



НАРУШЕНИЯ МИКРОБНОГО И ЭНДОГЕННОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ И ЦЕЛИАКИИ: МЕТАБОЛОМНЫЙ ПОДХОД К ВЫЯВЛЕНИЮ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОМАРКЕРОВ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ В КИШЕЧНИКЕ, СВЯЗАННОГО С ДИСБИОЗОМ

Ситкин С.И.^{1,2}, Вахитов Т.Я.¹, Ткаченко Е.И.³, Лазебник Л.Б.⁴, Орешко Л.С.², Жигалова Т.Н.²,
Радченко В.Г.², Авалуева Е.Б.², Селиверстов П.В.², Утсаль В.А.⁵, Комличенко Э.В.⁶

¹ Гос. НИИ ОЧБ ФМБА России, Санкт-Петербург

² СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург

³ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

⁴ МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва

⁵ Институт токсикологии ФМБА России, Санкт-Петербург

⁶ НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург

GUT MICROBIAL AND ENDOGENOUS METABOLISM ALTERATIONS IN ULCERATIVE COLITIS AND CELIAC DISEASE: A METABOLOMICS APPROACH TO IDENTIFY CANDIDATE BIOMARKERS OF CHRONIC INTESTINAL INFLAMMATION ASSOCIATED WITH DYSBIOSIS

Sitkin S.I.^{1,2}, Vakhitov T. Ya.¹, Tkachenko E.I.³, Lazebnik L.B.⁴, Oreshko L.S.², Zhigalova T.N.²,
Radchenko V.G.², Avalueva E.B.², Seliverstov P.V.², Utsal V.A.⁵, Komlichenko E.V.⁶

¹ State Research Institute of Highly Pure Biopreparations of FMBA, St. Petersburg

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg

³ Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg

⁴ A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow

⁵ Institute of Toxicology of FMBA, St. Petersburg

⁶ Almazov Federal Medical Research Centre, St. Petersburg

Ситкин
Станислав Игоревич
Sitkin Stanislav
drsitkin@gmail.com

Ситкин Станислав Игоревич — Dr. med., канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии, доцент кафедры

Вахитов Тимур Яшерович — доктор биол. наук, начальник лаборатории микробиологии

Ткаченко Евгений Иванович — доктор мед. наук, профессор кафедры

Лазебник Леонид Борисович — доктор мед. наук, профессор кафедры

Орешко Людмила Саварбековна — доктор мед. наук, профессор кафедры

Жигалова Татьяна Николаевна — канд. мед. наук, доцент кафедры

Радченко Валерий Григорьевич — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой

Авалуева Елена Борисовна — доктор мед. наук, профессор кафедры

Селиверстов Павел Васильевич — канд. мед. наук, доцент кафедры

Утсаль Виктор Альбертович — научный сотрудник

Комличенко Эдуард Владимирович — доктор мед. наук, директор клиники

Sitkin Stanislav Igorevich — Dr. med., PhD, Leading Researcher, Laboratory of Microbiology, Associate Professor

Vakhitov Timur Yasheroevich — ScD in Biology, Head of the Laboratory of Microbiology

Tkachenko Evgeniy Ivanovich — PhD, MD, Professor

Lazebnik Leonid Borisovich — PhD, MD, Professor

Oreshko Liudmila Savarbekovna — PhD, MD, Professor

Zhigalova Tatiana Nikolaevna — PhD, Associate Professor

Radchenko Valeriy Grigorievich — PhD, MD, Professor, Head of the Department

Avalueva Elena Borisovna — PhD, MD, Professor

Seliverstov Pavel Vasilievich — PhD, Associate Professor

Utsal Viktor Albertovich — Researcher

Komlichenko Eduard Vladimirovich — PhD, MD, Professor, Director of the Clinic

Резюме

Цель исследования: выявление потенциальных биомаркеров язвенного колита и целиакии путем изучения метаболизма сыворотки крови.

Материалы и методы: В исследование было включено 125 пациентов: 40 пациентов с язвенным колитом, 43 пациента с целиакией и 42 практически здоровых добровольца. Состав метаболома сыворотки крови определялся с помощью метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ–МС).

