

Анализ метаболического потенциала кишечного микробиома у пациентов с язвенным колитом в Республике Татарстан

Analysis of the metabolic potential of the gut microbiome of the patients with ulcerative colitis in Tatarstan Republic

Арслан Л.А.¹, Тамбовцева Р.С.¹, Булыгина Е.А.¹, Фарзалиев Р.Х.¹,
Мартыанова А.Г.¹, Григорьева Т.В.¹, Абдулхаков С.Р.¹, Ризванов А.А.^{1,2},
Мифтахова Р.Р.¹, Габдулхакова А.Г.^{1,3}

1 Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет. ФГАОУВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет; ФГАОУВО «КФУ», г. Казань, ул. Кремлевская, д.18, 420008, Российская Федерация

2 Отделение медицинских и биологических наук, Академия наук Республики Татарстан, 420111, г. Казань

3 КГМА - филиале ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 420012, г. Казань, ул. Муштари, д. 11

Язвенный колит (ЯК) представляет собой хроническое, рецидивирующее заболевание, для которого характерны воспалительно-язвенные поражения слизистой оболочки толстой кишки. Считается, что основными причинными факторами возникновения ЯК являются генетическая предрасположенность и внешнее влияние, в том числе нарушения кишечного микробиома. Предполагается, что метаболиты, синтезируемые кишечной флорой, вносят свой вклад в регуляцию барьерной функции кишечника, усиливая или ослабляя проницаемость слизистой оболочки, контролируя рост и пролиферацию эпителия кишечника, и запуская иммунные реакции. Если роль коротко-цепочечных жирных кислот

в функционировании желудочно-кишечного тракта изучена достаточно подробно, то связь метаболитов белков/аминокислот и других соединений с воспалительными заболеваниями кишечника менее исследована. В данной работе мы провели анализ кишечного микробиома пациентов на основании врожденной способности микроорганизмов к метаболизму белков/аминокислот и сложных углеводов. Было проведено метагеномное исследование образцов кала пациентов неспецифическим язвенным колитом (n=18) и группы условно-здоровых доноров (n=46) с использованием метода 16s-секвенирования бактериальной рРНК. У пациентов НЯК выявлено снижение индекса Шеннона, что отражает неоднородное распределение таксонов в кишечной популяции по сравнению с условно-здоровыми лицами. Мы отмечаем изменение доли основных филогрупп – снижение доли Actinobacteria и Firmicutes при повышении числа Proteobacteria и Bacteroidota. Кроме того, меняется доля бактерий, продуцирующих КЖК, метаболизирующих белки, аминокислоты, полисахариды и желчные кислоты.

Ключевые слова: Микробиом, язвенный колит, метаболиты

Введение

Воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), включающее язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК), представляет собой комплексное иммуноопосредованное воспалительное заболевание желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которое возникает из-за сложных взаимодействий между генетическими факторами, факторами окружающей среды и дисбиотической микробиотой кишечника. Язвенный колит — хроническое воспалительно-язвенное заболевание слизистой оболочки кишечника с чередованием периодов обострения и ремиссии [1]. Хотя предпринимались попытки охарактеризовать дисбиоз, возникающий при ЯК, с помощью метагеномных

подходов, точные механистические пути, связывающие микробиоту кишечника и воспаление, эрозии и проницаемость кишечника, еще предстоит разгадать [2].

Хорошо известно, что микроорганизмы обладают способностью модифицировать и синтезировать молекулы, не только влияющие на воспаление кишечника, но и запускающие его. К жизненно важным метаболитам относятся короткоцепочечные жирные кислоты, витамины, метаболиты триптофана, желчных кислот, полиамины, нейромедиаторы-производные аминокислот и др. Их количество и пропорции определяют здоровье кишечника и всего организма в целом. Количество бактерий, которые ферментируют сложные полисахариды, целлюлозу и продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК), обычно снижены в слизистой оболочке и фекалиях пациентов с ВЗК по сравнению со здоровыми людьми [3].

КЖК являются источником энергии для эпителиальных клеток колоноцитов, участвуют в активации местного и системного иммунитета, поддержании ионного обмена, стимулируют рост и обновление клеток слизистой, регулируют пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток, влияют на моторику кишечника, оказывают антибактериальный эффект, служат субстратами липо- и глюконеогенеза, поддерживают микробное равновесие и, как известно, укрепляют барьерную функцию кишечника.

Ферментативное действие некоторых кишечных бактерий влияет на синтез вторичных желчных кислот, которые регулируют множество физиологических функций, включая регуляцию уровня глюкозы и перистальтику кишечника. Процесс, в котором желчные кислоты проявляют свои многочисленные эффекты, сложен и зависит как от хозяина, так и от кишечных бактерий [4].

Полиамины, синтезируемые кишечной микробиотой, стимулируют обновление слизистой оболочки кишечника и усиливают барьерную функцию, тогда как снижение содержания полиаминов путем ингибирования активности орнитиндекарбоксилазы (ODC) и аденозилметиониндекарбоксилазы (SAMDC) ставит под угрозу целостность эпителия кишечника и приводит к повышению кишечной проницаемости. Известно, что избыток полиаминов нарушает клеточный метаболизм и оказывает цитотоксическое действие на кишечник [5].

Метаболизм триптофана играет важную роль в механизмах, связанных с осью кишечник-мозг. По крайней мере, 90% потребляемого человеком триптофана с помощью бактерий превращается в кинуренин [6]. Остаток триптофана метаболизируется до серотонина и индола. Клинические исследования показали, что метаболизм триптофана связан с тяжестью протекания ВЗК [6].

Бактерии кишечника также вырабатывают фенолы, продукты микробной ферментации триптофана и тирозина, которые являются цитотоксичными и могут способствовать повышению проницаемости кишечника [7]. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является одним из метаболитов, продуцируемых несколькими комменсальными видами, который, как сообщается, может повлиять на тяжесть ВЗК. Установлено, что ГАМК повышает чувствительность организма к повреждению и воспалению эпителия на мышинной модели колита [8].

Особое внимание при воспалительных заболеваниях кишечника также уделяется муцин-деградирующим и сахаролитическим бактериям, которые влияют на проницаемость слизистой оболочки кишечника и требуют более детального изучения.

Целью данной работы оценить состав кишечной флоры пациентов с неспецифическим язвенным колитом с учетом способности микробиома к продукции функционально-важных метаболитов.

