuturile deteriorate de ischemie sunt țesuturi cerebrale. În anumite realizări, compozițiile invenției reduc necroza sau numărul de celule necrotice. În anumite realizări, compozițiile invenției reduc apoptoza sau numărul de celule apoptotice. În anumite realizări, compozițiile invenției reduc numărul de celule necrotice și apoptotice. În anumite realizări, compozițiile invenției previn moartea celulei prin necroză și/sau apoptoză. În anumite realizări, compozițiile invenției previn moartea celulei prin necroză și/sau apoptoză cauzate de ischemie. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc recuperarea deteriorării țesutului afectat de ischemie. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc viteza de curățare a celulelor necrotice și/sau apoptotice. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc eficacitatea curățării celulelor necrotice și/sau apoptotice. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc înlocuirea și/sau regenerarea celulelor în țesuturi. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc înlocuirea și/sau regenerarea celulelor în țesuturile deteriorate de ischemie. În anumite realizări, compozițiile invenției îmbunătățesc histologia globală a țesutului (de exemplu după o biopsie).

Moduri de administrare

Preferabil, compozițiile invenției trebuie să fie administrate în tractul gastrointestinal pentru a permite livrarea la și/sau colonizarea parțială sau totală a intestinului cu tulpina bacteriană a invenției. În general, compozițiile invenției sunt administrate oral, dar ele pot fi administrate rectal, intranasal, sau pe cale bucală sau sublinguală.

5 În anumite realizări, compozițiile invenției pot fi administrate ca spumă, ca pulverizator sau ca gel.

10 În anumite realizări, compozițiile invenției pot fi administrate ca supozitoare, cum ar fi un supozitor rectal, de exemplu sub forma unui ulei de teobromă (unt de cacao), grăsimi dură sintetică (de exemplu supocire, witepsol), glicero-gelatină, polietilen glicol, sau compoziție de glicerină pentru săpun.

15 În anumite realizări, compoziția invenției este administrată în tractul gastrointestinal printr-un tub, cum ar fi un tub nasogastric, un tub orogastric, un tub gastric, un tub de jejunostomie (tub J), prin gastrostomie endoscopică percutanată (PEG), sau printr-un port, cum ar fi un port al peretelui toracic care furnizează acces la stomac, jejun și alte porturi de acces adecvate.

15 Compozițiile invenției pot fi administrate o dată, sau ele pot fi administrate secvențial ca parte a unui regim de tratament. În anumite realizări, compozițiile invenției trebuie să fie administrate zilnic.

20 În anumite realizări ale invenției, tratamentul conform invenției este însoțit de evaluarea microbiotei intestinale a pacientului. Tratamentul poate fi repetat dacă livrarea de, și/sau colonizarea parțială sau totală cu tulpina invenției nu este obținută astfel încât eficacitatea nu este observată, sau tratamentul poate fi oprit dacă livrarea și/sau colonizarea parțială sau totală este cu succes și se observă eficiența.

25 În anumite realizări, compoziția invenției poate fi administrată la un animal gestant, de exemplu un mamifer cum ar fi un om pentru a preveni dezvoltarea unei boli inflamatorii sau autoimune la copilul său *in utero* și/sau după ce este născut.

30 Compozițiile invenției pot fi administrate unui pacient care a fost diagnosticat cu o boală neurodegenerativă, sau care a fost identificat ca fiind cu risc de o boală neurodegenerativă. Compozițiile pot fi de asemenea administrate ca măsură profilactică pentru a preveni dezvoltarea bolii neurodegenerative la un pacient sănătos.

30 Compozițiile invenției pot fi administrate unui pacient care a fost identificat ca având o microbiotă intestinală anormală. De exemplu, pacientul poate avea o colonizare redusă sau absentă de *Roseburia*, și în particular de *Roseburia hominis*.

35 Compozițiile invenției pot fi administrate ca produs alimentar, cum ar fi un supliment nutrițional.

35 În general, compozițiile invenției sunt pentru tratamentul oamenilor, deși ele pot fi utilizate pentru a trata animale incluzând mamifere monogastrice cum ar fi păsările de curte, porcii, pisicile, câinii, caii sau iepurii. Compozițiile invenției pot fi utile pentru amplificarea creșterii și performanței animalelor. Dacă se administrează la animale, poate fi utilizat gavajul oral.

40 **Compoziții**

40 În general, compoziția invenției cuprinde bacteria. În realizările preferate ale invenției, compoziția este formulată în formă criodesicată. De exemplu, compoziția invenției poate cuprinde granule sau capsule de gelatină, de exemplu capsule de gelatină tari, cuprinzând o tulpină bacteriană a invenției.

45 Preferabil, compoziția invenției cuprinde bacterii liofilizate. Liofilizarea bacteriei este o procedură bine stabilită și ghidarea relevantă este disponibilă în, de exemplu, referirile [40-42].

Alternativ, compoziția invenției poate cuprinde o cultură bacteriană vie, activă.

50 În unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției nu a fost inactivată, de exemplu, nu a fost inactivată la căldură. În unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției nu a fost omorâtă, de exemplu, nu a fost omorâtă la căldură. În unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției nu a fost atenuată, de exemplu, nu a fost atenuată la căldură. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției nu a fost omorâtă, inactivată și/sau atenuată. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției este vie. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției este viabilă. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției este capabilă de colonizarea parțială sau totală a intestinului. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției este viabilă și capabilă de colonizarea parțială sau totală a intestinului.

55 În unele realizări, compoziția cuprinde un amestec de tulpini bacteriene vii și tulpini bacteriene care au fost omorâte.

60 În realizările preferate, compoziția invenției este încapsulată pentru a permite livrarea tulpinii bacteriene în intestin. Încapsularea protejează compoziția de degradare până la livrarea în

locația țintă prin, de exemplu, ruperea cu stimuli chimici sau fizici cum ar fi presiunea, activitatea enzimatică, sau dezintegrarea fizică, care pot fi declanșați de modificări în pH. Orice metodă de încapsulare adecvată poate fi utilizată. Exemple de tehnici de încapsulare includ captarea într-o matrice poroasă, atașarea sau adsorbția pe suprafețe purtătoare solide, auto-agregarea prin floculare sau cu agenți de reticulare, și conținutul mecanic după o membrană microporoasă sau o microcapsulă. Ghidul despre încapsulare care poate fi util pentru prepararea compozițiilor invenției este disponibil în, de exemplu, referirile [43] și [44].

Compoziția poate fi administrată oral și poate fi sub forma unei tablete, capsule sau pulberi. Produsele încapsulate sunt preferate deoarece *Roseburia* sunt anaerobe. Alte ingrediente (cum ar fi vitamina C, de exemplu), pot fi incluse ca eliminatori de oxigen și straturi prebiotice pentru a îmbunătăți livrarea și/sau colonizarea parțială sau totală și supraviețuirea *in vivo*. Alternativ, compoziția probiotică a invenției poate fi administrată oral ca aliment sau produs nutrițional, cum ar fi laptele sau produsele lactate fermentate pe bază de zer, sau ca produs farmaceutic.

Compoziția poate fi formulată ca probiotic.

O compoziție a invenției include o cantitate eficientă terapeutic dintr-o tulpină bacteriană a invenției. O cantitate eficientă terapeutic dintr-o tulpină bacteriană este suficientă pentru a exercita un efect benefic unui pacient. O cantitate eficientă terapeutic dintr-o tulpină bacteriană poate fi suficientă pentru a conduce la livrarea la și/sau colonizarea parțială sau totală a intestinului pacientului.

O doză zilnică adecvată de bacterie, de exemplu pentru un adult uman, poate fi de la aproximativ 1×10^3 până la aproximativ 1×10^{11} de unități de formare a coloniilor (CFU); de exemplu, de la aproximativ 1×10^7 până la aproximativ 1×10^{10} CFU; într-un alt exemplu de la aproximativ 1×10^6 până la aproximativ 1×10^{10} CFU.

În anumite realizări, compoziția conține tulpină bacteriană într-o cantitate de la aproximativ 1×10^6 până la aproximativ 1×10^{11} CFU/g, în raport cu greutatea compoziției; de exemplu, de la aproximativ 1×10^8 până la aproximativ 1×10^{10} CFU/g. Doza poate fi, de exemplu, de 1 g, 3g, 5g, și 10g.

De obicei, un probiotic, cum ar fi compoziția invenției, este opțional combinat cu cel puțin un compus prebiotic adecvat. Un compus prebiotic este uzual un clorhidrat non-digerabil cum ar fi o oligo sau polizaharidă, sau un alcool din zahăr, care nu este degradat sau absorbit în partea superioară a tractului digestiv. Prebioticele cunoscute includ produse comerciale cum ar fi inulina și transgalacto-oligozaharidele.

În anumite realizări, compoziția probiotică a prezentei invenții include un compus prebiotic într-o cantitate de la aproximativ 1 până la aproximativ 30% din masă, în raport cu greutatea totală a compoziției, (de exemplu de la 5 până la 20% din masă). Carbohidrații pot fi selectați din grupul constând din: fructo-oligozaharide (sau FOS), fructo-oligozaharide cu catenă scurtă, inulină, isomalt-oligozaharide, pectine, xilo-oligozaharide (sau XOS), chitosan-oligozaharide (sau COS), beta-glucani, gume arabice modificate și amidonuri rezistente, polidextroze, D-tagatoze, fibre acacia, roșcovă, ovăz, și fibre citrice. Într-un aspect, prebioticele sunt fructo-oligozaharide cu catenă scurtă (pentru simplitate prezentate aici mai jos ca FOSs-c.c); respectivele FOSs-c.c. nu sunt carbohidrați digerabili, obținuți în general prin conversia zahărului din sfeclă și incluzând o moleculă de zaharoză la care sunt legate trei molecule de glucoză.

În anumite realizări, compozițiile invenției sunt utilizate în combinație cu un alt compus terapeutic pentru tratarea sau prevenirea tulburării neurodegenerative. În unele realizări, compozițiile invenției sunt administrate cu suplimente nutriționale care modulează neuroprotecția sau neuroproliferarea. În realizările preferate, suplimentele nutriționale cuprind sau constau din vitamine nutriționale. În anumite realizări, vitaminele sunt vitamina B6, magneziul, dimetilglicina (vitamina B16) și vitamina C. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt administrate în combinație cu un alt probiotic.

În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în amplificarea efectului unui al doilea agent asupra bolii neurodegenerative. Efectele modulatorie imune ale compozițiilor invenției pot face creierul mai sensibil la terapiile convenționale cum ar fi Levodopa, agoniști de dopamină, inhibitori ai MAO-B, inhibitori de COMT, antagoniști glutamați, sau anticolinergice, care sunt exemple de agenți secundari pentru a fi administrați în combinație (secvențial sau simultan) cu compozițiile invenției.

Compozițiile invenției pot cuprinde excipienți acceptabili farmaceutic sau purtători. Exemple de astfel de excipienți adecvați pot fi găsite în referința [45]. Purtătorii sau diluanții acceptabili pentru utilizare terapeutică sunt bine cunoscuți în domeniul farmaceutic și sunt descriși, de exemplu, în referința [46]. Exemple de purtători adecvați includ lactoză, amidon, glucoză, metil celuloză, stearat de magneziu, manitol, sorbitol și altele asemenea. Exemple de diluanți adecvați

includ etanol, glicerol și apă. Alegerea purtătorului farmaceutic, excipientului sau diluantului poate fi selectată cu referire la calea de administrare intenționată și practica farmaceutică standard. Compozițiile farmaceutice pot cuprinde ca, sau în plus la, purtătorul, excipientul sau diluantul și orice liant (lianți), lubrifiant (lubrifianți), agent de punere în suspensie (agenți de punere în suspensie), agent de acoperire (agenți de acoperire), agent de solubilizare (agenți de solubilizare) adecvați. Exemple de lianți adecvați includ amidon, gelatină, zaharuri naturale cum ar fi glucoză, lactoză anhidră, lactoză liber curgătoare, beta-lactoză, îndulcitori din porumb, gume naturale și sintetice, cum ar fi acacia, tragacant sau alginat de sodiu, carboximetil celuloză și polietilen glicol. Exemple de lubrifianți adecvați includ oleat de sodiu, stearat de sodiu, stearat de magneziu, benzoat de sodiu, acetat de sodiu, clorură de sodiu și altele asemenea. Conservanții, stabilizatorii, coloranții și chiar agenții de aromatizare pot fi furnizați în compoziția farmaceutică. Exemple de conservanți includ benzoat de sodiu, acid sorbic și esteri de acid p-hidroxibenzoic. Antioxidanții și agenții de punere în suspensie pot fi de asemenea utilizați.