Результаты: Из 93 идентифицированных соединений, общих для всех пациентов, 28 метаболитов имели микробное происхождение. У пациентов с язвенным колитом концентрации молочной, 2-гидроксимасляной, 3-гидроксиизомасляной, 2-гидроксиизовалериановой, 3-гидроксикоричной, янтарной, бензойной и парагидроксифенилуксусной кислот в сыворотке крови были значимо повышены по сравнению со здоровыми. В свою очередь, уровни капроновой, линолевой и эйкозадиеновой кислот при язвенном колите были значимо ниже, чем в группе здоровых. Концентрации 2-гидроксимасляной и 2-гидроксиизовалериановой кислот у больных язвенным колитом были значимо повышены и по сравнению с пациентами с целиакией. Концентрации капроновой, линолевой и гликолевой кислот при язвенном колите были значимо ниже, чем в группе целиакии. У пациентов с целиакией концентрации стеариновой, 2-гидроксиизовалериановой, янтарной, фумаровой и бензойной кислот были значимо повышены по сравнению со здоровыми добровольцами, а уровень арахидоновой кислоты был значимо повышен только по сравнению с больными язвенным колитом. Липогенный индекс (C16:0/C18:2n-6) был значимо повышен у пациентов с язвенным колитом по сравнению как со здоровыми добровольцами, так и с больными целиакией. Индекс активности элонгазы ELOVL6 (C18:0/C16:0) и отношение уровня стеариновой кислоты к уровню линолевой кислоты (C18:0/C18:2n-6) у пациентов с язвенным колитом были значимо повышены по сравнению со здоровыми. Отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозадиеновой кислоты (C20:4n-6/C20:2n-6) было повышено в обеих группах больных. На фоне дополнительного применения масляной кислоты в комбинации с инулином отмечалось значимое понижение сывороточных концентраций провоспалительных метаболитов микробного происхождения – янтарной кислоты (как у больных язвенным колитом, так и у пациентов с целиакией) и 2-гидроксиизовалериановой кислоты (у больных целиакией). Кроме того, у пациентов с язвенным колитом значимо повышался уровень линолевой и эйкозадиеновой кислот.

Выводы: Как при язвенном колите, так и при целиакии наблюдаются значимые изменения сывороточных концентраций метаболитов микробного и эндогенного происхождения, отражающие нарушения в соответствующих метаболических путях (гликолиз, цикл Кребса, окисление и биосинтез жирных кислот, метаболизм кетоновых тел, метаболизм триптофана, фенилаланина и тирозина, микробный метаболизм). По результатам ROC-анализа, некоторые из этих метаболитов (преимущественно микробного или смешанного происхождения), а также новый метаболомный индекс (отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозадиеновой кислоты), отражающий баланс между провоспалительными и противовоспалительными компонентами пула ω -6-ПНЖК, могут рассматриваться как потенциальные биомаркеры хронического воспаления в кишечнике. Снижение уровня провоспалительных метаболитов микробного происхождения в сыворотке крови свидетельствует о возможности эффективной коррекции метаболического дисбиоза с помощью метабитотиков при обоих заболеваниях.

Ключевые слова: биомаркеры, бутират кальция, дисбиоз толстой кишки, инулин, метабитотики, метаболом сыворотки крови, метаболомика, микробиота кишечника, целиакия, язвенный колит.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 143 (7): 4–50

Summary

Aim: to identify candidate biomarkers of ulcerative colitis and celiac disease by serum metabolomics analysis.

Methods: 40 mild-to-moderate active left-sided UC patients, 43 CD patients in remission on a gluten-free diet and 42 healthy volunteers (HV) (125 patients in total) were enrolled in the study. Serum metabolomic assays were conducted using the GC–MS.