Материалы и методы:

В исследование были включены 18 пациентов с язвенным колитом и 46 условно-здоровых пациентов. У всех пациентов было получено письменное согласие на проведение данного исследования. В исследование вошли 10 женщин и 8 мужчин с диагнозом язвенный колит, средний возраст пациентов в исследовании составил 45 лет.

Материалом для исследования послужили образцы кала. Выделение геномной ДНК из образцов кала проводили с помощью набора MP Fast DNA Spin Kit (MP Biomedicals, США) в соответствии с инструкцией производителя. Амплификация и секвенирование гена 16S рРНК были выполнены коллективом Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета (Казань, Россия; <https://www.kpfu.ru>).

Определение нуклеотидной последовательности было проведено с использованием секвенатора NextSeq 500 (Illumina, США).

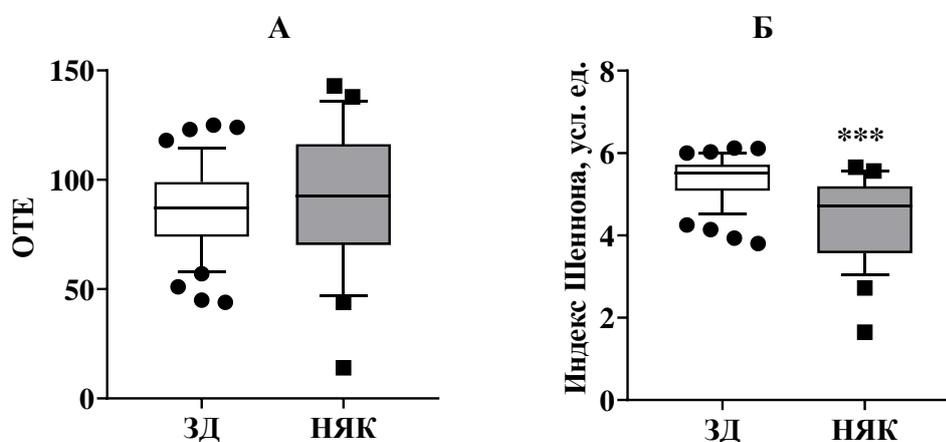
Биоинформатическую обработку полученных ридов проводили в программе «QIIME2» с данными SILVA 138 в качестве референсной базы. Данный алгоритм позволяет выявлять максимальное количество оперативных таксономических единиц (ОТЕ).

Статистическую обработку полученных данных проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (One Way ANOVA) в программе Sigma Plot 12.5. Статистически достоверными считались значения при $p \leq 0,05$, обозначаемые символом *. Для построения графиков была использована программа GraphPad Prism 8.

Результаты и обсуждение:

Общая характеристика кишечной флоры пациентов НЯК. В ходе работы было исследовано 10 женщин и 8 мужчин с диагнозом язвенный колит, средний возраст пациентов в исследовании составил 45 лет. Среднее количество выявленных таксономических единиц составило 91 (медиана 92) для пациентов НЯК по сравнению с 85 ОТЕ (медиана 87) для здоровых доноров. Индекс Шеннона составил 4,7 (3,2 и 5,5 перцентили 10 и 90%, соответственно) у пациентов по сравнению с 5,5 (4,6 и 6,0 10 и 90% перцентили, соответственно) для здоровых, что говорит о снижении видового разнообразия и однородности распределения кишечного микробиома у пациентов с НЯК несмотря на то, что общее количество ОТЕ у пациентов выше (рис. 1 А и Б).

К флотипу *Proteobacteria* принадлежат такие роды как *Escherichia*, *Enterobacter*, и *Klebsiella*, которые являются условно-патогенными микроорганизмами, способные вызывать инфекцию и воспаление при нарушении экологического равновесия в кишечнике. Причина в том, что грам-негативные бактерии продуцируют липополисахариды (ЛПС), компонент клеточной стенки, причем ЛПС *Proteobacteria* обладают более воспалительными свойствами по сравнению с ЛПС флотипа *Bacteroidota* [9, 10].



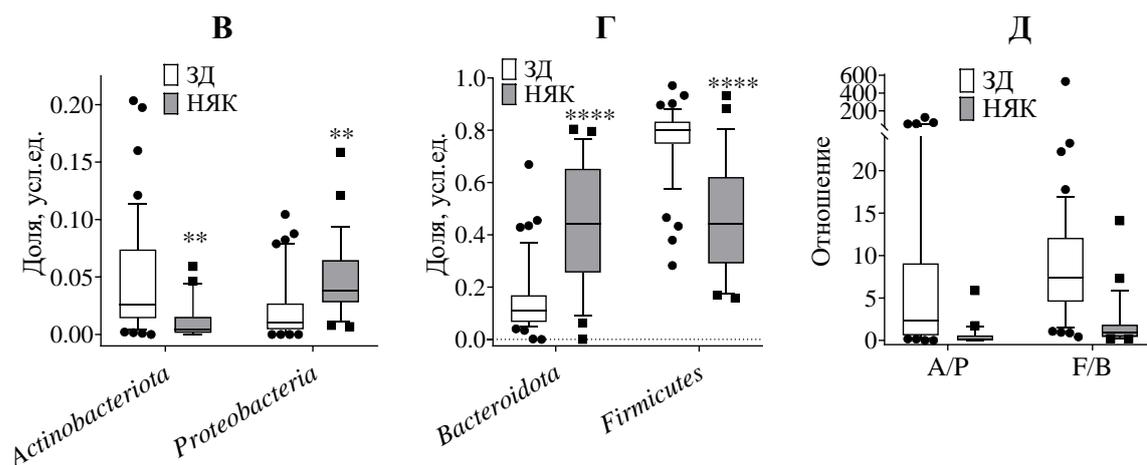


Рисунок. 1. Сравнительные характеристики показателей микробиома пациентов НЯК и здоровых доноров. (А) количество выявленных оперативных таксономических единиц в кишечном микробиоме пациентов НЯК и группе здоровых доноров; (Б) индекс Шеннона; (В) доля бактерий филотипов Actinobacteria/Proteobacteria и Firmicutes/Bacteroidota и их соотношение в кишечном микробиоме (Г и Д). Различия статистически достоверны: ** $p < 0,005$, **** $p < 0,0001$.