Compozițiile invenției pot fi formulate ca produs alimentar. De exemplu, un produs alimentar poate furniza un beneficiu nutrițional în plus față de efectul terapeutic al invenției, cum ar fi într-un supliment nutrițional. În mod similar, un produs alimentar poate fi formulat pentru a ameliora gustul compoziției invenției sau pentru a face compoziția mai atractivă pentru consum fiind mai similară cu un articol alimentar comun, mai degrabă decât cu o compoziție farmaceutică. În anumite realizări, compoziția invenției este formulată ca produs pe bază de lapte. Termenul „produs pe bază de lapte” înseamnă orice produs lichid sau semi-solid pe bază de lapte sau zer având un conținut variabil de grăsime. Produsul pe bază de lapte poate fi, de exemplu, lapte de vacă, lapte de capră, lapte de oaie, lapte degresat, lapte integral, lapte recombinat din pulbere de lapte și zer fără nici o procesare, sau un produs procesat, cum ar fi iaurtul, laptele prins, cașul, laptele acru, laptele acru integral, laptele bătut și alte produse din lapte acru. O altă grupă importantă include băuturile din lapte, cum ar fi băuturile din zer, laptele fermentat, laptele condensat, laptele pentru sugari sau copii, laptele aromatizat, înghețata; alimente care conțin lapte cum ar fi dulciurile.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene din genul *Roseburia* și nu conțin bacterii din nici un alt gen, sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-un alt gen. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene din genul *Roseburia*, care nu conțin bacterii din nici o alt gen sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-un alt gen, pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia hominis* și nu conțin bacterii din nici o altă specie, sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia hominis*, care nu conține bacterii din nici o altă specie sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie, pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia intestinalis* și nu conțin bacterii din nici o altă specie, sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia intestinalis*, care nu conțin bacterii din nici o altă specie sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii din altă specie, pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia faecis* și nu conțin bacterii din nici o altă specie, sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia faecis*, care nu conține bacterii din nici o altă specie sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie, pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia hominis* și nu conțin bacterii din nici o altă specie *Roseburia*, sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie *Roseburia*. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia hominis*, care nu conține bacterii din nici o altă specie *Roseburia* sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie *Roseburia*, pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia intestinalis* și nu conțin bacterii din nici o altă specie *Roseburia*, sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie *Roseburia*. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia intestinalis*, care nu conține bacterii din nici o altă specie *Roseburia* sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie *Roseburia*, pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia faecis* și nu conțin bacterii din nici o altă specie *Roseburia*, sau care cuprind numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă specie *Roseburia*. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene ale speciilor *Roseburia faecis*, care nu conține bacterii din nici o altă specie *Roseburia* sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii din nici o altă specie *Roseburia*, pentru utilizare în terapie.

În anumite realizări, compozițiile invenției conțin o singură tulpină bacteriană sau specie și nu conțin nici o altă tulpină bacteriană sau specie. Astfel de compoziții pot cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic din alte tulpini bacteriene sau specii. Astfel de compoziții pot fi o cultură care este substanțial fără alte specii de organisme.

În unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o singură tulpină bacteriană din genul *Roseburia*, care nu conține bacterii din nici o altă tulpină sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă tulpină pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o singură tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia hominis*, care nu conține bacterii din nici o altă tulpină sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă tulpină pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o singură tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia intestinalis*, care nu conține bacterii din nici o altă tulpină sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă tulpină pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o singură tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia faecis*, care nu conține bacterii din nici o altă tulpină sau care cuprinde numai *de minimis* sau cantități irelevante biologic de bacterii dintr-o altă tulpină pentru utilizare în terapie.

În unele realizări, compozițiile invenției cuprind mai mult de o tulpină bacteriană. De exemplu, în unele realizări, compozițiile invenției cuprind mai mult de o tulpină din aceeași specie (de exemplu mai mult de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 sau 45 de tulpini), și, opțional, nu conțin bacterii din nici o altă specie. În unele realizări, compozițiile invenției cuprind mai puțin de 50 de tulpini din aceeași specie (de exemplu mai puțin de 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 sau 3 tulpini), și, opțional, nu conțin bacterii din nici o altă specie. În unele realizări, compozițiile invenției cuprind 1-40, 1-30, 1-20, 1-19, 1-18, 1-15, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2, 2-50, 2-40, 2-30, 2-20, 2-15, 2-10, 2-5, 6-30, 6-15, 16-25, sau 31-50 de tulpini din aceeași specie și, opțional, nu conțin bacterii din nici o altă specie. Invenția cuprinde orice combinație a celor anterioare.

În unele realizări, compoziția cuprinde un consorțiu microbian. De exemplu, în unele realizări, compoziția cuprinde tulpina bacteriană *Roseburia* ca parte a unui consorțiu microbian. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană *Roseburia* este prezentă în combinație cu una sau mai multe (de exemplu cel puțin 2, 3, 4, 5, 10, 15 sau 20) alte tulpini bacteriene din alte genuri cu care ea poate trăi simbiotic *in vivo* în intestin. De exemplu, în unele realizări, compoziția cuprinde o tulpină bacteriană de *Roseburia* în combinație cu o tulpină bacteriană dintr-un gen diferit. În unele realizări, consorțiul microbian cuprinde două sau mai multe tulpini bacteriene obținute dintr-o mostră de excremente a unui singur organism, de exemplu un om. În unele realizări, consorțiul microbian nu este găsit împreună în natură. De exemplu, în unele realizări, consorțiul microbian cuprinde tulpini bacteriene obținute din mostre de excremente de la cel puțin două organisme diferite. În unele realizări, cele două organisme diferite sunt din aceeași specie, de exemplu de la doi oameni diferiți. În unele realizări, cele două organisme diferite sunt un sugar uman și un adult uman. În unele realizări, cele două organisme diferite sunt un om și un mamifer non-uman.

În unele realizări, compoziția invenției cuprinde suplimentar o tulpină bacteriană care are aceleași caracteristici de siguranță și eficacitate terapeutică ca tulpina MRx0001, dar care nu este MRx0001, sau care nu este o *Roseburia hominis*.

În unele realizări, compoziția invenției cuprinde suplimentar o tulpină bacteriană care are aceleași caracteristici de siguranță și eficacitate terapeutică ca tulpina A, dar care nu este tulpina A, sau care nu este o *Roseburia intestinalis*.

În unele realizări în care compoziția invenției cuprinde mai mult de o tulpină bacteriană, specie sau gen, tulpinile bacteriene individuale, speciile sau genurile pot fi pentru administrare separată, simultană sau secvențială. De exemplu, compoziția poate cuprinde toate dintre mai mult de o tulpină bacteriană, specii sau genuri, sau tulpinile bacteriene, speciile sau genurile pot fi depozitate separat și pot fi administrate separat, simultan sau secvențial. În unele realizări, mai mult de o tulpină bacteriană, specii sau genuri sunt depozitate separat dar sunt amestecate împreună înainte de utilizare.

În unele realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție este obținută din excremente de adult uman. În unele realizări în care compoziția invenției cuprinde mai mult de o tulpină bacteriană, toate dintre tulpinile bacteriene sunt obținute din excremente de adult uman sau dacă alte tulpini bacteriene sunt prezente ele sunt prezente numai în cantități *de minimis*. Bacteria poate să fi fost cultivată după ce a fost obținută din excremente de adult uman și utilizată într-o compoziție a invenției.

În unele realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție este obținută din excremente de sugar uman. În unele realizări în care compoziția invenției cuprinde mai mult de o tulpină bacteriană, toate dintre tulpinile bacteriene sunt obținute din excremente de sugar uman sau dacă alte tulpini bacteriene sunt prezente, ele sunt prezente numai în cantități *de minimis*. Bacteria poate să fi fost cultivată după ce a fost obținută din excremente de sugar uman și utilizată într-o compoziție a invenției.

Cum s-a menționat mai sus, în unele realizări, una sau mai multe tulpini bacteriene *Roseburia* este/sunt singurul agent (agenți) terapeutic activ într-o compoziție a invenției. În unele realizări, tulpina bacteriană (tulpinile bacteriene) din compoziția este/sunt singurul agent (agenți) terapeutic activ într-o compoziție a invenției.

Compozițiile pentru utilizare conform invenției pot sau nu pot necesita aprobarea de lansare pe piață.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care respectiva tulpină bacteriană este liofilizată. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care respectiva tulpină bacteriană este pulverizată uscat. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau pulverizată uscat și în care este vie. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau pulverizată uscat și în care este viabilă. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau pulverizată uscat și în care este capabilă de colonizarea parțială sau totală a intestinului. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau pulverizată uscat și în care este viabilă și capabilă de colonizarea parțială sau totală a intestinului.

În unele cazuri, tulpina bacteriană liofilizată este reconstituită înainte de administrare. În unele cazuri, reconstituirea este prin utilizarea unui diluant descris aici.

Compozițiile invenției pot cuprinde excipienți acceptabili farmaceutic, diluanți sau purtători.

În anumite realizări, invenția furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând: o tulpină bacteriană a invenției; și un excipient acceptabil farmaceutic, purtător sau diluant; în care tulpina bacteriană este într-o cantitate suficientă pentru a trata o tulburare neurodegenerativă când se administrează unui subiect care are nevoie de aceasta.

În anumite realizări, invenția furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând: o tulpină bacteriană a invenției; și un excipient acceptabil farmaceutic, purtător sau diluant; în care tulpina bacteriană este într-o cantitate suficientă pentru a trata sau preveni o tulburare neurodegenerativă.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care cantitatea de tulpină bacteriană este de la aproximativ 1×10^3 până la aproximativ 1×10^{11} unități de formare a coloniilor pe gram față de greutatea compoziției.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care compoziția este administrată la o doză de 1 g, 3 g, 5 g sau 10 g.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care compoziția este administrată printr-o metodă selectată din grupul constând din oral, rectal, subcutanat, nazal, bucal, și sublingual.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând un purtător selectat din grupul constând din lactoză, amidon, glucoză, metil celuloză, stearat de magneziu, manitol și sorbitol.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând un diluant selectat din grupul constând din etanol, glicerol și apă.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând un excipient selectat din grupul constând din amidon, gelatină, glucoză, lactoză anhidră, lactoză liber curgătoare, beta-lactoză, îndulcitor de porumb, acacia, tragacant, alginat de sodiu, carboximetil celuloză, polietilen glicol, oleat de sodiu, stearat de sodiu, stearat de magneziu, benzoat de sodiu, acetat de sodiu și clorură de sodiu.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând în plus cel puțin un conservant, un antioxidant și un stabilizator.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând un conservant selectat din grupul constând din benzoat de sodiu, acid sorbic și esterii ai acidului p-hidroxibenzoic.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care respectiva tulpină bacteriană este liofilizată.

În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care când compoziția este depozitată într-un recipient etanșat la aproximativ 4°C sau la aproximativ 25°C și recipientul este plasat într-o atmosferă având 50% umiditate relativă, cel puțin 80% din tulpina bacteriană după cum s-a măsurat în unitățile de formare a coloniilor, rămâne după o perioadă de cel puțin aproximativ: 1 lună, 3 luni, 6 luni, 1 an, 1,5 ani, 2 ani, 2,5 ani sau 3 ani.

În unele realizări, compoziția invenției este prevăzută într-un recipient etanșat cuprinzând o compoziție cum s-a descris aici. În unele realizări, recipientul etanșat este un pliculeț sau sticlă. În unele realizări, compoziția invenției este prevăzută într-o seringă cuprinzând o compoziție cum s-a descris aici.

Compoziția din prezenta invenție poate, în unele realizări, să fie furnizată ca formulare farmaceutică. De exemplu, compoziția poate fi furnizată ca tabletă sau capsule. În unele realizări, capsula este o capsulă cu gelatină („gel-cap”).

În unele realizări, compozițiile invenției sunt administrate oral. Administrarea orală poate implica înghițirea, astfel încât compusul intră în tractul gastrointestinal, și/sau administrarea bucală, linguală, sau sublinguală prin care compusul intră în fluxul sanguin direct din gură.

Formulările farmaceutice adecvate pentru administrare orală includ dopuri solide, microparticule solide, semi-solide și lichide (incluzând faze multiple sau sisteme dispersate) cum ar fi tablete; capsule moi sau tari conținând multi sau nano-particule, lichide (de exemplu soluții apoase), emulsii sau pulberi; pastile (inclusiv umplute cu lichid); gume; geluri; forme de dozare cu dispersare rapidă; filme; ovule; pulverizatoare; și plasturi bucali/mucoadezivi.

În unele realizări formularea farmaceutică este o formulare enterică, adică o formulare gastro-rezistentă (de exemplu, rezistentă la pH-ul gastric) care este adecvată pentru livrarea compoziției invenției în intestin prin administrare orală. Formulările enterice pot fi în special utile când bacteria sau o altă componentă a compoziției este sensibilă la acid, de exemplu predispusă la degradare sub condiții gastrice.

În unele realizări, formularea enterică cuprinde o acoperire enterică. În unele realizări, formularea este o formă de dozare acoperită enteric. De exemplu, formularea poate fi o tabletă acoperită enteric sau o capsulă acoperită enteric, sau altele asemenea. Acoperirea enterică poate fi o acoperire enterică convențională, de exemplu, o acoperire enterică convențională pentru o tabletă, capsulă, sau altele asemenea pentru livrare orală. Formularea poate cuprinde un film de acoperire, de exemplu, un strat subțire de film al unui polimer enteric, de exemplu un polimer insolubil în acid.

În unele realizări, formularea enterică este enterică intrinsec, de exemplu, gastro-rezistentă fără necesitatea unei acoperiri enterice. Astfel, în unele realizări, formularea este o formulare enterică care nu cuprinde o acoperire enterică. În unele realizări, formularea este o capsulă făcută dintr-un material termogel. În unele realizări, materialul termogel este un material celulozic, cum ar fi metilceluloză, hidroximetilceluloză sau hidroxipropilmetilceluloză (HPMC). În unele realizări, capsula cuprinde o carcasă care nu conține nici un polimer de formare a filmului. În unele realizări, capsula cuprinde o carcasă și carcasa cuprinde hidroxipropilmetilceluloză și nu cuprinde nici un polimer de formare a filmului (de exemplu vezi [47]). În unele realizări, formularea este o capsulă enterică intrinsecă (de exemplu, Vcaps® de la Capsugel).