Results: 28 out of 93 identified metabolites were of microbial origin. In serum of UC patients lactic acid, 2-hydroxybutyric acid (2-HBA), 3-hydroxyisobutyric acid (3-HIBA), 2-hydroxyisovaleric acid (2-HIVA), 3-hydroxycinnamic acid, succinic acid, benzoic acid and 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPAA) levels were significantly increased compared to HV. Serum levels of caproic acid, linoleic acid and eicosadienoic acid (EDA) in UC were significantly lower than in HV group. 2-HBA and 2-HIVA levels in UC patients were significantly increased as compared to CD patients. Serum levels of caproic acid, linoleic acid and glycolic acid in UC were significantly lower than in CD group. Serum of CD patients showed significant increases in stearic acid, 2-HIVA, succinic acid, fumaric acid and benzoic acid compared to HV. Serum arachidonic acid (AA) level in CD was significantly elevated compared to UC patients only. De novo lipogenesis index (DNL) (C16:0/C18:2n-6) was significantly elevated in UC patients compared to both HV and CD patients. The ELOVL6 elongase activity index (C18:0/C16:0) and the stearic acid/linoleic acid ratio (C18:0/C18:2n-6) in UC patients were significantly increased compared to HV. The ratio of AA to EDA (C20:4n-6/C20:2n-6) was increased in both UC and CD groups. Butyrate plus inulin significantly lowered serum levels of pro-inflammatory succinic acid (in both UC and CD patients) and 2-hydroxyisovaleric acid (in CD) and restored the lowered serum levels of linoleic acid and EDA in UC patients.

Conclusions: Significant changes in serum levels of microbial and endogenous metabolites, reflecting some metabolic pathways disturbances (glycolysis, TCA cycle, fatty acid metabolism, ketone body metabolism, phenylalanine, tyrosine and tryptophan metabolism, microbial metabolism) are observed in both ulcerative colitis and celiac disease. ROC curve analysis showed that some of these metabolites of microbial or mixed origin, as well as a new metabolomic index (the ratio of arachidonic acid to eicosadienoic acid, C20:4n-6/C20:2n-6), reflecting the balance between pro-inflammatory and anti-inflammatory components of the omega-6 fatty acid pool, may be considered as candidate biomarkers of chronic intestinal inflammation. Reduction of pro-inflammatory microbial metabolites in serum indicates the ability of metabiotics (e.g. butyrate + inulin) to correct metabolic dysbiosis in both diseases.

Keywords: biomarkers, butyrate, celiac disease, dysbiosis, gut microbiota, inulin, metabiotics, metabolomics, serum metabolome, ulcerative colitis.

Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 143 (7): 4–50

Введение

Современные экспериментальные и научные данные поддерживают гипотезу о центральной роли нарушений барьерной функции кишечника при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК) и целиакии, подчеркивая определенную патогенетическую общность этих заболеваний [1]. Как язвенный колит, так и целиакия представляют собой мультифакториальные генетически детерминированные (с частично общим генетическим фоном) аутоиммунные воспалительные заболевания с локализацией поражения в толстой и тонкой кишке соответственно. Голландские ученые еще в 2008 году предположили, что язвенный колит (ЯК) и целиакия могут иметь сходные дефекты кишечного барьера, ассоциированные с полиморфизмом генов плотных контактов *PARD3* и *MAGI2* [2]. Дальнейшие исследования подтвердили значимость дисфункции кишечного барьера в развитии хронического воспаления как в тонкой, так и в толстой кишке. Ключом к такой дисфункции являются генетические, микробные, диетические и некоторые другие факторы (например, медикаменты и стресс), которые, действуя сочетанно, приводят к развитию хронического воспаления [3]. Повышенная кишечная проницаемость при ВЗК и целиакии может быть связана с редукцией так называемых «запирающих зон», обусловленной, в свою очередь, полиморфизмом ряда общих для ЯК и целиакии генов восприимчивости (предрасположенности), таких как *MYO9B*, *PARD3*, *MAGI2*, *DLG5* (однонуклеотидный полиморфизм R30Q [rs1248696]) и *PTPN2* [4, 5]. В целом около 50 % генов предрасположенности к целиакии являются общими с ВЗК, 12 % генов восприимчивости к ВЗК связаны с предрасположенностью к целиакии. Наибольшее же число общих для ВЗК и целиакии генов относятся к генам, контролирующим приобретенный (адаптивный) иммунитет [6]. Патогенез обоих заболеваний также хорошо вписывается в предложенную Джоном Меддингом парадигму о том, что некоторые воспалительные заболевания требуют как минимум трех условий для своего развития – 1) наличия аномалии иммунной системы, 2) провоцирующего антигена (антигены микробного происхождения при ВЗК и глютен при целиакии) и 3) способности такого антигена достигать клеток иммунной системы через дефекты в кишечном барьере [7].