Повышение бактерий филотипа Протеобактерий - характерный признак воспалительных заболеваний кишечника [11], причем самый известный представитель протеобактерий, который ассоциирован с ВЗК и болезнью Крона это adherent-invasive *E. coli* (AIEC). В группе пациентов мы также выявили повышение Proteobacteria и снижение Actinobacteria по сравнению со здоровыми донорами (рис. 1В и Д). Кишечные бактерии, принадлежащие к филотипу Firmicutes, обладают способностью к синтезу множества факторов, наиболее важным из которых является бутират, данные бактерии также способствуют переносу свободных жирных кислот к эпителиальным клеткам кишечника и повышенному извлечению калорий из пищевых жиров [12]. В группе пациентов отмечается снижение доли Firmicutes и повышении доли Bacteroidota (рис 1Г и Д).

Оценка количества кишечных бактерий, продуцирующих КЖК. Мы проанализировали суммарное количество бактерий-продуцентов КЖК в каждой из обследованных групп. У пациентов с язвенным колитом было

выявлено статистически значимое снижение численности бутират-продуцирующих бактерий (рис. 2А), на фоне значимого увеличения численности ацетат-и пропионат-продуцирующих бактерий (рис.2Б и В). Основные бактерии-продуценты всех анализируемых метаболитов представлены в приложении 1. До сих пор нет единого мнения о корреляции между количеством бактерий-продуцентов и количеством метаболитов; часть исследователей полагает, что не все ферменты, ответственные за синтез метаболитов, кодируются в основном геноме бактерий. В то же время, в ряде работ было показано, что количество бактерий продуцентов прямо коррелирует с количеством КЖК [13, 14]. Таким образом, дефицит бутират-продуцирующих бактерий может привести к недостатку продуцируемого бутирата и, вследствие чего, спровоцировать воспалительные процессы, усилить проницаемость слизистой оболочки кишечника и, среди прочего, способствовать проявлению синдрома раздраженного кишечника или пищевой непереносимости у пациентов с язвенным колитом.

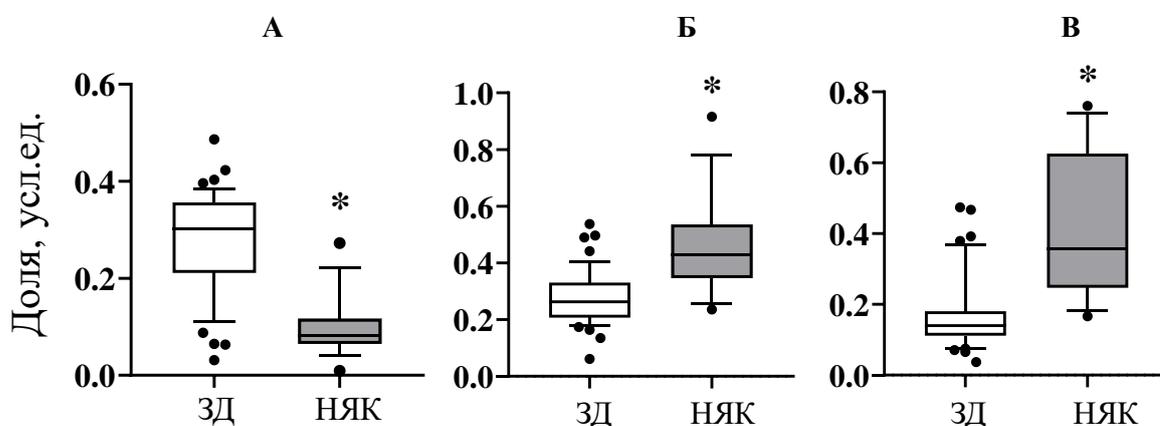


Рисунок 2 - Суммарное количество бактерий-продуцентов короткоцепочечных жирных кислот в кишечнике, где А — доля бутират-продуцирующих бактерий, Б — доля ацетат-продуцирующих бактерий, В — доля пропионат-продуцирующих бактерий. Указаны медианные значения и процентилю 10 и 90. * - различия достоверны с $p < 0,05$.

Мы обнаружили, что в группе пациентов НЯК достоверно повышена доля бактерий-продуцентов ацетата и пропионата (рис. 2 Б и В). Высокий

уровень пропионата может оказывать негативное воздействие на ЦНС [15]. Избыточное производство ацетата в сочетании с недостаточным производством бутирата может привести к увеличению жировой массы, особенно в области печени. Повышенное извлечение ацетата также может свидетельствовать о чрезмерном росте анаэробной флоры [16]. При этом в некоторых ранее опубликованных работах у пациентов с ЯК отмечено снижение численности основных бактерий-продуцентов ацетата и пропионата [17], такая вариабельность может быть следствием популяционных особенностей исследуемой группы, также как и отражением пищевых предпочтений.

Оценка количества кишечных бактерий, метаболизирующих триптофан. Метаболиты триптофана многочисленны и имеют разнонаправленные эффекты на функционирование органов и систем человека. Анализ количества бактерий-продуцентов основных метаболитов триптофана: индола и индол-3-уксусной кислоты, показал, что их количество достоверно повышено в группе пациентов НЯК (рис.3А и Б).

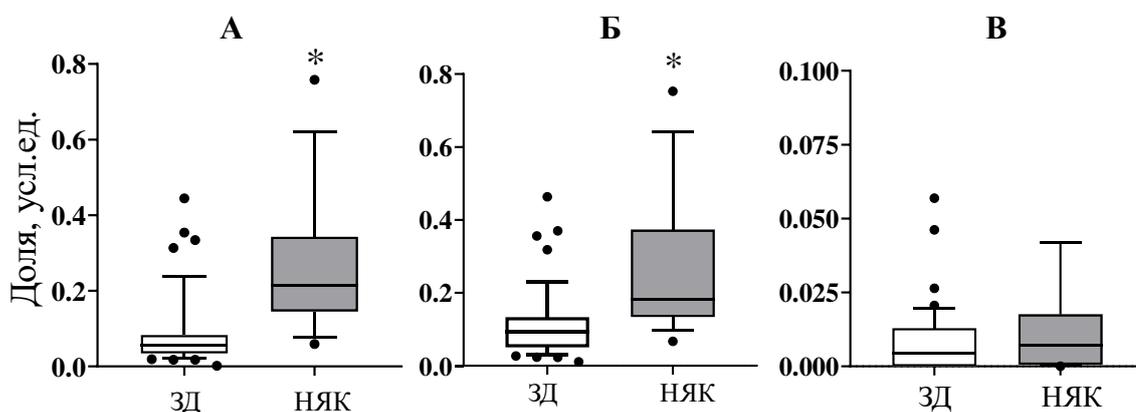


Рисунок 3 - Суммарная доля бактерий кишечника, участвующих в метаболизме триптофана, где А —индол-продуцирующих бактерий, Б— продуцирующих индолуксусную кислоту, В – фенол-продуцирующие бактерии. Указаны медианны и процентилю 10 и 90. * - различия достоверны с $p \leq 0,05$