În unele realizări, formularea este o capsulă moale. Capsulele moi sunt capsule care pot, din cauza adăugării de agenți de înmuiere, cum ar fi, de exemplu, glicerol, sorbitol, maltitol și polietilen glicoli, prezenți în carcasa capsulei, avea o anumită elasticitate și moliciune. Capsulele moi pot fi produse, de exemplu, pe bază de gelatină sau amidon. Capsulele moi pe bază de gelatină sunt disponibile comercial de la diferiți furnizori. Depinzând de metoda administrării, cum ar fi, de

exemplu, oral sau rectal, capsulele moi pot avea diferite forme, ele pot fi, de exemplu, rotunde, ovale, alungite sau în formă de torpilă. Capsulele moi pot fi produse prin procedee convenționale, cum ar fi, de exemplu, procedeul Scherer, procedeul Accogel sau procedeul prin picurare sau suflare.

5 **Metode de cultivare**

Tulpinile bacteriene pentru utilizare în prezenta invenție pot fi cultivate utilizând tehnici microbiologice standard cum s-a detaliat în, de exemplu, referirile [48-50].

Mediul solid sau lichid utilizat pentru cultură poate fi agar YCFA sau mediu YCFA. Mediul YCFA poate include (pe 100ml, valori aproximative): casitonă (1,0 g), extract de drojdie (0,25 g), NaHCO₃ (0,4 g), cisteină (0,1 g), K₂HPO₄ (0,045 g), KH₂PO₄ (0,045 g), NaCl (0,09 g), (NH₄)₂SO₄ (0,09 g), MgSO₄ · 7H₂O (0,009 g), CaCl₂ (0,009 g), resazurin (0,1 mg), hemin (1 mg), biotină (1 μg), cobalamin (1 μg), acid *p*-aminobenzoic (3 μg), acid folic (5 μg), și piridoxamină (15 μg).

Tulpini bacteriene pentru utilizare în compozițiile vaccinului

15 Inventatorii au identificat că tulpinile bacteriene ale invenției sunt utile pentru tratarea sau prevenirea tulburărilor neurodegenerative. Acest lucru este probabil un rezultat al efectului pe care tulpinile bacteriene ale invenției îl au asupra sistemului imunitar al gazdei. Prin urmare, compozițiile invenției pot fi de asemenea utile pentru prevenirea tulburărilor neurodegenerative, când se administrează ca compoziții pentru vaccin. În anumite astfel de realizări, tulpinile bacteriene ale invenției pot fi omorâte, inactivate sau atenuate. În anumite astfel de realizări, compozițiile pot cuprinde un vaccin adjuvant. În anumite realizări, compozițiile sunt pentru administrare prin injecție, cum ar fi prin injecție subcutanată.

General

25 Practica din prezenta invenție va utiliza, dacă nu se indică altfel, metode convenționale de chimie, biochimie, biologie moleculară, imunologie și farmacologie, de competența domeniului. Astfel de tehnici sunt explicate complet în literatură. Vezi, de exemplu, referirile [51] și [52-58], etc.

Termenul „cuprinzând” cuprinde „incluzând” precum și „constând” de exemplu o compoziție „cuprinzând” X poate consta exclusiv din X sau poate include și ceva suplimentar de exemplu X + Y.

30 Termenul „aproximativ” în relație cu o valoare numerică *x* este opțional și înseamnă, de exemplu, *x*±10%.

Cuvântul „substanțial” nu exclude „complet” de exemplu o compoziție care este „substanțial fără” Y poate fi complet fără Y. Unde este necesar, cuvântul „substanțial” poate fi omis din definiția invenției.

Referirile la un procentaj identitate de secvență între două secvențe de nucleotide înseamnă că, atunci când sunt aliniate, procentajul de nucleotide este același în compararea celor două secvențe. Această aliniere și procente de omologie sau de identitate de secvență pot fi determinate utilizând programe software cunoscute în domeniu, de exemplu cele descrise în secțiunea 7.7.18 din ref. [59]. O aliniere preferată este determinată cu algoritmul de căutare a omologiei Smith-Waterman utilizând o căutare de gol afin cu o penalizare de deschidere a golului de 12 și o penalizare de extensie a golului de 2, matricea BLOSUM de 62. Algoritmul de căutare a omologiei Smith-Waterman este divulgat în ref. [60].

45 În afară de cazul când se menționează specific, un procedeu sau metodă cuprinzând numeroase etape poate cuprinde etape suplimentare la începutul sau sfârșitul metodei, sau poate cuprinde etape de intervenție suplimentare. De asemenea, etapele pot fi combinate, omise sau efectuate într-o ordine alternativă, dacă este adecvat.

Sunt descrise aici diferite realizări ale invenției. Se va aprecia că caracteristicile specificate în fiecare realizare pot fi combinate cu alte caracteristici specificate, pentru a furniza alte realizări. În particular, realizările evidențiate aici ca fiind adecvate, tipice sau preferate pot fi combinate una cu cealaltă (exceptând cazul când ele sunt exclusive reciproc).

MODURI DE EFECTUARE A INVENȚIEI

Exemplul 1 - Eficacitatea bacteriei inocula de a reduce secreția de IL-6.

Rezumat

55 Activarea citokinelor proinflamatorii a fost asociată cu deteriorarea neuronilor în boala neurodegenerativă. Lipopolizaharida (LPS) este un stimulator cunoscut de citokine proinflamatoare IL-6. Celulele astrocitom glioblastom umane au fost tratate cu compoziții cuprinzând tulpini bacteriene conform invenției în combinație cu LPS pentru a observa abilitatea lor de a modula nivelurile de IL-6.

Material și Metode

Tulpină bacteriană

Roseburia hominis* MRx0001*Linie celulară**

MG U373 este un astrocitom glioblastom uman derivat dintr-o tumoare malignă și a fost cumpărat de la Sigma-Aldrich (cat n. 08061901-1VL). Celulele astrocitom glioblastom umane MG U373 au fost crescute în MEM (Sigma Aldrich, cat n. M-2279) suplimentat cu 10% FBS, 1% Pen Strep, 4mM L-Glut, soluție de aminoacid non-esențială 1X MEM și piruvat de sodiu 1X.

Metodă

Odată crescute, celulele MG U373 au fost placcate pe o placă cu 24 de godeuri la 100.000 celule/godeu. Celulele au fost tratate cu LPS (1ug/mL) singur sau cu 10% supernatant de bacterie din MRx0001 timp de 24 ore. A fost de asemenea efectuat un control unde celulele au fost incubate în mediu netratat. Celulele au fost tratate cu 10% supernatant de bacterie din MRx0001 sau YCFA singur timp de 24 ore. A fost de asemenea efectuat un control unde celulele au fost incubate în mediu netratat. După aceea celulele fără supernatanți au fost colectate, centrifugate la 10.000g timp de 3min la 4°C. IL-6 a fost măsurat utilizând trusa ELISA IL-6 uman de la Peprotech (cat n.#900-K16) în conformitate cu instrucțiunile fabricantului.

Rezultate

Rezultatele acestor experimente sunt prezentate în Figura 1 și Figura 9. Tratamentul celulelor neuroblastom cu LPS și tulpină bacteriană a condus la o scădere în nivelul de IL-6 secretat față de același nivel la celulele de control care au fost netratate cu LPS (Figura 1). Tratamentul celulelor neuroblastom cu *Roseburia hominis* a condus la o scădere în nivelul de IL-6 secretat, sub nivelurile observate la celulele tratate cu control (Figura 9).

Exemplul 2 - Eficacitatea bacteriei inocula de a reduce activarea NFκB**Rezumat**

Activarea promotorului NFκB conduce la producția de citokine proinflamatoare incluzând IL-1β, IL-1α, IL-18, TNFα și IL-6. Promotorul NFκB poate fi activat de α-sinucleină și LPS prin stimularea ligandului TLR4. Mutațiile în α-sinucleină, cum ar fi α-sinucleina A53T, sunt implicate în Parkinsonul familial. Tratamentul celulelor neuronale cu LPS simulează Parkinsonul cauzat de factori din mediu. A fost investigată abilitatea compozițiilor cuprinzând tulpini bacteriene conform invenției de a inhiba activarea promotorului NFκB.

Material și Metode**Tulpină bacteriană*****Roseburia hominis* MRx0001****Linie celulară**

TLR4 albastre Hek umane au fost cumpărate de la InvivoGen (cat n. hkb-hlr4). TLR4 albastre Hek umane au fost crescute în DMEM bogat în glucoză (Sigma Aldrich, cat n. D-6171) suplimentat cu 10% FBS, 1% Pen Strep, 4mM L-Glut, Normocin și soluție de selecție albastră 1X HEK.

Metodă

Odată crescute, celulele albastre Hek umane au fost placcate într-o placă cu 96 de godeuri la 25.000 celule/godeu în 4 replicare. Un set al celulelor a fost tratat cu α-sinucleină A53T (1ug/mL) singură sau cu 10% supernatant de bacterie din MRx0001 timp de 22 ore. Al doilea set de celule a fost tratat cu LPS (10 ng/mL, din serotip Typhimurium de Salmonella enterica, Sigma Aldrich, cat n. L6143) singur sau cu 10% supernatant de bacterie din MRx0001 timp de 22 ore. Celulele au fost ulterior centrifugate și 20ul de supernatant au fost amestecați cu 200ul de reactiv Quanti albastru (InvivoGen, cat n. rep-qb2), incubate timp de 2 ore și absorbanta citită la 655nm.

Rezultate

Rezultatele acestor experimente sunt prezentate în Figurile 2 și 3. Figura 2 arată că activarea promotorului NFκB de către α-sinucleină este inhibată de MRx0001. Figura 3 arată că activarea promotorului NTκB prin LPS este inhibată de MRx0001.

Exemplul 3 - Eficacitatea bacteriei inocula de a altera capacitatea antioxidantă**Rezumat**

Abilitatea compozițiilor cuprinzând tulpini bacteriene conform invenției de a altera capacitatea antioxidantă. Capacitatea antioxidantă a tulpinii bacteriene a fost stabilită utilizând bine cunoscutul test ABTS (acid 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolină-6-sulfonic)).

Tulpină bacteriană***Roseburia hominis* MRx0001****Metodă**

Celulele bacteriene (10⁶ sau mai multe) au fost colectate și centrifugate. Ele au fost resuspendate în tampon de testare (utilizând de trei ori volumul peletului). Suspensia a fost sonicată pe gheață timp de 5 minute și apoi centrifugată la 12.000 x g timp de 10 minute.

Supernatantul a fost îndepărtat și măsurat utilizând trusa de testare ABTS produsă de Sigma Aldrich (cod CS0790), în conformitate cu instrucțiunile fabricantului.

Rezultate

Rezultatele acestor experimente sunt prezentate în Figura 4. Figura 4 arată că MRx0001 are o capacitate antioxidantă de aproximativ 1mM în comparație cu Trolox.

Exemplul 4 - Eficacitatea bacteriei inocula de a altera nivelurile de peroxidare lipidă

Rezumat

A fost investigată abilitatea compozițiilor cuprinzând tulpini bacteriene conform invenției de a altera nivelurile de peroxidare lipidă. A fost utilizat testul tiobarbituric de substanțe reactive (TBARS) pentru a măsura produsele secundare ale peroxidării lipide.

Material și Metode

Tulpină bacteriană

Roseburia hominis MRx0001

Metodă

Celulele bacteriene (10^6 sau mai multe) au fost colectate și centrifugate, a fost efectuată o etapă de spălare cu soluție salină izotonică înainte ca peletul să fie resuspendat în tampon de testare cu clorură de potasiu. Suspensia a fost sonicată pe gheață timp de 10 minute și apoi centrifugată la 10.000 x g timp de 10 minute. Supernatantul a fost îndepărtat și nivelul de peroxidare lipidă evaluat utilizând testul tiobarbituric de substanțe reactive.

Rezultate

Rezultatele experimentelor sunt prezentate în Figura 5. Figura 5 arată că MRx0001 este capabil să inhibe peroxidarea lipidă cu aproximativ 18 %, care este o capacitate antioxidantă mai ridicată decât controlul pozitiv, hidroxitoluen butilat (1% m/v).

Exemplul 5 - Eficacitatea bacteriei inocula asupra activității de deacetilază histonă

Rezumat

A fost investigată abilitatea compozițiilor cuprinzând tulpini bacteriene conform invenției de a altera activitatea de deacetilază histonă. Dereglarea deacetilazei histone a fost implicată în patogeniza bolilor neurodegenerative asociate cu vârsta.

Material și Metode

Tulpină bacteriană

Roseburia hominis MRx0001

Linie celulară

Linia celulară HT-29 a fost utilizat deoarece este prezentă deacetilaza histonă.

Metodă

Celulele fără supernatanți din culturi bacteriene de fază staționară au fost izolate prin centrifugare și filtrate într-un filtru de 0,22 μ m. Celulele HT-29 au fost utilizate la 3 zile după confluență și oprite în 1 mL DTS cu 24 ore înainte de începerea experimentului. Celulele HT-29 au fost provocate cu 10 % supernatant fără celule diluat în DTS și au fost lăsate să incubeze timp de 48 ore. Proteinele nuclează au fost apoi extrase utilizând trusa de extragere a nucleazei Sigma Aldrich și mostrele au fost congelate instantaneu înainte de măsurarea activității HDAC. Activitatea HDAC a fost evaluată fluorometric utilizând trusa Sigma Aldrich (UK).

Rezultate

Rezultatele experimentelor sunt prezentate în Figura 6. Figura 6 arată că MRx0001 este capabilă să reducă nivelurile activității deacetilazei histone.