Язвенный колит сегодня рассматривается как своеобразная полимикробная «инфекция», характеризующаяся стойким нарушением слизистого барьера толстой кишки с последующей транслокацией микроорганизмов и бактериальных продуктов микробного происхождения из просвета кишечника в слизистую и подслизистую оболочки и пролиферацией бактериальных биопленок на поверхности кишечного эпителия [8, 9]. Результатом транслокации является активация иммунных клеток и продукция цитокинов с последующим развитием хронического воспаления (как реакции приобретенного иммунитета), усугубляющего, в свою очередь, первичные нарушения кишечного барьера и замыкающего, таким образом, порочный круг (*circulus vitiosus*) патогенеза [10–12]. Ведущая роль в патогенезе язвенного колита при этом отводится, прежде всего, измененной микробиоте кишечника – дисбиозу, а не патогенным микроорганизмам [13, 14]. Тесная связь между развитием иммунного воспаления и дисбиозом кишечника показана как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях. Так, например, клиническое исследование показало, что ВЗК-ассоциированный дисбиоз характеризуется значимым уменьшением отношения бутират-продуцирующей *Faecalibacterium prausnitzii* к потенциально провоспалительной *Escherichia coli* [15]. Результаты же недавнего экспериментального исследования продемонстрировали роль повышенной экспрессии ИЛ-15 в развитии дисбиоза кишечника при DSS-колите у мышей. ИЛ-15 – провоспалительный цитокин из семейства ИЛ-2, задействованный как при ВЗК, так и при целиакии, обладает способностью модулировать состав микробиоты, уменьшая численность бутират-продуцирующих бактерий [16]. Микробиота кишечника тесно связана и с патогенезом целиакии [17, 18]. Дисбиоз кишечника встречается как у пациентов с вновь выявленной целиакией, так и у больных, получающих безглютеновую диету. В первом случае можно говорить о возможной этиопатогенетической роли дисбиотических изменений (первичный дисбиоз), а во втором, скорее всего, – о вторичном дисбиозе кишечника, обусловленном уменьшением потребления пищевых волокон при безглютеновой диете [19, 20].

Ранее мы показали, что особенности таксономического дисбиоза кишечника как у пациентов с язвенным колитом, так и у больных целиакией, связаны, прежде всего, с уменьшением численности бутират-продуцирующих бактерий, в том числе *Faecalibacterium prausnitzii* и повышением отношения *Bacteroides fragilis* spp. к *Faecalibacterium prausnitzii* (дисбиоз провоспалительного типа) [21]. Кроме того, несмотря на то, что общее количество бактероидов не изменялось, метаболически активный вид – *Bacteroides thetaiotaomicron* существенно реже встречался у пациентов с язвенным колитом, чем у здоровых лиц. Отсутствие *Bacteroides thetaiotaomicron* в кале или его уровень ниже порога обнаружения были значимо связаны с язвенным колитом. У пациентов с целиакией был значимо снижен уровень *Bifidobacterium* spp. (по сравнению как со здоровыми добровольцами, так и с больными язвенным колитом) [21].

Помимо таксономических изменений, при обоих состояниях развивается и так называемый метаболический дисбиоз кишечника, в основе которого лежат изменения метаболических путей микробиоты кишечника под влиянием различных факторов, приводящие к качественным и количественным изменениям метаболома микробиома и нарушению интеграции микробного метаболизма с метаболизмом человека [22]. Метаболический дисбиоз при язвенном колите связан, прежде всего, с нарушением микробного синтеза короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) и других карбоновых кислот, играющих ключевую роль в энергоснабжении эпителия кишечника (бутират), способствующих поддержанию барьерной функции кишечника (бутират, индолпропионовая кислота, ацетат), служащих субстратами для липогенеза (ацетат) и глюконеогенеза, в том числе кишечного (пропионат, бутират), а также обладающих противовоспалительным и противоопухолевым действием (бутират, пропионат, индолпропионовая кислота) [23, 24]. Патогенетическое значение в развитии хронического воспаления в кишечнике может иметь повышение микробной продукции сероводорода, аммиака и вторичных желчных кислот [15, 22]. Особенности метаболического дисбиоза при целиакии до конца не изучены и могут быть связаны с повышением микробной продукции некоторых провоспалительных метаболитов, в том числе, фенолкарбоновых и дикарбоновых кислот, а также с нарушением бактериального синтеза КЖК у пациентов, находящихся на безглютеновой диете [25].