Согласно литературным данным, повышение количества бактерий, метаболизирующих триптофан до индола и индол-3-уксусной кислоты может быть маркером ВЗК, синдрома раздраженного кишечника и депрессивных расстройств, которые сопровождают заболевания кишечника. Как мы упоминали выше, фенолы – одни из наиболее цитотоксичных метаболитов, продуцируемых из триптофана, и повышение численности данных бактерий может быть косвенным признаком накопления фенола в кишечнике и риске прогрессирования заболевания. В группе пациентов НЯК мы не наблюдали существенного повышения (рис. 3В), однако, для каждого пациента данная информация может быть критической для подбора основной и поддерживающей терапии.

Оценка количества бактерий, модифицирующих желчные кислоты. Как и в случае с метаболитами триптофана, модифицированные желчные кислоты играют важную роль в функционировании кишечника, влияют на состав микрофлоры, регулируют активность иммунной и нервной системы. Для проведения сравнительного анализа мы оценили количество бактерий, участвующих в процессах деконъюгации, окисления, эпимеризации, 7-дегидроксилировании, эстерификации, десульфатации первичных желчных кислот (основные бактерии, метаболизирующие желчные кислоты, представлены в таблице 1 приложения) [18].

Так, у пациентов с НЯК наблюдается достоверное повышение суммарного количества бактерий, метаболизирующих желчные кислоты (рис. 4А).

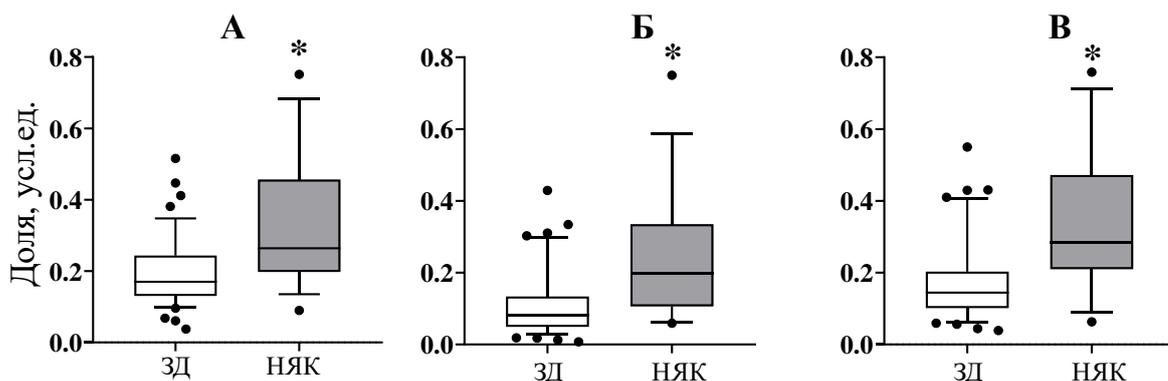


Рисунок 4 - Суммарное количество бактерий, метаболизирующих желчные кислоты (А), бактерии-продуценты полиаминов (Б) и бактерии-продуценты гамма-аминомасляной кислоты (В). Указаны медианны и процентиля 10 и 90. * - различия достоверны с $p \leq 0,05$.

Нарушение метаболизма желчных кислот может привести к нарушению регуляции иммунной системы слизистой оболочки кишечника, нарушению кишечного эпителиального барьера и «нездоровому» кишечному микробиому. Все это может способствовать развитию и осложнению ВЗК.

В нескольких исследованиях за последние годы изучался состав желчных кислот у пациентов с ВЗК. В целом, эти исследования показали, что у пациентов с ВЗК возникает мальабсорбция желчных кислот, хотя снижение пула желчных кислот происходит только тогда, когда заболевание поражает как подвздошную, так и толстую кишку [19].

Оценка количества бактерий, продуцирующих полиамины. Среди метаболитов, продуцируемых бактериями в кишечнике человека, полиамины проявляют различные полезные эффекты, такие как увеличение продолжительности жизни, восстановление поврежденной слизистой оболочки и благоприятное влияние на когнитивную функцию. Однако сведения о том, как микроорганизмы взаимодействуют друг с другом для синтеза полиаминов в кишечнике, ограничены.

Анализ литературных данных позволил выявить ключевые виды, ответственные за синтез полиаминов в кишечнике (приложение 1). Мы

обнаружили статистически достоверное повышение численности данных бактерий-продуцентов полиаминов у пациентов с НЯК (рис. 4Б). Полиамины, синтезируемые кишечной микробиотой в толстой кишке, могут способствовать гомеостазу кишечника за счет поддержания динамики эпителиальной пролиферации [20]. В то же время, образование полиаминов может быть повышено в результате инфекции или повреждения клеток, что приводит к высвобождению свободных полиаминов и активации окислительно-катаболических путей [21]. Таким образом, избыток полиаминов может оказывать цитотоксическое действие на кишечник [22].