Exemplul 6 - Nivelul producției de indol în bacterie

Rezumat

A fost investigată abilitatea bacteriei invenției de a produce indol. Indolul a fost implicat în atenuarea inflamației și stresului oxidativ.

Material și Metode

Tulpină bacteriană

Roseburia hominis MRx0001

ATCC 11775 este o tulpină bacteriană de referință care este cunoscută pentru producerea de indol.

Metodă

Celulele bacteriene intacte în fază staționară au fost incubate cu 6mM Triptofan timp de 48 ore. Speciile bacteriene care posedă enzima triptofanază vor utiliza triptofan ca substrat pentru a produce indol. După o perioadă de incubare de 48 ore, supernatantul a fost îndepărtat și s-a adăugat la reactivul Kovac pentru cuantificarea indolului. Standardele, soluțiile stoc și reactivii au fost preparate utilizand metode standardizate validate intern.

Rezultate

Rezultatele experimentelor sunt prezentate în Figura 7. Figura 7 arată că MRx0001 are capacitatea de a produce indol din triptofan, la concentrații de aproximativ 0,25mM.

Exemplul 7 - Nivelul producției de kinurenine în bacterie

Rezumat

- 5 A fost investigată abilitatea bacteriei invenției de a produce kinurenină. Dereglarea căii kinurenine poate conduce la activarea sistemului imunitar și la acumularea de compuși potențial neurotoxici. Alterările în metabolismul kinureninei pot fi implicate în dezvoltarea bolii Parkinson.

Tulpină bacteriană

Roseburia hominis MRx0001

- 10 DSM 17136 este o tulpină de Bacteroides copricola care este cunoscută pentru producerea de kinurenină.

Metodă

- 15 Celulele fără supernatanți din culturi bacteriene de fază staționară au fost izolate prin centrifugare și filtrate într-un filtru de 0,22 μm și congelate până la utilizare. Standardele kinurenine, soluțiile stoc și reactivii au fost preparate utilizând metode standardizate validate intern. Mostra a fost tratată cu acid tricloroacetic și centrifugată la 10.000xg timp de 10 minute la 4°C. Supernatantul a fost colectat și dispensat într-o placă cu 96 de godeuri. A fost utilizat reactivul Ehrlich pentru detecția kinureninei și a fost adăugat la un raport de 1:1.

Rezultate

- 20 Rezultatele experimentelor sunt prezentate în Figura 8. Figura 8 arată că MRx0001 are capacitatea de a produce kinurenină la o concentrație de aproximativ 50 μM.

Exemplul 8 - Testarea stabilității

- 25 O compoziție descrisă aici conținând cel puțin o tulpină bacteriană descrisă aici este depozitată într-un recipient etanșat la 25°C sau 4°C și recipientul este plasat într-o atmosferă având 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90% sau 95% umiditate relativă. După 1 lună, 2 luni, 3 luni, 6 luni, 1 an, 1,5 ani, 2 ani, 2,5 ani sau 3 ani, cel puțin 50%, 60%, 70%, 80% sau 90% din tulpina bacteriană va rămâne, după cum s-a măsurat în unități de formare a coloniilor, determinată prin protocoalele standard.

Exemplul 9 - Eficacitatea bacteriei inocula de a reduce secreția de IL-6.

- 30 **Rezumat**

- Activarea citokinelor proinflamatoare a fost asociată cu deteriorarea neuronilor în boala neurodegenerativă. Lipopolizaharidă (LPS) este un stimulator cunoscut de citokine proinflamatoare IL-6. Celulele astrocitom glioblastom umane au fost tratate cu compoziții cuprinzând tulpini bacteriene conform invenției în combinație cu LPS pentru a observa abilitatea lor de a modula nivelurile de IL-6.

Material și Metode

Tulpină bacteriană

Roseburia intestinalis Tulpină A

Roseburia faecis Tulpină B

- 40 **Linie celulară**

- MG U373 este un astrocitom glioblastom uman derivat dintr-o tumoră malignă și a fost cumpărat de la Sigma-Aldrich (cat n. 08061901-1VL). Celulele astrocitom glioblastom umane MG U373 au fost crescute în MEM (Sigma Aldrich, cat n. M-2279) suplimentat cu 10% FBS, 1% Pen Strep, 4mM L-Glut, soluție de aminoacid non-esențială 1X MEM și piruvat de sodiu 1X.

- 45 **Metodă**

Odată crescute, celulele MG U373 au fost placcate pe o placă cu 24 de godeuri la 100.000 celule/godeu. Celulele au fost tratate în următoarele condiții timp de 24 ore:

- LPS (1μg/mL)
- LPS cu 10% supernatant de bacterie din tulpina A
- 50 • LPS cu 10% supernatant de bacterie din tulpina B
- LPS cu mediu YCFA
- YCFA

A fost de asemenea efectuat un control unde celulele au fost incubate în mediu netratat.

- 55 După aceea celulele fără supernatanți au fost colectate, centrifugate la 10.000g timp de 3min la 4°C. IL-6 a fost măsurat utilizând trusa ELISA IL-6 uman de la Peprotech (cat n.#900-K16) în conformitate cu instrucțiunile fabricantului.

Rezultate

Rezultatele acestor experimente sunt prezentate în Figurile 10 și 12. Tratamentul celulelor neuroblastom cu LPS și tulpinile A și B de bacterie a condus la o scădere în nivelul de IL-6

secretată față de același nivel la celulele de control care au fost netratate cu LPS (Figurile 10A și 12A).

Tratamentul celulelor neuroblastom cu *Roseburia intestinalis* și *Roseburia faecis* a condus la o scădere în nivelul de IL-6 secretată sub nivelurile observate la celulele tratate cu control (Figurile 10B și 12B).

Exemplul 10 - Eficacitatea bacteriei inoculate de a reduce activarea NFκB

Rezumat

Activarea promotorului NFκB conduce la producția de citokine proinflamatoare incluzând IL-1β, IL-1α, IL-18, TNFα și IL-6. Promotorul NFκB poate fi activat de α-sinucleină și LPS prin stimularea ligandului TLR4. Mutațiile în α-sinucleină, cum ar fi α-sinucleina A53T, sunt implicate în Parkinsonul familial. Tratamentul celulelor neuronale cu LPS simulează Parkinsonul cauzat de factori din mediu. A fost investigată abilitatea compozițiilor cuprinzând tulpini bacteriene conform invenției de a inhiba activarea promotorului NFκB.

Material și Metode

Tulpină bacteriană

***Roseburia intestinalis* Tulpină A**

***Roseburia faecis* Tulpină B**

Linie celulară

TLR4 albastre Hek umane au fost cumpărate de la InvivoGen (cat n. hkb-htr4). TLR4 albastre Hek umane au fost crescute în DMEM bogat în glucoză (Sigma Aldrich, cat n. D-6171) suplimentat cu 10% FBS, 1% Pen Strep, 4mM L-Glut, Normocin și soluție de selecție albastră HEK 1X.

Metodă

Odată crescute, celulele albastre Hek umane au fost placcate pe o placă cu 96 de godeuri la 25.000 celule/godeu în 4 replicare. Un set de celule a fost tratat cu α-sinucleină A53T (1μg/mL) singură sau cu 10% supernatant de bacterie din tulpina A sau tulpina B timp de 22 ore. Al doilea set de celule a fost tratat cu LPS (10 ng/mL, din serotip Typhimurium de Salmonella enterica, Sigma Aldrich, cat n. L6143) singur sau cu 10% supernatant de bacterie din tulpina A sau tulpina B timp de 22 ore. Celulele au fost ulterior centrifugate și 20ul de supernatant au fost amestecați cu 200ul de reactiv albastru Quanti (InvivoGen, cat n. rep-qb2), incubate timp de 2 ore și absorbanta citită la 655nm.

Rezultate

Rezultatele acestor experimente sunt prezentate în Figurile 11 și 13.

Secvențe

SEQ ID NO:1 (Tulpină *Roseburia hominis* A2-181 genă ARN ribozomală 16S, secvență parțială - AY804148)

1 taaaggttga tccggtctca ggaatgaacgc tggagggctg cttacacacat gcaagtcgaa
 61 cgaagcactt taattgattt cttcgggaatg aagtttttgt gactgagtg gggacgggtg
 121 agtaacggct gggtaacctc gctcctacag ggggataaca gttggaaacg actgctaata
 181 ccgcataagc gcacaggatt gcatgatcca gtgtgaaaaa ctcgggtggg atgagatgga
 241 ccgcgtctcg attagccagt tggcggggta acgycaccac aaagcgaaga tcaatagccg
 301 acctgagagg gtgaccggcc acattgggac tgagacacgg cccaaactcc taaggagggc
 361 agcagtgagg aatattgcac aatgggggaa accctgatgc agcgaaggcg agtgagcgaa
 421 gaagtatttc ggtatgtasa gctctatcag cagggaagaag aatgacggta cctgactaaa
 481 aagcacccgg taaatacgtg ccagcagccg cggtaatacg tatggtgcaa gcgttatccg
 541 gatctactgg gtgtaaaagg agcgcaggcg gtaaggcaag tctgatgtga aatccggggg
 601 ctcaaccocg gtaactgcatt ggaacctgtc ggaactagggt gcttgagggg taagtggast
 661 tccatagtga gcggtgaast gcgtagatat taggaggaac accagtggcg aagggggctt
 721 actggaagac tactgaagct gaggtccgaa agcgtgggga gcaaacaggg ttatataccc
 781 tggtagtcca ccgcgttaac gatgaatact aggtgtcggg gagcatttgt cttcgggtgc
 841 gcagcaaacg caataagtat tccacctggg gactaogtcc gcaagaatga aactcaaaag
 901 aattgacggg gacccgcaca agcgggtggg catgtgggtt aattcgaaag aacgcgaaga
 961 accttaacca gtcttgacat cccactgaca aagtatgtaa tgtactttct cttcggagca
 1021 gtggtgacag gtggtgcatg gttgtgctca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtc
 1081 cgcacggagc gcaaccccta ttcttagtgg ccagcgggtt ggcggggcac tctaggagga
 1141 ctgccaggga taacctggag gaaggtgggg atgacgtcaa atcatcatgc ccttatgac
 1201 ttgggtctca cactgtctac aatggcgtaa acaaagggaa gcaatccgcg gagggggagc
 1261 aaatctcaca aataacgtct cagttcggac tgtagtctgc aactcgacta caagaaagctg
 1321 gaatcgctag taatcgcgaa tcagaatgtc ggggtgaata cgttccgggg tctgtacac
 1381 accgcccgtc acaccatggg agttggtaat gcccgaaagtc agtgacccaa ccgcaaggag
 1441 ggagctgccc aagcaggact gataactggg gtgaagtcgt aacaaagt

SEQ ID NO:2 (*Roseburia hominis* A2-183 genă ARNr 16S, tip tulpină A2-183T-AJ270482)

1 gatccctggc caggatgaac gctggcggcg tgccttaaac atgcaagtcg aacgaagcac
 61 ttttaattgat ttcttcggaa tgaagttttt gtgactgagt ggcggacggg tgagtaacgc
 121 gtgggtaacn tgcctcctac aggggggataa cagtgggaaa cgaactgctaa taocgcataa
 181 ggcgcacagg taagctgato cagtgtgaaa aactccggtg gcatgagatg gaccgcgttc
 241 tgattagcca gttggcgggg taacgggcca ccaaaagcgac gatcagtagc cgaactgaga
 301 gggtagcccg ccacattggg actgagacac ggcaccaact cctacgggag gcagcagtg
 361 ggaatattgc acaatggggg aaacctgatg gcagcgacgc cgcgtgagcg aagaagtatt
 421 tcggtatgta aagctctatc agcagggaag aagaatgcgg tacctgacta agaagcaccg
 481 gctaaataac tgccagcagc cgcggtaata cgtatggtgc aagcgttatc cggatttact
 541 ggggtgaaag ggagcgcagg cggtagcgca agtctgatgt gaaatcccg ggctcaacc
 601 cggtagtcca ttggaaactg tcggactaga gtgtcggagg ggtaagtgga attcctagt
 661 tagcggtgaa atgcgtgat attaggagga acaccagtgg cgaaggcggc ttactggagc
 721 attactgacg ctgaggctcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc
 781 cagccgtaaa acgatgaata ctagggtgcg gggagcattg ctcttcggtg ccgcagcaaa
 841 cgcaataagt attccacctg gggagtagct tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg
 901 gggacccgca caagcgggtg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc
 961 aagtcttgac atccactga cagagtatgt aatgtacttt ctcttcggag cagtgtgtgac
 1021 aggtgtgtga tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga
 1081 gcgcaacccc tattcttagt agccagcggg tcggccgggc actctaggga gactgccagg
 1141 gataacctgg aggaaggtgg ggatgacgtc aaatcatcat gcccttatg acttgggcta
 1201 cacacgtgct acaatggcgt aaacaaaggg aagcaatccc gcgaggggga gcaaatctca
 1261 aaaataacgt ctcaattcgg actgtagtct gcaactcgac tacacgaagc tggaatcgct
 1321 agtaatcgcg aatcagaatg tcggcgtgaa tacgttcccg ggtcttgtag acaccgccc
 1381 tcacaccatg ggagttggta atgccggaag tcagtgaacc aaccgcaagg agggagctgc
 1441 cgaaggcagg actgataact ggggtgaagt cgtaacaagg gtacg

SEQ ID NO:3 (secvență ARNr 16S de consens pentru tulpina *Roseburia hominis* 433)