Нарушения метаболизма, обусловленные хроническим воспалением в слизистой оболочке толстой и тонкой кишки, как и изменения микробного метаболизма при ВЗК-ассоциированном дисбиозе или дисбиозе, связанном с целиакией, в условиях повышенной проницаемости кишечного барьера могут оказывать существенное влияние на организм человека, затрагивая ключевые метаболические пути и сопровождаясь количественными и качественными изменениями метаболома. Нарушения микробного метаболизма представляют отдельный интерес, поскольку могут приводить к значимым изменениям концентраций как провоспалительных, так и противовоспалительных метаболитов в тканях и жидкостях организма-хозяина, в том числе метаболитов, не

свойственных эндогенному метаболизму. На сегодняшний день идентифицировано около 200 метаболитов микробного происхождения, которые могут быть связаны с патогенезом или сапогенезом целого ряда заболеваний человека и выступать в роли потенциальных биомаркеров [26–28].

Комплексный анализ метаболитов в биологических образцах (изучение метаболома) является основной задачей метаболомики, являющейся, по образному выражению американского ученого Гэри Патти, «апогеем омик-технологий» [29]. При этом в отличие от геномики, транскриптомики и протеомики, метаболомика обеспечивает инструмент для оценки биохимической активности путем непосредственного мониторинга субстратов и продуктов, трансформированных в процессе клеточного или бактериального метаболизма. Если функция генов и белков подвержена эпигенетической регуляции и посттрансляционным изменениям, то метаболиты являются прямыми сигналами биохимической активности, которые гораздо легче сопоставить с фенотипом заболевания. В этом контексте метаболомика является мощным подходом, который может быть использован для целей клинической диагностики и прогнозирования (в связи с возможностью выявления клинически значимых биомаркеров), идентификации терапевтических мишеней, а также для решения фундаментальных задач, связанных с изучением этиологии и патогенеза заболеваний человека [29–33].

Целесообразность исследования метаболома при воспалительных заболеваниях кишечника и целиакии подтверждена во многих исследованиях, позволивших выявить связанные с патогенезом ВЗК нарушения важнейших метаболических путей, митохондриальную дисфункцию и уменьшение продукции АТФ в колоноцитах, а также существенные изменения метаболической активности микробиоты толстой кишки [34–37]. Значимые изменения метаболомов крови, мочи, фекалий и слизистой оболочки, отражающие малабсорбцию, нарушения энергетического метаболизма, микробиоценоза кишечника и кишечного барьера выявлены и при целиакии [38, 39]. Уровень целого ряда метаболитов в крови и других биологических жидкостях во многом определяется метаболической активностью микробиоты кишечника [26, 27, 35, 40, 41]. В связи с этим исследования метаболома при таких заболеваниях органов пищеварения как ВЗК (язвенный колит, болезнь Крона [БК], микроскопический колит), целиакия, синдром раздраженного кишечника (СРК), колоректальный рак, в патогенезе которых роль дисбиоза кишечника существенна, представляют особый интерес [42–47].

Целью настоящего исследования явилось изучение метаболома сыворотки крови методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ–МС) у больных язвенным колитом и пациентов с целиакией и выявление потенциальных биомаркеров этих заболеваний микробного и эндогенного происхождения. Работа проведена в рамках комплексного исследования по изучению культуронезависимыми методами метаболически активных бактериальных групп и видов симбиотической микробиоты кишечника при язвенном колите и целиакии, отдельные результаты которого опубликованы нами ранее [21, 48].