Оценка количества бактерий, продуцирующих ГАМК. Мы выявили достоверное повышение численности бактерий, продуцирующих ГАМК, у пациентов с язвенным колитом (рис. 4В). Бактериальные клетки производят ГАМК из L-глутаминовой кислоты с помощью фермента глутаматдекарбоксилазы [23]. Вопрос о том, связана ли ГАМК с воспалением кишечника, остается дискуссионным. Так, в некоторых литературных источниках имеется информация о том, что ГАМК модулирует многие функции кишечника, включая моторику ЖКТ, секрецию кишечного сока, висцеральную чувствительность, функции кишечного барьера и воспаление кишечника [24]. Например, бактерия *B. adolescentis 4-2 strain*, выделенная из кишечника здоровых людей, в условиях *in vitro* производит до 415 мМ ГАМК [25]. Однако, остается неясным, способствует ли ГАМК воспалению кишечника или облегчает его [26]. В исследовании Ма и соавторов была выявлена провоспалительная роль ГАМК при язвенном колите [27]. ГАМК может ингибировать пролиферацию эпителиальных клеток толстой кишки и способствовать их апоптозу. Кроме того, ГАМК ингибирует экспрессию белков плотных контактов и секрецию муцина при колите толстой кишки. Результаты исследования [27] показывают, что в модели язвенного колита в результате связывания ГАМК с рецептором GABA_A нарушается кишечный барьер и, следовательно, в дальнейшем происходит инвазия кишечных

бактерий, а затем активируется тяжелое воспалительное повреждение. Таким образом, повышение численности бактерий-продуцентов ГАМК у пациентов с НЯК может оказывать неблагоприятное воздействие на функционирование кишечника и требует дальнейшего изучения.

Оценка количества муцин-деградирующих бактерий. Избыточное расщепление муцина может нарушить целостность слоя слизистой оболочки и облегчить доступ бактерий и их антигенов к эпителиальным клеткам и клеткам иммунной системы кишечника, а затем спровоцировать или усугубить воспалительное заболевание. [28] В группе пациентов с НЯК мы наблюдали достоверное повышение количества бактерий, ассоциированных с расщеплением муцина (рис. 5А).

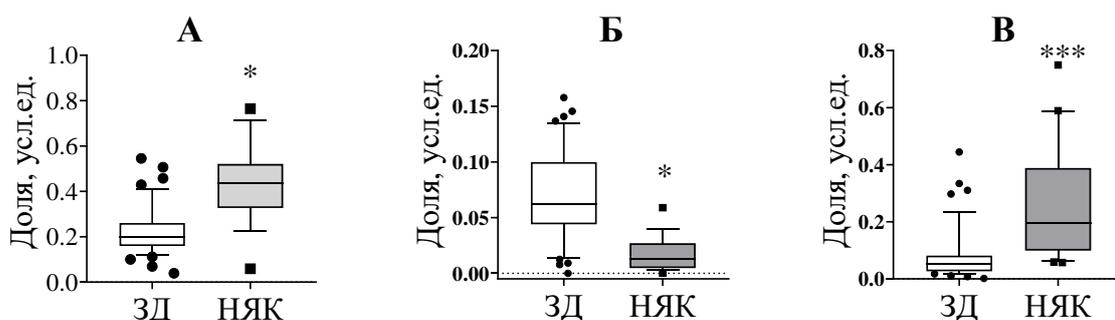


Рисунок 5 – Графическое представление результатов по изменению численности муцин-деградирующих бактерий (А), сахаролитических (Б) и протеолитических (В) бактерий у пациентов с язвенным колитом и здоровых добровольцев. Данные представлены в виде боксплотов с указанием медианных значений и процентилей 10 и 90. Различия достоверны с * $p \leq 0,05$ и *** $p \leq 0,001$.

Увеличение численности муцин-деградирующих бактерий у пациентов с язвенным колитом может свидетельствовать о повышении проницаемости слизистой оболочки кишечника и прогрессии данного заболевания.

Оценка количества сахаролитических бактерий. К сахаролитическим бактериям относят очень широкий круг бактерий, обладающих двумя основными типами CAZymes: гликозид-гидролазами (ГГ) и полисахарид-лиазами (ПЛ), которые расщепляют гликозидные связи между

углеводами и между углеводом и неуглеводным мотивом [29]. Bacteroidetes кодируют больше CAZymes, чем другие филы, например, *B. thetaiotaomicron*, доминирующий член дистальной микробиоты кишечника человека, содержит более 261 ГГ и ПЛ [29]. Кроме того, Bacteroidetes содержат гены, кодирующие сульфатазы и связанные с ними активные ферменты, которые имеют решающее значение для ферментации сульфатированных полисахаридов, таких как муцин и гликозаминогликаны слизи [29]. Это дает им возможность утилизировать широкий спектр пищевых и полученных от хозяина полисахаридов. Бактерии филотипов Firmicutes и Actinobacteria, по-видимому, более специализированы и предпочитают резервные полисахариды растений [29]. При ферментации полисахаридов бактериями образуются КЖК (ацетат, пропионат и бутират), смешанные газы (CO₂, метан и водород), лактат, формиат, этанол и некоторое количество тепла [30]. Концентрация и соотношение КЖК прямо пропорциональны количеству неперевариваемых полисахаридов, имеющихся в рационе и поступающих в толстую кишку.

В группе пациентов с язвенным колитом было выявлено достоверно значимое снижение численности основных сахаролитических бактерий относительно здорового контроля (рис. 5Б). Снижение содержания сахаролитических бактерий коррелирует со снижением численности бактерий, продуцирующих бутират (рис. 2А).

Оценка количества протеолитических бактерий. Известно, что активность бактериальных протеаз в кишечнике у пациентов НЯК повышена и сопровождается развитием воспаления [31, 32]. Исследования в группах риска показали, что такое повышение наблюдается даже до появления симптомов заболевания, что позволяет рассматривать протеолитическую активность фекального материала в качестве неинвазивного биомаркера воспаления и возможного назначения ингибиторов протеаз в

терапевтических целях [33]. Мы также обнаружили достоверное повышение доли протеолитических бактерий в группе пациентов НЯК (рис. 5В).

Заключение

Для когорты пациентов с язвенным колитом отмечено повышение количества протеолитических бактерий, а также метаболизирующих триптофан с образованием индола, индол-уксусной кислоты и фенола, метаболизирующих L-глутаминовую кислоту с образованием ГАМК, образующих полиамины и модифицирующих желчные кислоты. Эти метаболиты отражают интенсивный белковый катаболизм, что возможно говорит о пристрастии пациентов к высокобелковой диете, либо о применении пищевых добавок (например, аминокислоты) с целью повышения заживления язв и эрозий, либо о частых кровопотерях вследствие язв. Излишнее количество белка и его метаболитов, в том числе бактериального происхождения, чревато подавлением заживления ран из-за ингибирования пролиферации эпителиальных клеток, снижения респирации колоноцитов [34]. Наши данные согласуются с данными других исследований, где было показано, что микробная функция была значительно изменена в воспаленной ткани пациентов с НЯК, при этом снижался углеводный и нуклеотидный обмен в пользу повышенного липидного и аминокислотного обмена [35]. Для жителей Республики Татарстан характерно пристрастие к традиционной кухне с избытием мясной, мучной и богатой сахарами диете. Возможно, это является дополнительным фактором риска развития ВЗК и вносит свои особенности в изменение кишечного микробиома пациентов НЯК по сравнению с пациентами из других регионов.