AAGAGTTTGGGHCAGGCTCGGATGAACGCTGGCGCGTGTAAACACATSCAAGTCGAAACGAGGCBCTTTAATTGA
 TTTCTTCGGAATGAAGTTTTGTGACTGAGTGGCGACGGGTGASTAACGCTGGGTAACTTGCCTCATACAGGGG
 ATACAGTTCGAAACGACTGCTAATAACGCTAAGCGCACAGGATTGCAATGATCCAGTGTGAABAACTCCGGTGGTA
 TGAGATGGACCCGGTCTGATTAAGCCASTTGGCGGGTAAACGGCCACCAAGCGGAGATCASTAGCCGACCTGAGA
 GGTTGACCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGACAGTGGGGAATATTGCACATGG
 GGGAAACCTGATGCAGCGACCGCGTGAAGCAAGANGTATTTGATATGTAAGGCTCTATCGCAGGGAGAGABA
 ATGACGGTACCTGACTAAGAGCACCGGCTAATACTGCGACGACCGCGTAATAAGTATGATGCAAGCGTTATC
 CGGTTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGCAGGGGGTACGSCAAGTCTGATGTGAATCCCGGGGCTCAACCCCGTACT
 GCCTTGGAACTGTTCGGACTAGAGTGTGCGGAGGGGTAAAGTGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAATGGGAGATTA
 GGAGGACACCCAGTGGCGAAGGGGGCTTACTGGAGGTTACTGAGCGCTAGGCTCGAAACCGTGGGGAGCAACAGG
 ATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGAATACTAGGTTGTGCGGAGGCAATTCCTCTTCGGTCCCGACCA
 AAGGCAATAGTATNCCACCTGGGAGTACGTTGCGAAGATGAATCTCAAGGATGACGGGAGCCGACACAGC
 GGTGGAGCTGTGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCCACTGACAGGATATGTA
 TGTACTTTCCTCTTCGGAGCASTGGTGAAGGTTGCTATGGTGTGCTGACCTCGTGTGCTGAGATGTTGGTTAAG
 TCCTGACAGGAGCGCAACCTCTATTCCTTGGTAGCCAGCGGTTGGGCGGCACTCTAGGAGAGTGGCAGGGATAC
 CTGGAGGAGGTTGGGATGAGCTCAAAATCATCATGCCCCCTTATGACTTGGCTACACACCTGCTACATGGCGTAA
 CAAAGGAGAACCAATCCCGCGAGGGGAGGCAAAATCTCAAAATAACGCTCTCASTTCGAGCTGTAGTCTGCACTGAC
 TACACAGAGCTTGAATGCTAGTAAATGCGAATCAGAAATGTCCGCTGAAATAGGTTCCCGGCTCTGTACACACCGC
 CCGTCAACCATGAGAGTTGTTAATGCCCCGAGGTCAGTGAACCAACCGCAGGAGGGAGCTGCCAAGGCGAGGACTG
 ATAACTGGGTGAAGTCTACBAGGTTAGCCGTRMC.

SEQ ID NO:5 (secvență ARNr 16S de consens, tulpină A *Roseburia intestinalis*)

gctccctcct tgcgggtggg tcaactgaatt cgggcattac caactcccat ggtgtgacgg 60
 gcggtgtgta caagaccggg gaacgtattc accgcgacat tctgattcgc gattactagc 120
 gattccagct tcgtgcagtc gagttgcaga ctgcagtcgg aactgagacg ttatttttga 180
 gatttgcctc ccctgcagg ctcgcttccc tttgtttaag ccattgtagc acgtgtgtag 240
 cccaagtcac aaggggcatg atgatttgac gtcacccca ccttcctcca ggttatccct 300
 ggcagtcctc ctagagtgc cggcttacc cgtggctact aagaatagg gttgcgctcg 360
 ttgcgggact taaccacaaca tctcacgaca cgagctgacg acaaccatgc accacctgtc 420
 accgatgctc cgaagagaaa acacattaca tgttctgtca tcgggatgtc aagacttggt 480
 aaggttcctc gcgttgcttc gaattaaacc acatgtcca ccgcttgtgc ggtccccgt 540
 caattccttt gagtttcatt cttgcgaacg tactccccag gtggaatact tattgcgttt 600
 gctgcggcac cgaagagcaa tgcctcccca cactagtagt tcatcgttta cggcgtggac 660
 taccagggtg tctaactctg tttgtcccc acgctttcga gcctcagcgt cagtaatcgt 720
 ccagtaagcc gccttcgcca ctggtgttcc tctaataatc tacgcatttc accgctacac 780
 taggaattcc acttaccct cggacactct agtcgacag ttccaatgc agtaccggg 840
 ttgagcccg ggttttcaca tcagacttgc cgtaccgcct gcgtccctt tacaccagc 900
 aaatccggat aacgcttgca ccatacgtat taccgcggt gctggcacgt atttagccg 960
 tgcttcttag tcaggtaccg tcatttcttc ttccctgnc gatagagctt tacataccga 1020
 aatacttctt cgtcacgcg gcgtcgtgc atcagggttt ccccatgtg gcaatattcc 1080
 ccaactgctc ctcocgtagg agtttggg cgtgtctcag cccaatgtgg ccggtcacc 1140
 tctcaggctg gctactgat gtcgctttgg taggcggtta cccaccaac tggctaata 1200
 gacgcgggtc catctcatac caccggagtt ttccacacca ggtcatgcga ccctgtgcgc 1260
 ttatgcggta ttagcagtcg ttccaactg ttatccccgt gtatgaggca ggttaccac 1320
 gcgttactca ccgctccgc actcagtcac aaaatcttca ttccgaagaa atcaataaaa 1380
 gtgcttcgtt cgactgca 1398

5 SEQ ID NO:6 (secvență ARNr 16S de consens, tulpină B *Roseburia faecis*)

```

agctccctcc ttgcgggttg gtcactgaact tcggacattt ccaactccca tgggtgtgacg 60
ggcggtgtgtg acaagacccg ggaacgtatt caccgcagca ttctgatctg cgattactag 120
cgattccagc ttogttagt cgggttgag actacagtc gaactgagac gttattttt 180
agatttgctc ggctccacgg ctttgcttcc ctttgtttao ggcattgtag cactgtgtga 240
gcccaggtca taaggggcat gatgatttga cgtcatcccc gcttctctcc aggttatccc 300
tggcagttct cctagagtgc ccggccgaaa cgttggttac taaggacagg ggttgccctc 360
gttgccgggac ttaaccgaaa atctcagaa acgaggtgac gacaaacctg caccacctgt 420
cacogattgt ccgaagagaa agtacattac atactctgtc atcgggtgtg caagacttgg 480
taaggttctt cgcgttgcct cgaattaaac cactgtctcc accgcttgtg cgggtccccg 540
tcaattctct tgagtttcat tcttgccgac gtactcccca ggtggaatac ttattgcgtt 600
tgctggggca ccgaagagca atgctccccg acacctagta ttcatcgttt accggttgg 660
ctaccagggg atctaatctt gtttgctccc cactgcttgg agctccagcg tcaattatcg 720
tccagtaagc cgccttccgc actggtgttc ctctaatat ctacgatttt caccgttaca 780
ctaggaattc cacttcccc tccgacactc tagtacgaca gtttccaatg cagtaaccgg 840
gttgagcccc gggcttccac atcagacttg ccgcaccgac tgcgtctcct ttacacccag 900
tasatccgga taacgcttgc accatacgtc ttaccgcggc tgcgggcagc tatttagccg 960
gtgcttctta gtcaggtagc gtcattcttc ttccctgctg atagagcttt acataccgaa 1020
atactcttcc gctcagcggg cgtcgtgtgc tcagggttcc cccattgtg caatattccc 1080
cactgtgcc tccgtagga gtttgggccc tgtctcagtc ccaatgtggc cgtcaccct 1140
ctcagtgctg ctactgatcg tcgctttggt aggcggttac cctgccaaact ggtaatacag 1200
acgcgggtcc atctcatacc accggagttt ttacaccgg atcatcgcat cctgtgcgct 1260
tatgcggtat tagcagtcgt ttccaaactgt tatccccctg tatgaggcag gttaccacag 1320
cgttactcac ccgtccgcca ctcagtcaca aaatcttcat ttccgaagaa aatcaaatag 1380
agtgttctgt ccgactgcag 1400

```

5 REFERIRI

- [1] Spor și colab. (2011) *Nat Rev Microbiol.* 9(4):279-90.
- [2] Eckburg și colab. (2005) *Science.* 10;308(5728): 1635-8.
- [3] Macpherson și colab. (2001) *Microbes Infect.* 3(12):1021-35
- 10 [4] Macpherson și colab. (2002) *Cell Mol Life Sci.* 59(12):2088-96.
- [5] Mazmanian și colab. (2005) *Cell* 15;122(1):107-18.
- [6] Frank și colab. (2007) *PNAS* 104(34): 13780-5.
- [7] Scanlan și colab. (2006) *J Clin Microbiol.* 44(11):3980-8.
- [8] Kang și colab. (2010) *Inflamm Bowel Dis.* 16(12):2034-42.
- 15 [9] Machiels și colab. (2013) *Gut.* 63(8):1275-83.
- [10] WO 2013/050792
- [11] WO 03/046580
- [12] WO 2013/008039
- [13] WO 2014/167338
- 20 [14] Goldin și Gorbach (2008) *Clin Infect Dis.* 46 Suppl 2:S96-100.
- [15] Azad și colab. (2013) *BMJ.* 347:f6471.
- [16] WO2013/050792
- [17] Mayer și colab (2014) *The Journal of Neuroscience* 34(46):15490-15496
- [18] Cryan și Dinan (2015) *Neuropsychopharmacology*, 40: 241-2.
- 25 [19] Zhou și Foster (2015) *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 11: 715-723.
- [20] Wang și Kasper (2014) *Brain Behav Immun.* 38: 1-12.
- [21] WO2016/203221
- [22] Capitol 38 - Nonsteroidal anti-inflammatory drugs exposure and the central nervous system (2014) *Handbook of Clinical Neurology* 119, 577-584
- 30 [23] Stanton și Savage (1983) *Appl Environ Microbiol.* 45(5):1677-84
- [24] Duncan și colab. (2006) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56: 2437-2441
- [25] Masco și colab. (2003) *Systematic and Applied Microbiology*, 26:557-563.
- [26] Srůtkova și colab. (2011) *J. Microbiol. Methods*, 87(1):10-6.
- [27] Pal R și colab, *Neurol Res* 2016, 38(12):1111-1122
- 35 [28] Daniele SG și colab, *Sci Signal* 2015, 8(376):ra45

- [29] Wang și colab. (2016) J Neurogastroenterol Motil 22: 589-605.
 [30] Foguem & Manckoundia (2018) Current Neurology and Neuroscience Reports, 18: 24
 [31] Ludolph și colab. (2009) Eur J Neurol. 16(3): 297-309.
 [32] Galpern & Lang (2006) Neurological Progress 59 (3) 449-458
 5 [33] Zadori și colab (2012) Journal of Neural Transmission, 119, 2, 275-283
 [34] Lee și colab (2008) European J. Cell Biology 87:389-397
 [35] Pirooznia și Elefant (2013) Front Cell Neurosci. 7: 30.
 [36] Tang, și colab. (2017) JAm Heart Assoc, 6(10).
 [37] Wang și colab. (2015) PNAS 112(9):2583-2858
 10 [38] Psaty și colab. (2003) JAMA, 289(19):2534-44
 [39] Lancet. (1995) 346(8991-8992):1647-53
 [40] Miyamoto-Shinohara și colab. (2008) J. Gen. Appl. Microbiol., 54, 9-24.
 [41] Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, ed. de Day și McLellan, Humana Press.
 [42] Leslie și colab. (1995) Appl. Environ. Microbiol. 61, 3592-3597.
 15 [43] Mitropoulou și colab. (2013) J Nutr Metab. (2013) 716861.
 [44] Kailasapathy și colab. (2002) Curr Issues Intest Microbiol. 3(2):39-48.
 [45] Handbook of Pharmaceutical Excipients, ediția a 2-a, (1994), editat de A Wade și PJ Weller
 [46] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985)
 [47] US 2016/0067188
 20 [48] Handbook of Microbiological Media, ediția a patra (2010) Ronald Atlas, CRC Press.
 [49] Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press
 [50] Strobel (2009) Methods Mol Biol. 581:247-61.
 [51] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. ediția a 20-a, ISBN: 0683306472.
 25 [52] Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream și colab., eds., 1998, Academic Press).
 [53] Methods In Enzymology (S. Colowick și N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
 [54] Handbook of Experimental Immunology, Volume. I-IV (D.M. Weir și C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications)
 30 [55] Sambrook și colab. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, ediția a 3-a (Cold Spring Harbor Laborator Press).
 [56] Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
 [57] Ausubel și colab. (eds) (2002) Short protocols in molecular biology, ediția a 5-a (Current
 35 Protocols).
 [58] PCR (Introduction to Biotechniques Series), ed. a 2-a (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
 [59] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel și colab., eds., 1987) Supliment 30
 [60] Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489.
 40