Материалы и методы исследования

В исследование были включены обследованные практически здоровые лица (добровольцы) (З) обоего пола в возрасте от 18 до 60 лет и соответствующие им по полу и возрасту пациенты с ЯК в фазе обострения (левостороннее поражение, легкая и среднетяжелая атаки) и больные целиакией (Ц) в фазе ремиссии на фоне безглютеновой диеты (не менее 6 месяцев), подписавшие добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Всего в исследование было включено 125 пациентов: 40 пациентов с язвенным колитом, 43 пациента с целиакией и 42 практически здоровых добровольца. На 1-м этапе было проведено поперечное исследование в трех группах (ЯК, Ц, З), на 2-м этапе – открытое рандомизированное исследование в параллельных группах, в которое были включены только пациенты с язвенным колитом и больные целиакией. Клинические методы, критерии включения и исключения описаны нами ранее [48]. В рамках открытого рандомизированного исследования в параллельных группах пациенты с язвенным колитом были рандомизированы в группы A_1 ($n = 20$) и A_2 ($n = 20$), больные целиакией – в группы B_1 ($n = 22$) и B_2 ($n = 21$). Пациенты, вошедшие в группы A_1 (ЯК) и B_1 (Ц), в течение 28 дней получали в дополнение к базисной терапии (при язвенном колите) и безглютеновой диете (при целиакии) метабитик – биологически активную добавку (БАД) к пище «Закофальк NMX», содержащую масляную кислоту (250 мг) в виде бутирата кальция и инулин (250 мг), по 3 таблетки в день. Пациенты из группы A_2 (ЯК) в течение 28 дней получали только базисную терапию – пероральный месалазин (в таблетках, покрытых кишечнорастворимой пленочной оболочкой, или в гранулах, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, пролонгированного действия) в дозе 3,0 г в сутки (при необходимости – в комбинации с ректальным месалазином в форме суспензии или пены в дозе 7,0–14,0 г в неделю и средствами симптоматической терапии), пациенты из группы B_2 (Ц) – только безглютеновую диету.

У пациентов с язвенным колитом в начале исследования и через 28 дней оценивали клиническую и эндоскопическую активность заболевания (ИКА, ЭИ) и уровень С-реактивного белка (С-РБ) в сыворотке крови. Через 14 дней рассчитывали частоту клинического улучшения, определяемого как одновременное снижение двух первых показателей индекса Мейо/UC-DAI – частоты стула и ректального кровотечения – как минимум на один пункт от исходных значений. Через 28 дней оценивали частоту клинической ремиссии ($ИКА \leq 4$). Для оценки динамики симптомов у больных целиакией использовали шкалу гастроинтестинальных симптомов (Gastrointestinal Symptoms Rating Scale, GSRS) [49]. У всех пациентов (исходно и через 28 дней) проводилось исследование метаболома сыворотки крови методом ГХ–МС и количественное определение микробиоты толстой кишки.

Изучение состава метаболома сыворотки крови проводилось с помощью метода газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрической

детекцией соединений (газовая хромато-масс-спектрометрия, ГХ–МС), являющегося одним из наиболее мощных и информативных методов идентификации органических метаболитов в биологических жидкостях организма [33, 34, 50–57].

Забор венозной крови, получение и хранение сыворотки для целей исследований проводили в соответствии с действующими стандартами: ГОСТ Р 53079.4–2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа» (введен с 01.01.2010 г.); ГОСТ Р ИСО 6710–2009 (введен с 01.03.2010 г.; аналог международного стандарта ISO 6710, определяющий требования к контейнерам и пробиркам для сбора венозной крови) и другими нормативными документами. Забор крови у пациентов производили утром натощак с помощью вакуумных системы для взятия венозной крови RusTech (<http://www.rustech.ru/labor/vacclin.html>). После забора образцы крови для получения сыворотки подвергали центрифугированию в течение 15 мин. при скорости вращения 3000 оборотов. Далее полученную сыворотку с помощью одноразовых пластмассовых пипеток (емкостью до 3 мл) распределяли в 2 стерильные пробирки с герметично закручивающимися крышками (не менее 0,5 мл сыворотки в каждую пробирку). После маркировки пробирки помещали в специальный биомедицинский морозильник, предназначенный для хранения компонентов крови и вакцин, диагностических образцов и проб при температурах от -20°C до -35°C . Хранение образцов сыворотки крови осуществляли при температуре -20°C . В рамках исследования было организовано хранение сывороток крови всех принимавших участие в исследовании здоровых добровольцев и больных – создан банк сывороток крови. При этом сыворотку крови из одной пробирки (2 пробирки на каждого пациента) использовали для определения метаболического профиля крови методом ГХ–МС, а из второй пробирки – для формирования банка. Образцы сывороток крови непосредственно перед анализом размораживали при комнатной температуре, в виалу помещали от 0,5 до 1 мл сыворотки крови, 50 мкл 5 % раствора муравьиной кислоты и 2 мл метил-трет-бутилового эфира. Полученную смесь активно перемешивали в течение 5 минут с использованием встряхивателя. Образовавшуюся эмульсию количественно переносили в пластмассовые пробирки типа Eppendorf и центрифугировали при 8000 оборотов в течение 10 минут. Верхний эфирный слой переносили в сухую чистую посуду и отдували в токе азота досуха. Полученный твердый остаток обрабатывали 10 мкл традиционного дериватизирующего агента N, O-бис(триметилсилил)трифторацетамида в течение 5 минут при температуре 60°C .