Мы выявили изменение доли бактерий, участвующих в образовании свободных КЖК – уксусной, масляной и пропионовой. Любопытно, что у пациентов с метаболическим синдромом в зависимости от проявления

симптомов (диарея, запоры, боли в животе и др) наблюдается различное соотношение КЖК в кишечнике [36]. Так, у пациентов с преобладанием запоров было достоверно повышено количество ацетата и снижено количество бутирата и пропионата по сравнению со здоровыми донорами. В то же время у пациентов с диареей в анамнезе было характерно незначительное повышение количества бутирата в кишечнике без заметного изменения количества ацетата и пропионата. Исследования показали, что у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, такими как язвенный колит, в кишечнике меньше бактерий, продуцирующих бутират (например, *Roseburia hominis* и *Faecalibacterium prausnitzii*), что приводит к снижению уровня бутирата [37].

По литературным данным для пациентов НЯК характерно снижение нуклеотидного и углеводного обмена. Количество муцин-деградирующих бактерий у пациентов с язвенным колитом увеличивается, что может свидетельствовать о повышении проницаемости слизистой оболочки кишечника и прогрессии данного заболевания. Количество сахаролитических бактерий у пациентов с НЯК, наоборот, снижается, что приводит к снижению численности продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, в частности бутирата. Повышение числа бактерий-продуцентов индола, индол-уксусной кислоты, фенола, желчных кислот, полиаминов и ГАМК, вероятно, может способствовать прогрессии заболевания, за счет возможного дисбаланса в количестве этих метаболитов при язвенном колите. Для дальнейшего изучения данного феномена необходимо проведение комплексного исследования, которое будет включать результаты метагеномного, метаболомного и метатранскриптомного анализа. Эти промежуточные результаты могут стать отправной точкой для более детального понимания патогенеза язвенного колита.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного

Приложение 1

Таблица 1. Таксономические единицы бактерий, ответственных за метаболизм или синтез функционально важных соединений (составлено на основании литературных данных, обобщенных в литературном обзоре)

Метаболит	Бактерии-продуценты
Бутират	<p><i>Ruminococcus</i>, <i>Eubacterium</i>, <i>Butyricicoccus</i>, <i>Butyrivibrio</i>, <i>Faecalibacterium</i>, <i>Roseburia</i>, <i>Oscillospira</i>, <i>Coprococcus</i>, <i>Anaerostipes</i>, <i>Subdoligranulum</i>, <i>Bifidobacterium</i>, <i>Lactobacillus</i>, <i>Clostridium</i>, <i>Lachnospira</i>, <i>Acidaminococcus</i>, <i>Megasphaera</i>, <i>Butyricimonas</i>, <i>Flavonifractor</i>, <i>Odoribacter</i>, <i>Eubacterium</i>_hallii_group, [<i>Eubacterium</i>]_oxidoreducens, [<i>Eubacterium</i>]_ventriosum, [<i>Eubacterium</i>]_xylanophilum, <i>Eubacterium eligens</i>, <i>Gemmiger</i>, <i>Fusobacterium</i>, <i>Peptostreptococcus</i>.</p> <p>В случае синтеза бутирата из белков/аминокислот значение имеют следующие бактерии: <i>Intestinimonas AF211</i>, <i>Clostridium limosum</i>, <i>Fusobacterium spp.</i>, <i>Acidaminococcus fermentans</i>, <i>Clostridium sporosphaeroides</i>, <i>Clostridium symbiosum</i>, <i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>, <i>Porphyromonas gingivalis</i> u <i>Clostridioides difficile</i>.</p>
Ацетат	<p><i>Bacteroides</i>, <i>Bifidobacterium</i>, <i>Prevotella</i>, <i>Ruminococcus</i>, <i>Clostridium</i>, <i>Streptococcus</i>, <i>Lactobacillus</i>, <i>Veillonella</i>, <i>Akkermansia</i>, <i>Alistipes</i>. <i>Dorea</i>, <i>Blautia</i>, <i>Actinomyces</i>, <i>Coprococcus</i>, <i>Enterococcus</i>, [<i>Eubacterium</i>]_hallii_group, <i>Eubacterium</i>, [<i>Eubacterium</i>]_oxidoreducens, <i>Rikenellaceae RC9</i>, [<i>Eubacterium</i>]_fissicatena_group, <i>Peptostreptococcus</i>.</p>
Пропионат	<p><i>Bacteroides</i>, <i>Dialister</i>, <i>Veillonella</i>, <i>Roseburia</i>, <i>Prevotella</i>, <i>Akkermansia</i>, <i>Anaeroplasm</i>, <i>Cloacibacillus</i>, <i>Rikenella</i>, [<i>Eubacterium</i>]_hallii_group, <i>Rikenellaceae RC9</i>, <i>Coprococcus</i>, <i>Ruminococcus</i>, <i>Phascolarctobacterium</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Propionibacterium</i>, <i>Anaerovibrio</i>, <i>Selenomonas</i>, <i>Blautia</i>, <i>Anaerostipes</i>.</p>
Индол	<p><i>Bacteroides</i>, <i>Lactobacillus</i>, <i>Streptococcus</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Clostridium</i></p>
Индол-3-	<p><i>Bacteroides</i>, <i>Bifidobacterium</i>, <i>Clostridium</i>, <i>Escherichia coli</i>,</p>