LISTĂ DE SECVENȚE

- <110> 4D PHARMA RESEARCH LIMITED
 45 <120> COMPOZIȚII CUPRINZAND TULPINI BACTERIENE
 <130> P070773WO
 <141> 2018-06-14
 <150> GB 1709466.5
 <151> 2017-06-14
 50 <150> GB 1709533.2
 <151> 2017-06-15
 <160> 5
 <170> SeqWin2010, versiunea 1.0
 <210> 1
 55 <211> 1487
 <212> ADN
 <213> Roseburia hominis
 <400> 1

ttaaaggttga	tcctggctca	ggatgaacgc	tggaggcgtg	cttaacacat	gcaagtcgaa	60
cgaagcactt	taattgattt	cttcggaatg	aagtttttgt	gactgagtgg	cggacgggtg	120
agtaacgcgt	gggtaacctc	gctcatcacg	ggggataaca	gttggaacag	actgctaata	180
ccgcataagc	gcacaggatt	gcatgatcca	gtgtgaaaaa	ctccggtggg	atgagatgga	240
cccgcgctctg	attagccagt	tggcggggta	acggccccacc	aaagcgacga	tcagtagccg	300
acctgagagg	gtgaccggcc	acattggggac	tgagacacgg	cccaaactcc	tacggggaggc	360
agcagtgggg	aattattgcac	aatgggggaa	accctgatgc	agcgacgccc	agtgagcgaa	420
gaagtattttc	ggtatgtaaa	gctctatcag	caggaagaag	aatgacggta	cctgactaaa	480
aagcaccggc	taaatacgtg	ccagcagccc	cggtaatacg	tatggtgcaa	gcgttatccg	540
gatttactgg	gtgtaaaggg	agcgcaggcg	gtacggcaag	tctgatgtga	aatcccgggg	600
ctcaaccccc	gtactgcatt	ggaaactgtc	ggactagggt	gtctgagggg	taagtggagt	660
tccctagtgtg	gcggtgaaat	gcgtagatat	taggaggaac	accagtggcg	aaggcggctt	720
actggacgat	tactgacgct	gaggctcgaa	agcgtgggga	gcaaacagga	ttagataccc	780
tggtagtcca	cgccgtaaac	gatgaatact	aggtgtcggg	gagcattgct	cttcggtgcc	840
gcagcaaacg	caataagtat	tccacctggg	gagtacgttc	gcaagaatga	aactcaaagg	900
aattgacggg	gacccgcaca	agcgtgggag	catgtggttt	aattcgaagc	aacgcgaaga	960
accttaccac	gtcttgacat	cccactgaca	aagtatgtaa	tgtactttct	cttcggagca	1020
gtggtgacag	gtggtgcatg	gttgctcgta	gctcgtgtcg	tgagatgttg	ggttaagtcc	1080
cgcaacgagc	gcaaccccta	ttcttagtag	ccagcgggtt	ggccggggac	tctagggaga	1140
ctgccaggga	taacctggag	gaagtgggg	atgacgtcaa	atcatcatgc	cccttatgac	1200
ttgggctaca	cacgtgctac	aatggcgtaa	acaaagggaa	gcaatccccg	gagggggagg	1260
aaatctcaaa	aataacgtct	cagttcggac	tgtagtctgc	aactcgacta	cacgaagctg	1320
gaatcgctag	taatcgcgaa	tcagaatgtc	gcggtgaata	cggttccggg	tcttgtagac	1380
accgcccgtc	acaccatggg	agttggtaat	gcccgaaagc	agtgacccaa	ccgcaaggag	1440
ggagctgcgc	aagcaggact	gataactggg	gtgaagtcgt	aacaagt		1487

<210> 2

<211> 1485

<212> ADN

5 <213> Roseburia hominis

<400> 2

gatcctggct	caggatgaac	gctggcggcg	tgcttaacac	atgcaagtcg	aacgaagcac	60
tttaattgat	ttcttcggaa	tgaagttttt	gtgactgagt	ggcggacggg	tgagtaacgc	120
gtgggtaacc	tgccctcatc	agggggataa	cagtttgaaa	cgactgctaa	taccgcataa	180
gcgcacagga	ttgcatgatc	cagtggtgaa	aactccgggt	gtatgagatg	gacccgcgtc	240
tgattagcca	gttggcgggg	taacggccca	ccaaagcgac	gatcagtagc	cgacctgaga	300
gggtgacccg	gcacattggg	actgagacac	ggcccaaaact	cctacgggag	gcagcagtg	360
ggaatattgc	acaatggggg	aaaccctgat	gcagcgacgc	cgcgtagagc	aagaagtatt	420
tcggtatgta	aagctctatc	agcagggaag	aagaatgcgg	tacctgacta	agaagcaccg	480
gctaaatacg	tgccagcagc	cgcgtaata	cgtatggtgc	aagcgttatc	cggatttact	540
gggtgtaaa	ggagcgcagg	cggtaacggc	agtctgatgt	gaaatccccg	ggctcaacc	600
cggtactgca	ttggaaaactg	tcggactaga	gtgtcgagg	ggtaagtggg	attcctagt	660
tagcggtgaa	atgcgtagat	attaggagga	acaccagtgg	cgaaggcggc	ttactggacg	720
attactgacg	ctgaggctcg	aaagcgtggg	gagcaaacag	gattagatac	cctggtagtc	780
cacgccgtaa	acgatgaata	ctaggtgtcg	gggagcattg	ctcttcggtg	ccgcagcaaa	840
cgcaataagt	attccacctg	gggagtacgt	tcgcaagaat	gaaactcaaa	ggaattgacg	900
gggacccgca	caagcgggtg	agcatgtggt	ttaattcgaa	gcaacgcgaa	gaaccttacc	960
aagtcttgac	atcccactga	cagagtatgt	aatgtacttt	ctcttcggag	cagtgggtgac	1020
aggtggtgca	tggttgtcgt	cagctcgtgt	cgtgagatgt	tggtttaagt	cccgcaacga	1080
gcgcaacccc	tattcttagt	agccagcggg	tcggccgggc	actctaaggga	gactgccagg	1140
gataaacctg	aggaaggtgg	ggatgacgtc	aaatcatcat	gccccttatg	acttgggcta	1200
cacacgtgct	acaatggcgt	aaacaaagg	aagcaatccc	gcgaggggga	gcaaactca	1260
aaaataacgt	ctcagttcgg	actgtagtct	gcaactcgac	tacacgaagc	tggaatcgct	1320
agtaatcgcg	aatcagaatg	tcgcggtgaa	tacgttcccc	ggtcttgtag	acaccgcccc	1380
tcacaccatg	ggagttggtg	atgcccgaa	tcagtgaacc	aaccgcaagg	agggagctgc	1440
cgaaggcagg	actgataact	ggggtgaagt	cgtaacaagg	gtacg		1485

<210> 3

10 <211> 1500

<212> ADN

<213> Roseburia hominis

<400> 3

aagagtttgg	ghcaggctca	ggatgaacgc	tggcggcgtg	cttaacacat	gcaagtcgaa	60
cgaagcactt	taattgattt	cttcggaatg	aagtttttgt	gactgagtgg	cggacgggtg	120
agtaacgcgt	gggtaacctg	cctcatcacg	ggggataaca	gttggaacg	actgctaata	180
ccgcataagc	gcacaggatt	gcatgatcca	gtgtgaaaaa	ctccggtggt	atgagatgga	240
ccccgcgtctg	attagccagt	tggcggggta	acggccccacc	aaagcgacga	tcagtagccg	300
acctgagagg	gtgaccggcc	acattggggac	tgagacacgg	cccaaactcc	tacgggaggc	360
agcagtgggg	aattattgcac	aattgggggaa	accctgatgc	agcgacgccc	cgtgagcgaa	420
gaagtatttc	ggtatgtaaa	gctctatcag	cagggaagaa	gaatgacggt	acctgactaa	480
gaagcaccgg	ctaaatacgt	gccagcagcc	gcggtaatac	gtatggtgca	agcgttatcc	540
ggatttactg	ggtgtaaagg	gagcgcaggg	ggtacggcaa	gtctgatgtg	aaatcccggg	600
gctcaacccc	ggtactgcat	tggaaactgt	cggactagag	tgtcggaggg	gtaagtggaa	660
ttcctagtgt	agcgggtgaaa	tgcgtagata	ttaggaggaa	caccagtggc	gaaggcggct	720
tactggacga	ttactgacgc	tgaggctcga	aagcgtgggg	agcaaacagg	attagatacc	780
ctggtagtcc	acgccgtaaa	cgatgaatac	taggtgtcgg	ggagcattgc	tcttcgggtg	840
cgcagcaaac	gcaataagta	tnccacctgg	ggagtagcgt	cgcaagaatg	aaactcaaag	900
gaattgacgg	ggaccgcac	aagcgggtgga	gcntgtggtt	taattcgaag	caacgcgaag	960
aaccttacca	agtcttgaca	tcccactgac	agagtatgta	atgtactttc	tcttcggagc	1020
agtggtgaca	ggtggtgcat	ggttgtcgtc	agctcgtgtc	gtgagatgtt	gggttaagtc	1080
ccgcaacgag	cgcaaccctt	attcttagta	gccagcgggt	tggccgggca	ctctagggag	1140
actgccaggg	ataacctgga	ggaagggtgg	gatgacgtca	aatcatcatg	cccttatga	1200
cttgggctac	acacgtgcta	caatggcgta	aacaaaggga	agcaatcccg	cgagggggag	1260
caaactctcaa	aaataacgtc	tcagttcgga	ctgtagtctg	caactcgact	acacgaagct	1320
ggaatcgcta	gtaatcgcta	atcagaatgt	cgcggtgaat	acgttcccgg	gtcttgtaca	1380
caccgcccgt	cacaccatgg	gagttggtaa	tgcccgaagt	cagtgaccca	accgcaagga	1440
gggagctgcc	gaaggcagga	ctgataaactg	gggtgaagtc	tacrsagggt	agccgtrmmc	1500

<210> 5

<211> 1398

<212> ARN

5 <213> Roseburia intestinalis

<400> 5

gctccctcct	tgcgggttggg	tcactgactt	cgggcattac	caactcccat	ggtgtgacgg	60
gcggtgtgta	caagaccggg	gaacgtattc	accgcgacat	tctgattcgc	gattactagc	120
gattccagct	tcgtgcagtc	gagttgcaga	ctgcagtcog	aactgagacg	ttatttttga	180
gatttgcctc	ccctcgacgg	ctcgtctccc	tttgtttacg	ccattgtagc	acgtgtgtag	240
cccaagtcat	aaggggcatg	atgatttgac	gtcatcccca	ccttcctcca	ggttatccct	300
ggcagttctc	ctagagtgc	cggcttaacc	gctggctact	aagaataggg	gttgccgctcg	360
ttgcgggact	taaccaca	tctcacgaca	cgagctgacg	acaaccatgc	accacctgtc	420
accgatgctc	cgaagagaaa	acacattaca	tgttctgtca	tcgggatgtc	aagacttggg	480
aaggttcttc	gcgttgcttc	gaattaaacc	acatgctcca	ccgcttgtgc	gggtccccgt	540
caattctctt	gagtttcatt	cttgcgaaac	tactccccag	gtggaatact	tattgcgttt	600
gctgcggcac	cgaagagcaa	tgtccccga	cacctagtat	tcctcgttta	cggcgtggac	660
taccagggtg	tctaactctg	tttgcctccc	acgctttcga	gcctcagcgt	cagtaatcgt	720
ccagtaagcc	gccttcgcca	ctggtgttcc	tcctaataatc	tacgcatttc	accgctacac	780
taggaattcc	acttaccctt	ccgacactct	agtcggacag	tttccaatgc	agtaccgggg	840
ttgagccccg	ggctttcaca	tcagacttgc	cgtaccgcct	gcgctccctt	tacaccaggt	900
aaatccggat	aacgcttgca	ccatacgtat	taccggcgct	gctggcacgt	atttagccgg	960
tgcttcttag	tcaggtaccg	tcattttctt	ttccctgnct	gatagagctt	tacataccga	1020
aatacttctt	cgctcacgcg	gcgtcgctgc	atcagggttt	ccccattgtt	gcaatattcc	1080
ccactgctgc	ctcccgtagg	agtttgggac	gtgtctcagt	cccaatgtgg	ccggtcaccc	1140
tctcaggtcg	gctactgatc	gtcgctttgg	taggcggtta	ccccaccaac	tggtataatca	1200
gacgcgggtc	catctcatac	caccggagtt	tttcacacca	ggtcagtgcga	ccctgtgcgc	1260
ttatgcggta	ttagcagtcg	tttccaactg	ttatccccct	gtatgaggca	ggttaccac	1320
gcgttactca	cccgctccgc	actcagtcac	aaaatcttca	ttccgaagaa	atcaaataaa	1380
gtgcttcgtt	cgactgca					1398