Разделение проводили на газовом хроматографе с масс-спектрометром GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu Corporation, Киото, Япония) в режиме программирования температуры, начиная с температуры $+50^{\circ}\text{C}$ (3 мин). Дальнейшая скорость

нагрева составляла 10 °С в мин, конечная температура – +290 °С, время при конечной температуре – 13 мин. Температура испарителя – +280 °С, газ-носитель – гелий (1 мл/мин). Для разделения использовали универсальную хроматографическую капиллярную колонку Equity-5 длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм и неподвижной фазой на основе сополимера диметилсилоксана (95 %) и дифенилсилоксана (5 %) (Supelco, Sigma-Aldrich Group, США). Объем вводимой пробы – 1 мкл. Измерения соединений в образцах сыворотки крови проводили не менее чем в трех повторях с точностью не менее 20 %.

Идентификацию низкомолекулярных соединений по данным ГХ–МС проводили с использованием международных баз данных NIST 05, NIST 08, Human Metabolome Database (HMDB; <http://www.hmdb.ca>) и Serum Metabolome database (SMDb; <http://www.serummetabolome.ca>) [58–60]. Данные, полученные в ходе хромато-масс-спектрометрического исследования нормировались на содержание гептадекановой кислоты (C17:0), выбранной в качестве реперного (референсного) соединения, концентрация которого принималась за 1 усл. ед. [61, 62].

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с использованием программы IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corp., США). Проверка нормальности распределения данных осуществлялась с помощью критериев Колмогорова – Смирнова (Kolmogorov–Smirnov test) с поправкой Лиллиефорса (Lilliefors test) и Шапиро – Уилка (Shapiro–Wilk test) [63, 64]. При применении вышеупомянутых критериев достигнутые уровни значимости (Sig., SPSS) для абсолютного большинства полученных нами данных представляли собой

малые величины ($p < 0,05$), что позволило отвергнуть нулевую гипотезу о подчинении данных закону нормального распределения. В связи с этим для описания данных использовали медиану (Me) с указанием (в скобках) границ межквартильного диапазона, представляющих собой 25-й (Q_1) и 75-й процентиля (Q_3) соответственно. Для сравнения количественных данных были использованы следующие непараметрические критерии: U-критерий Манна – Уитни, представляющий собой непараметрическую альтернативу t-критерия Стьюдента для независимых выборок, а также критерий Колмогорова – Смирнова [65, 66]. Для сравнения 3 групп между собой использовали H-критерий Краскела – Уоллиса (Kruskal–Wallis H-test) [66, 67]. Для оценки динамики количественных показателей был использован непараметрический W-критерий Вилкоксона (Уилкоксона) для парных (связанных) выборок – знаковый ранговый критерий Вилкоксона (Wilcoxon signed rank test) [68]. Корреляционный анализ проводился с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s) [69]. Для проверки гипотез о значимости различий между частотами использовали точный критерий Фишера (Fisher's exact test) [70]. Для оценки информативности потенциальных биомаркеров проводился ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic [ROC] Curve analysis). Количественная оценка клинической ценности биомаркеров осуществлялась по ROC-кривым (характеристическим кривым) с определением показателя AUC (Area Under the ROC Curve, площадь под ROC-кривой), чувствительности и специфичности. Качество биомаркеров оценивали по экспертной шкале для значений AUC [71]. Критическая величина уровня значимости (p) принималась равной 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