уксусная кислота	<i>Eubacterium, Parabacteroides, Peptostreptococcus.</i> <i>Escherichia coli, Proteus vulgaris, Paracolobactrum coliforme, Achromobacter liquefaciens, and Bacteriodes spp.</i>
Скатола	<i>Lactobacillus, Bacteroides, and Clostridium spp.</i>
Серотонин	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris, Lactobacillus lactis subsp. lactis Lactobacillus plantarum (FI8595), Streptococcus thermophilus, Escherichia coli K-12, Morganella morganii, Klebsiella pneumoniae, and Hafnia alvei,</i>
Кинуренин	<i>Bifidobacterium infantis?</i>
Триптамин	<i>Clostridium sporogenes and Ruminococcus gnavus</i> <i>Clostridium, Ruminococcus, Blautia and Lactobacillus</i>
Фенолы	<i>Escherichia coli, Proteus spp, Streptococcus faecalis Bacteroides fragilis, Fusobacterium, Clostridium spp.</i>
Желчные кислоты	<i>Alistipes., Bacteroides., Bifidobacterium , Clostridium., Escherichia., Eubacterium., Lactobacillus., Peptostreptococcus., Ruminococcus</i>
Полиамины	<i>Bacteroides, Fusobacterium, Bifidobacterium, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus vaginalis, Pediococcus, Streptococcus, Escherichia coli.</i>
Гамма-аминомасляная кислота	<i>Lactobacillus, Bifidobacterium, Bacteroides, Streptococcus, Lactococcus, Dorea, Parabacteroides, Alistipes, Ruminococcus</i>
Муцины деградирующие бактерии	<i>Akkermansia, Victivallales, Actinomadura, Actinomyces, Bifidobacterium, Streptacidiphilus, Streptomyces, Alistipes, Alloprevotella, Bacteroides, Fermentomonas, Parabacteroides, Prevotella, Phocaeicola, Abiotrophia, Blautia, Enterococcus, Paenibacillus, Ruminococcus, Streptococcus u Viridibacillus, Klebsiella, Mixta, Serratia, Enterobacter.</i>
Сахаролитические бактерии	<i>Lactobacillus , Enterococcus , Anaerostipes , Blautia, Roseburia Bifidobacterium, Dorea, Parabacteroides, Ruminococcus, Slackia, Turicibacter; an unknown genus in the family Paraprevotellaceae; Archaeal genus Methanococcus. saccharolytic genera Bacteroides, Coprococcus, Dialister, Megamonas, Oscillospira, Roseburia; Blautia, Colinsella, Roseburia, Succinivibrio, Brenneria</i>
Протеолитические	<i>Desulfovibrionaceae and Erysipelotrichaceae, Peptococcus,</i>

ские бактерии	<i>Peptostreptococcus, Bacteroides, Clostridium, Propionibacterium, Fusobacterium, Streptococcus u Lactobacillus</i>
---------------	--

Список литературы

1. Radziszewska M., Smarkusz-Zarzecka J., Ostrowska L., Pogodziński D. Nutrition and Supplementation in Ulcerative Colitis // *Nutrients*. – 2022. – Т. 14, № 12.
2. Thomas J. P., Modos D., Rushbrook S. M., Powell N., Korcsmaros T. The Emerging Role of Bile Acids in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease // *Front Immunol*. – 2022. – Т. 13. – С. 829525.
3. Dąbek-Drobny A., Kaczmarczyk O., Woźniakiewicz M., Paśko P., Dobrowolska-Iwanek J., Woźniakiewicz A., Piątek-Guziewicz A., Zagrodzki P., Zwolińska-Wcisło M. Association between Fecal Short-Chain Fatty Acid Levels, Diet, and Body Mass Index in Patients with Inflammatory Bowel Disease // *Biology (Basel)*. – 2022. – Т. 11, № 1.
4. Sinha S. R., Haileselassie Y., Nguyen L. P., Tropini C., Wang M., Becker L. S., Sim D., Jarr K., Spear E. T., Singh G., Namkoong H., Bittinger K., Fischbach M. A., Sonnenburg J. L., Habtezion A. Dysbiosis-Induced Secondary Bile Acid Deficiency Promotes Intestinal Inflammation // *Cell Host Microbe*. – 2020. – Т. 27, № 4. – С. 659-670.e5.
5. Rao J. N., Xiao L., Wang J. Y. Polyamines in Gut Epithelial Renewal and Barrier Function // *Physiology (Bethesda)*. – 2020. – Т. 35, № 5. – С. 328-337.
6. Chen L. M., Bao C. H., Wu Y., Liang S. H., Wang D., Wu L. Y., Huang Y., Liu H. R., Wu H. G. Tryptophan-kynurenine metabolism: a link between the gut and brain for depression in inflammatory bowel disease // *J Neuroinflammation*. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 135.
7. Nyangale E. P., Mottram D. S., Gibson G. R. Gut microbial activity, implications for health and disease: the potential role of metabolite analysis // *J Proteome Res*. – 2012. – Т. 11, № 12. – С. 5573-85.
8. Dann S., Kelly H., Suarez D., Hoppe D., Banks M., Peniche A. Luminal-GABA promotes inflammation in mouse models of colitis (MUC5P. 756) // *The Journal of Immunology*. – 2015. – Т. 194, № 1_Supplement. – С. 138.14-138.14.
9. Korpela K. Diet, Microbiota, and Metabolic Health: Trade-Off Between Saccharolytic and Proteolytic Fermentation // *Annu Rev Food Sci Technol*. – 2018. – Т. 9. – С. 65-84.
10. Vatanen T., Kostic A. D., d'Hennezel E., Siljander H., Franzosa E. A., Yassour M., Kolde R., Vlamakis H., Arthur T. D., Hamalainen A. M., Peet A., Tillmann V., Uibo R., Mokurov S., Dorshakova N., Ilonen J., Virtanen S. M., Szabo S. J., Porter J. A., Lahdesmaki H., Huttenhower C., Gevers D., Cullen T. W., Knip M., Group D. S., Xavier R. J. Variation in Microbiome LPS

Immunogenicity Contributes to Autoimmunity in Humans // *Cell*. – 2016. – Т. 165, № 4. – С. 842-53.

11. Rizzatti G., Lopetuso L. R., Gibiino G., Binda C., Gasbarrini A. Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases // *Biomed Res Int*. – 2017. – Т. 2017. – С. 9351507.

12. Semova I., Carten J. D., Stombaugh J., Mackey L. C., Knight R., Farber S. A., Rawls J. F. Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish // *Cell host & microbe*. – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 277-288.

13. Reichardt N., Vollmer M., Holtrop G., Farquharson F. M., Wefers D., Bunzel M., Duncan S. H., Drew J. E., Williams L. M., Milligan G., Preston T., Morrison D., Flint H. J., Louis P. Specific substrate-driven changes in human faecal microbiota composition contrast with functional redundancy in short-chain fatty acid production // *ISME J*. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 610-622.