<210> 6

10 <211> 1400

<212> ARN

<213> Roseburia faecis

<400> 6

```

agctccctcc ttgcggttgg gtcactgact tcggacattt ccaactccca tgggtgtgacg 60
ggcggtgtgt acaagaccgg ggaacgtatt caccgcagca ttctgatctg cgattactag 120
cgattccagc ttctgttagt cgggttgcag actacagtcc gaactgagac gttattttttg 180
agatttgctc ggcctcacgg ctttgcttcc ctttgtttac gccattgtag cacgtgtgta 240
gcccagtc taaggggcat gatgatttga cgtcatcccc gccttcctcc aggttatccc 300
tggcagtc cctagagtgc ccggccgaac cgctggctac taaggacagg ggttgcgctc 360
gttgcgggac ttaaccacaac atctcacgac acgagctgac gacaaccatg caccacctgt 420
caccgatgct ccgaagagaa agtacattac atactctgtc atcgggatgt caagacttgg 480
taaggttctt cgcggttctt cgaattaaac cacatgctcc accgcttggt cgggtccccg 540
tcaattcctt tgagtttcat tcttgcaaac gtactcccca ggtggaatac ttattgcgtt 600
tgctgcggca ccgaagagca atgctccccg acacctagta ttcatcggtt acggcggtga 660
ctaccagggg atctaattcct gtttgctccc cagcgtttcg agcctcagcg tcagttatcg 720
tccagtaagc cgcttcgccc actggtgttc ctctaatat ctacgcattt caccgctaca 780
ctaggaattc cacttaccac tccgacactc tagtacgaca gtttccaatg cagtaccggg 840
gttgagcccc gggctttcac atcagacttg ccgcaccgcc tgcgctccct ttacaccacg 900
taaatccgga taacgcttgc accatacgta ttaccgcggc tgctggcacg tatttagccg 960
gtgcttctta gtcaggtagc gtcattcttc ttccctgctg atagagcttt acataccgaa 1020
atacttcttc gtcacgcgg cgctcgctga tcagggtttc cccattgtg caatattccc 1080
cactgctgcc tcccgtagga gtttgggccc tgtctcagtc ccaatgtggc cggtcaccct 1140
ctcaggtcgg ctactgatcg tcgctttggt aggcggttac cctgccaact ggctaatacag 1200
acgcgggtcc atctcatacc accggagttt ttacaccggt atcatgcgat cctgtgcgct 1260
tatgcggtat tagcagtcgt ttccaactgt tatccccctg tatgaggcag gttaccacag 1320
cgttactcac ccgtccgcca ctcagtcaca aaatcttcat ttccgaagaa aatcaaatag 1380
agtgcctcgt ccgactgcag 1400

```

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- ALI KESHAVARZIAN ET AL: "Colonic bacterial composition in Parkinson's disease : COLONIC MICROBIOTA IN PARKINSON'S DISEASE", MOVEMENT DISORDERS., vol. 30, no. 10, 16 July 2015 (2015-07-16) , pages 1351-1360, XP055494681, US ISSN: 0885-3185, DOI: 10.1002/mds.26307
- WO-A1-2016/203221
- JIA YIN ET AL: "Dysbiosis of Gut Microbiota With Reduced Trimethylamine-N-Oxide Level in Patients With Large-Artery Atherosclerotic Stroke or Transient Ischemic Attack", JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION, vol. 4, no. 11, 23 November 2015 (2015-11-23), page e002699, XP055499645, DOI: 10.1161/JAHA.115.002699
- US-A1- 2015 071 957
- US-A1- 2015 132 264

(57) Revendicări:

1. O compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din genul *Roseburia*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson, incluzând paralizia supranucleară progresivă, sindromul Steele-Richardson-Olszewski, hidrocefalea cu presiune normală, parkinsonismul vascular sau arteriosclerotic și parkinsonismul indus de medicamente; boala Alzheimer, incluzând sindromul Benson; boala Huntington; scleroza laterală amiotrofică; boala Lou Gehrig; boala neuronului motor; boala prion; ataxia spinocerebrală; atrofia musculară spinală; demența, incluzând corpii Lewy, demența vasculară și frontotemporală; afazia progresivă primară; deprecierea cognitivă ușoară; deprecierea cognitivă asociată cu HIV; sau degenerarea corticobasală.

2. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1, în care compoziția este pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson.

3. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu oricare din revendicările 1 sau 2, în care (a) boala Parkinson; boala Alzheimer; boala Huntington; scleroza laterală amiotrofică; boala Lou Gehrig; boala neuronului motor; boala prion; ataxia spinocerebrală; atrofia musculară spinală; demența; afazia progresivă primară; deprecierea cognitivă ușoară; deprecierea cognitivă asociată cu HIV;

sau degenerarea corticobasală; este cu debut timpuriu; și/sau în care (b) compoziția este pentru utilizare într-o metodă de prevenire sau întârziere a debutului sau progresului bolii Parkinson; bolii Alzheimer, bolii Huntington; sclerozei laterale amiotrofice; bolii Lou Gehrig; bolii neuronului motor; bolii prion; ataxiei spinocerebrale; atrofiei musculare spinale; demenței; afaziei progresive primare; deprecierii cognitive ușoare; deprecierii cognitive asociată cu HIV; sau degenerării corticobasale.

4. O compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din genul *Roseburia*, pentru utilizare într-o metodă de tratare a accidentului vascular cerebral, cum ar fi ischemia cerebrală, ischemia cerebrală focală, accidentul vascular cerebral ischemic sau accidentul vascular cerebral hemoragic.

5. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu oricare din revendicările precedente, în care tulpina bacteriană este de *Roseburia hominis*, opțional în care tulpina bacteriană are o secvență ARNr 16s care este cel puțin 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO:3, sau în care tulpina bacteriană are secvența ARNr 16s reprezentată de SEQ ID NO:3.

6. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 1, în care compoziția cuprinde o tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia hominis*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson.

7. Compoziția pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările 5-6, în care tulpina bacteriană este tulpina de *Roseburia hominis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 42383.

8. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu revendicările 1-4, în care tulpina bacteriană este a speciilor *Roseburia intestinalis*, opțional în care tulpina bacteriană are o secvență ARNr 16s care este cel puțin 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO:5.

9. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu revendicările 1-3, în care compoziția cuprinde o tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia intestinalis*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson.

10. Compoziția pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările 8 sau 9, în care tulpina bacteriană este tulpina *Roseburia intestinalis* depozitată sub numărul de acces NCIMB 43043.

11. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu revendicările 1-4, în care tulpina bacteriană este a speciilor *Roseburia faecis*, opțional în care tulpina bacteriană are o secvență ARNr 16s care este cel puțin 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO:6.

12. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu revendicările 1-3, în care compoziția cuprinde o tulpină bacteriană a speciilor *Roseburia faecis*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a bolii Parkinson.

13. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu oricare din revendicările precedente, în care compoziția este pentru administrare orală; și sau în care compoziția cuprinde unul sau mai mulți excipienți acceptabili farmaceutic sau purtători.

14. Compoziția pentru utilizare în conformitate cu oricare din revendicările precedente, în care tulpina bacteriană este liofilizată.

15. Un produs alimentar cuprinzând compoziția din oricare din revendicările precedente, pentru utilizarea oricăreia din revendicările precedente.

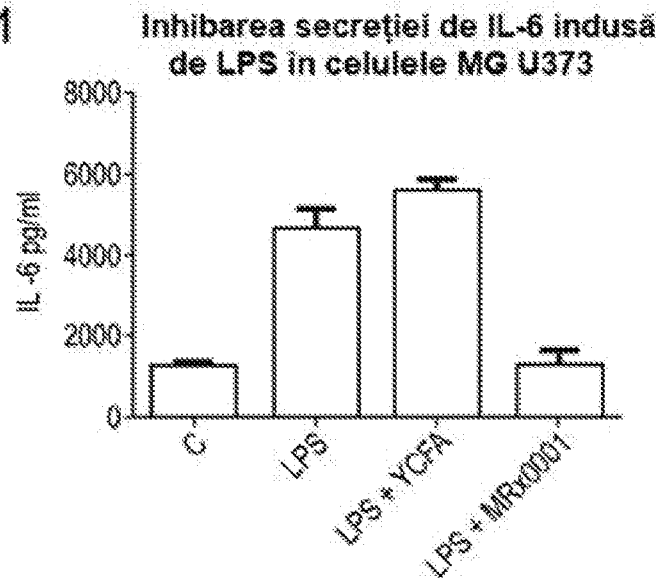
FIG. 1

FIG. 2 Inhibarea activării NFkB-AP1 indus de α -synucleină în HEK-TLR4

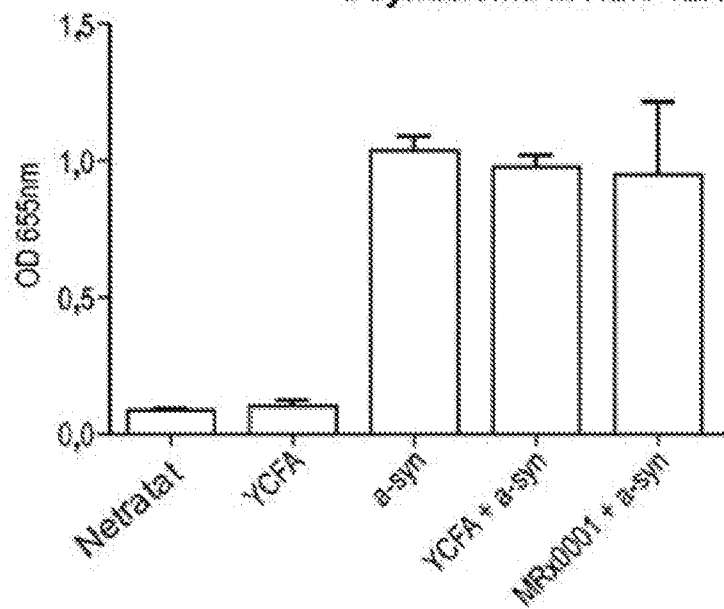


FIG. 3 Inhibirea activării NFkB-AP1 indus de LPS în HEK-TLR4

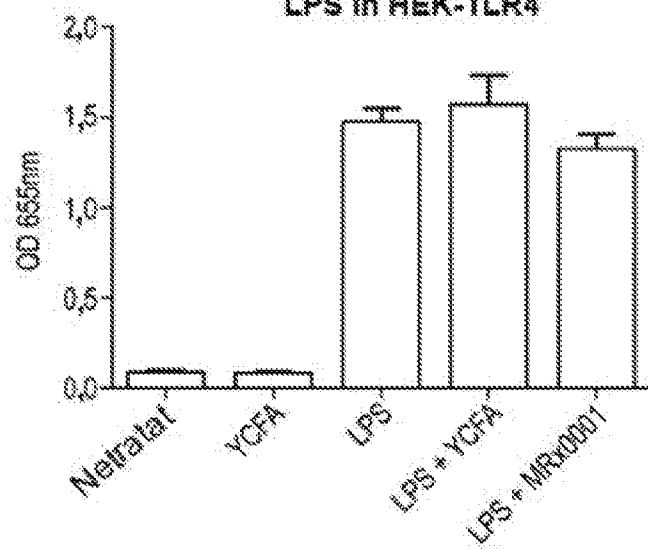


FIG. 4 Test de capacitate antioxidantă

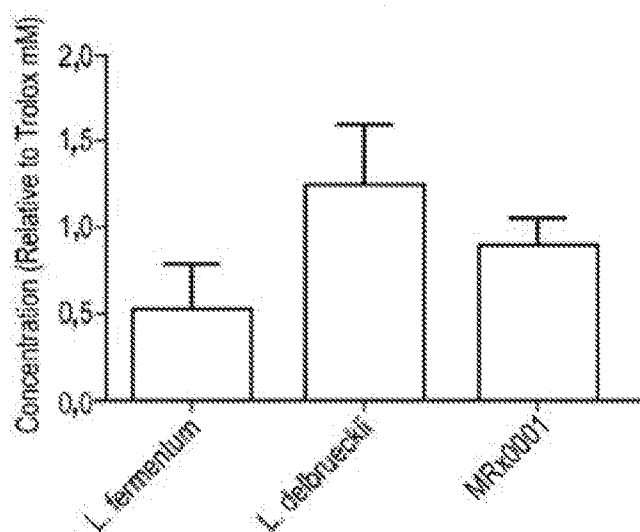


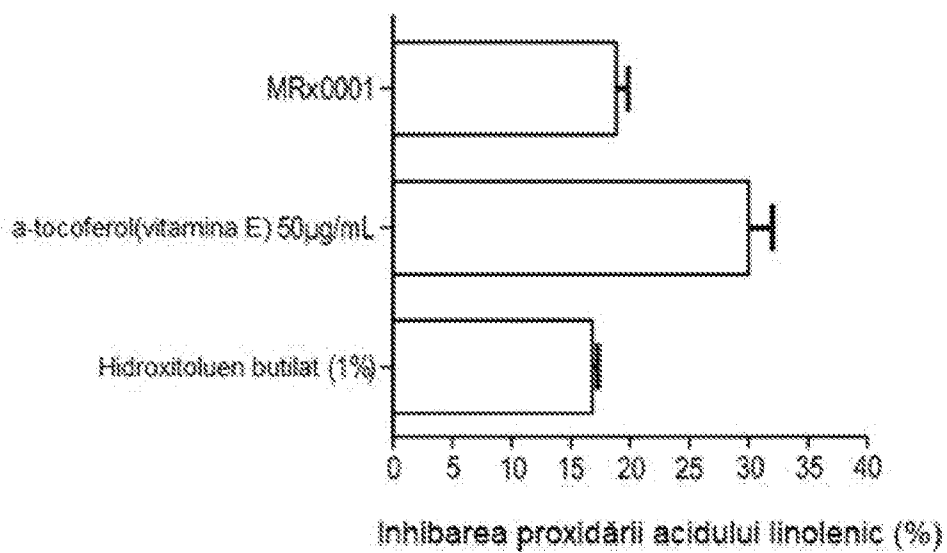
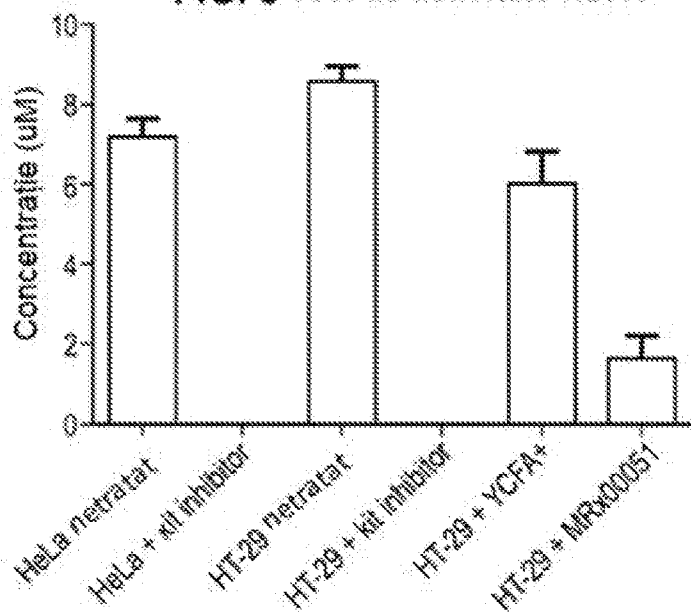
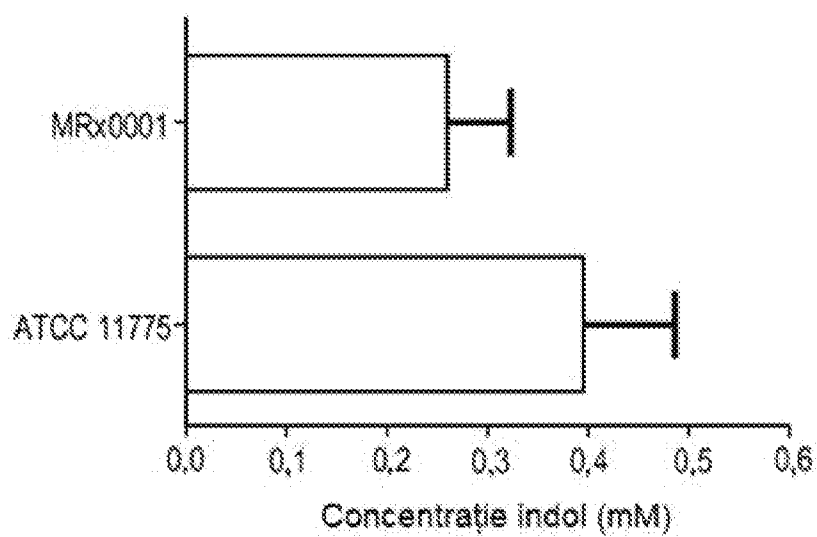
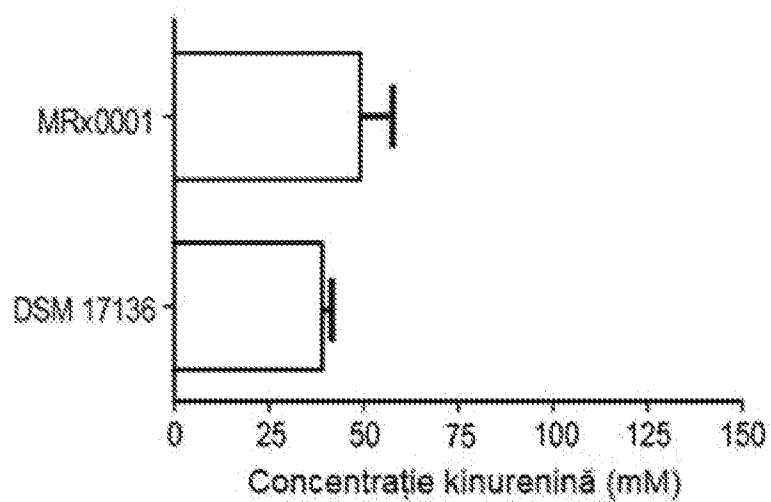
FIG. 5 Capacitate antioxidantă totală**FIG. 6 Test de activitate HDAC**

FIG. 7 Test indol**FIG. 8** Test kinurenină

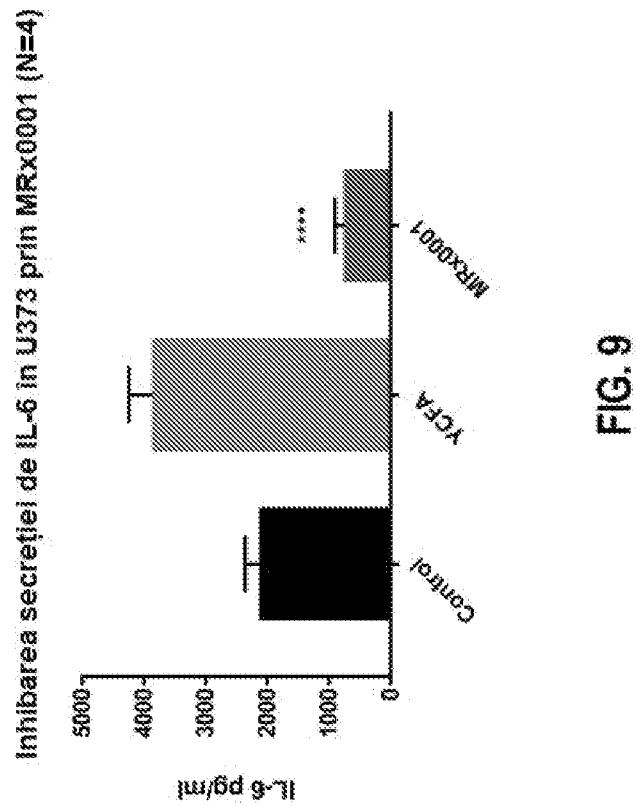
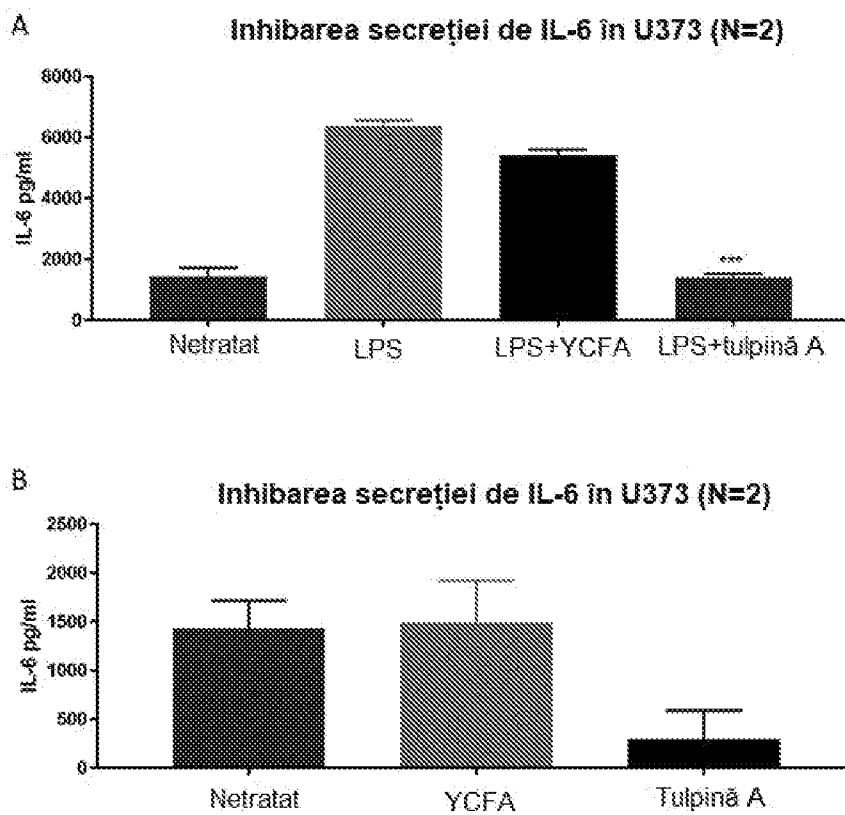
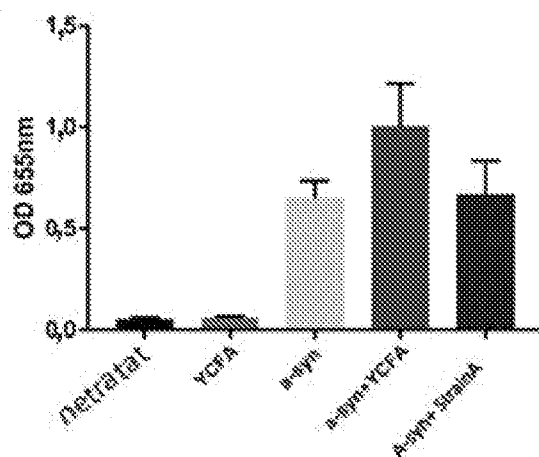


FIG. 10



A

Inhibarea promotorului NFkB-AP1 indus de a-sin in HEK-TLR4 (N=2)



B

Inhibarea promotorului NFkB-AP1 indus de LPS in HEK-TLR4 (N=2)

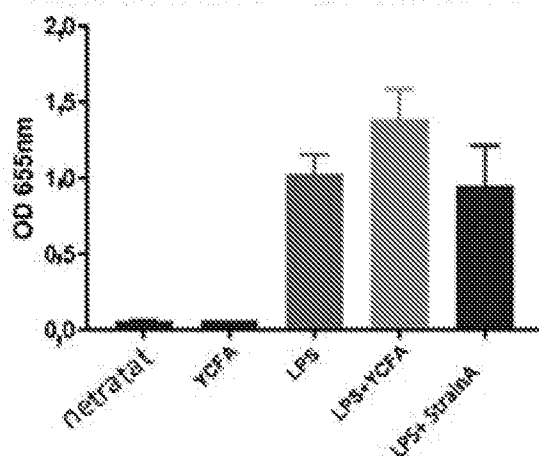
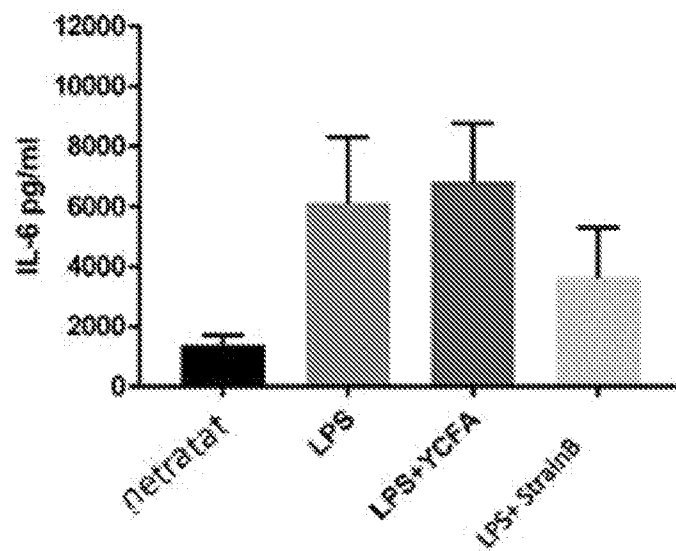
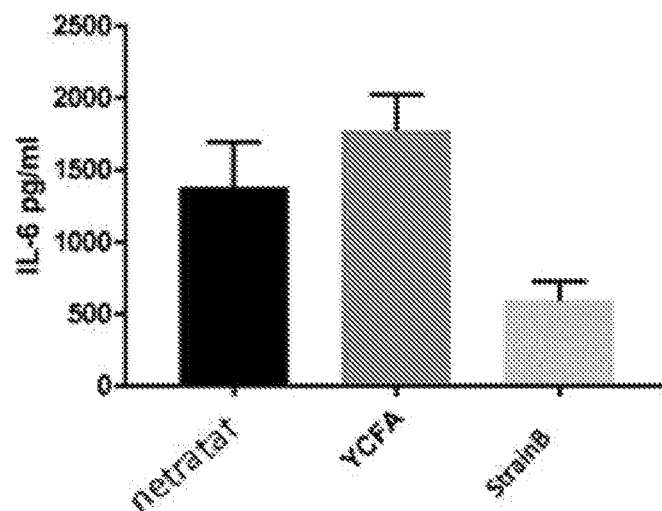
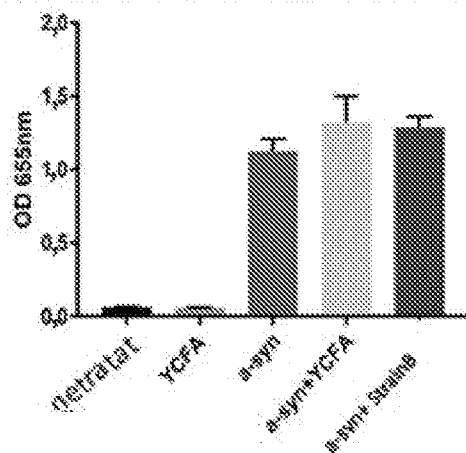


FIG. 11

A Inhibarea secreției de IL-6 în U373 (N=2)**B Inhibarea secreției de IL-6 în U373 (N=2)****FIG. 12**

A

Inhibarea activării promotorului NFkB-AP1 indus de α -sin în HEK-TLR4 (N=2)

B

Inhibarea activării promotorului NFkB-AP1 indus de LPS în HEK-TLR4 (N=2)

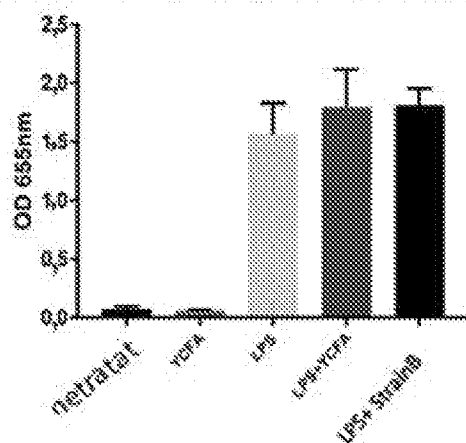


FIG. 13