14. Shahab R. L., Brethauer S., Davey M. P., Smith A. G., Vignolini S., Luterbacher J. S., Studer M. H. A heterogeneous microbial consortium producing short-chain fatty acids from lignocellulose // *Science*. – 2020. – Т. 369, № 6507. – С. eabb1214.

15. Killingsworth J., Sawmiller D., Shytle R. D. Propionate and Alzheimer's Disease // *Front Aging Neurosci*. – 2020. – Т. 12. – С. 580001.

16. Silva Y. P., Bernardi A., Frozza R. L. The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut-brain communication // *Frontiers in endocrinology*. – 2020. – Т. 11. – С. 25.

17. Medina J. M., Fernández-López R., Crespo J., Cruz F. d. l. Propionate fermentative genes of the gut microbiome decrease in inflammatory bowel disease // *Journal of clinical medicine*. – 2021. – Т. 10, № 10. – С. 2176.

18. Ситкин С., Ткаченко Е., Вахитов Т. Филометаболическое ядро микробиоты и метаболический дисбиоз кишечника // *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. – 2015. № 3-4. – С. M12-M13.

19. Fiorucci S., Carino A., Baldoni M., Santucci L., Costanzi E., Graziosi L., Distrutti E., Biagioli M. Bile Acid Signaling in Inflammatory Bowel Diseases // *Dig Dis Sci*. – 2021. – Т. 66, № 3. – С. 674-693.

20. Xing P. Y., Pettersson S., Kundu P. Microbial Metabolites and Intestinal Stem Cells Tune Intestinal Homeostasis // *Proteomics*. – 2020. – Т. 20, № 5-6. – С. e1800419.

21. Pegg A. E. Toxicity of polyamines and their metabolic products // *Chem Res Toxicol*. – 2013. – Т. 26, № 12. – С. 1782-800.

22. Rhee H. J., Kim E. J., Lee J. K. Physiological polyamines: simple primordial stress molecules // *J Cell Mol Med*. – 2007. – Т. 11, № 4. – С. 685-703.

23. Cui Y., Miao K., Niyaphorn S., Qu X. Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: A systematic review // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Т. 21, № 3. – С. 995.

24. Auteri M., Zizzo M. G., Serio R. GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation // *Pharmacological research*. – 2015. – T. 93. – C. 11-21.
25. Altaib H., Kozakai T., Badr Y., Nakao H., El-Nouby M. A., Yanase E., Nomura I., Suzuki T. Cell factory for γ -aminobutyric acid (GABA) production using *Bifidobacterium adolescentis* // *Microbial cell factories*. – 2022. – T. 21, № 1. – C. 33.
26. Zhang H., Wang Y., Gao F., Liu R., Chen W., Zhao X., Sun Q., Sun X., Li J., Liu C. GABA increases susceptibility to DSS-induced colitis in mice // *Journal of Functional Foods*. – 2022. – T. 99. – C. 105339.
27. Ma X., Sun Q., Sun X., Chen D., Wei C., Yu X., Liu C., Li Y., Li J. Activation of GABA receptors in colon epithelium exacerbates acute colitis // *Frontiers in immunology*. – 2018. – T. 9. – C. 987.
28. Pan M., Barua N., Ip M. Mucin-degrading gut commensals isolated from healthy faecal donor suppress intestinal epithelial inflammation and regulate tight junction barrier function // *Front Immunol*. – 2022. – T. 13. – C. 1021094.
29. Gan L., Wang J., Guo Y. Polysaccharides influence human health via microbiota-dependent and-independent pathways // *Frontiers in Nutrition*. – 2022. – T. 9. – C. 1030063.
30. Ahmadi S., Mainali R., Nagpal R., Sheikh-Zeinoddin M., Soleimani-Zad S., Wang S., Deep G., Mishra S. K., Yadav H. Dietary polysaccharides in the amelioration of gut microbiome dysbiosis and metabolic diseases // *Obesity & control therapies: open access*. – 2017. – T. 4, № 3.
31. Hou J. J., Ding L., Yang T., Yang Y. F., Jin Y. P., Zhang X. P., Ma A. H., Qin Y. H. The proteolytic activity in inflammatory bowel disease: insight from gut microbiota // *Microb Pathog*. – 2024. – T. 188. – C. 106560.
32. Rondeau L. E., Da Luz B. B., Santiago A., Bermudez-Brito M., Hann A., De Palma G., Jury J., Wang X., Verdu E. F., Galipeau H. J., Rolland C., Deraison C., Ruf W., Bercik P., Vergnolle N., Caminero A. Proteolytic bacteria expansion during colitis amplifies inflammation through cleavage of the external domain of PAR2 // *Gut Microbes*. – 2024. – T. 16, № 1. – C. 2387857.
33. Galipeau H. J., Caminero A., Turpin W., Bermudez-Brito M., Santiago A., Libertucci J., Constante M., Raygoza Garay J. A., Rueda G., Armstrong S., Clarizio A., Smith M. I., Surette M. G., Bercik P., Ccc Genetics E. M. P. R. C., Croitoru K., Verdu E. F. Novel Fecal Biomarkers That Precede Clinical Diagnosis of Ulcerative Colitis // *Gastroenterology*. – 2021. – T. 160, № 5. – C. 1532-1545.
34. Vidal-Lletjós S., Beaumont M., Tomé D., Benamouzig R., Blachier F., Lan A. Dietary protein and amino acid supplementation in inflammatory bowel disease course: what impact on the colonic mucosa? // *Nutrients*. – 2017. – T. 9, № 3. – C. 310.
35. Davenport M., Poles J., Leung J. M., Wolff M. J., Abidi W. M., Ullman T., Mayer L., Cho I., Loke P. n. Metabolic alterations to the mucosal microbiota in

inflammatory bowel disease // *Inflammatory bowel diseases*. – 2014. – Т. 20, № 4. – С. 723-731.

36. Курмангулов А. А., Дороднева Е. Ф., Исакова Д. Н. Функциональная активность микробиоты кишечника при метаболическом синдроме // *Ожирение и метаболизм*. – 2016. – Т. 13, № 1. – С. 16-19.

37. Wang W., Chen L., Zhou R., Wang X., Song L., Huang S., Wang G., Xia B. Increased proportions of Bifidobacterium and the Lactobacillus group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease // *Journal of clinical microbiology*. – 2014. – Т. 52, № 2. – С. 398-406.