По данным хромато-масс-спектрометрического анализа сыворотки крови было идентифицировано более 250 пиков с временами удерживания от 1,85 до 30,7 мин. В среднем у одного пациента выявлялось около 140 низкомолекулярных соединений. Количество общих метаболитов, то есть соединений, идентифицированных абсолютно у каждого пациента (независимо от группы), составило 93. По количеству метаболитов этот результат хорошо согласуется с данными, полученными в других лабораториях, и даже превосходит некоторые из них. Так, например, международной группе зарубежных ученых – авторов базы данных Serum Metabolome database (SMDb) (<http://www.serummetabolome.ca>) – аналогичным методом удалось идентифицировать 74 метаболита, среди которых 21 составляли аминокислоты (АК), а 10 – сахара [59]. Японские ученые с помощью метода ГХ–МС (использовался аналогичный газовый хроматограф с масс-спектрометром GCMS-QP2010, Shimadzu Corporation, Киото, Япония) выделили 60 метаболитов из сыворотки крови 20 пациентов с раком поджелудочной железы (стадии III–IVb) и 9 здоровых добровольцев, причем уровни 18 из 60 метаболитов в сыворотке больных и здоровых значимо различались [72].

Акцент в настоящем исследовании был сделан на определение карбоновых кислот (пищевого, микробного и эндогенного происхождения), рассматриваемых сегодня как важнейшие сигнальные, регуляторные и иммуномодулирующие соединения в организме человека [26, 28, 73–76]. Идентификация аминокислот не представляла существенного интереса в рамках настоящего исследования, поскольку для аминокислотного анализа существуют более адекватные специализированные методы, такие как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и высокочувствительное флуориметрическое определение [77, 78]. Анализ сахаров также не входил в задачи исследования.

Из 93 идентифицированных соединений 28 метаболитов, по данным литературы и собственным наблюдениям, могли иметь двойное (эндогенное + микробное) или же преимущественно микробное происхождение [26, 27, 60, 79–83].

Для последующего статистического анализа было отобрано 37 метаболитов. Критерием отбора служила принадлежность соединения хотя бы к одной из следующих групп: 1) метаболиты микробного происхождения, то есть метаболиты, возможно, продуцируемые микробиотой кишечника, в том

числе продукты трансформации компонентов (ингредиентов) пищи растительного или животного происхождения, а также некоторые микробные маркеры [41, 60, 74, 76, 79, 83–87]; 2) метаболиты, возможно, связанные с воспалительными заболеваниями кишечника, целиакией, колоректальным раком или раком других органов, а также с некоторыми аутоиммунными заболеваниями (по данным клинических и экспериментальных исследований) [32, 88–90]; 3) важнейшие эндогенные метаболиты, в том числе некоторые метаболиты цикла трикарбоновых кислот (цикл Кребса, цикл лимонной кислоты), метаболиты, вовлеченные в процессы кетогенеза, липолиза, липогенеза *de novo*, гликолиза, глюконеогенеза, метаболизма аминокислот, а также метаболиты, регулирующие воспаление [60, 79, 91, 92]. Содержание этих метаболитов в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев приведено в таблице 1.

У пациентов с язвенным колитом концентрации молочной (#04), 2-гидроксимасляной (#10), 3-гидроксиизомасляной (#13), 2-гидроксиизовалериановой (#14), 3-гидроксикоричной (#41), янтарной (#25), бензойной (#19) и парагидроксифенилуксусной (#39) кислот были значимо повышены по сравнению с группой здоровых добровольцев, что может свидетельствовать о возможном участии этих низкомолекулярных соединений в патогенезе язвенного колита. В свою очередь, уровни капроновой (#05), линолевой (#63) и эйкозодиеновой (#71) кислот при язвенном колите были значимо ниже, чем в группе здоровых.

Концентрации двух гидроксикислот – 2-гидроксимасляной кислоты (#10) и 2-гидроксиизовалериановой кислоты (#14) у больных язвенным колитом были значимо повышены и по сравнению с пациентами с целиакией. В то же время концентрации капроновой (#05), линолевой (#63) и гликолевой (#06) кислот при язвенном колите были значимо ниже, чем в группе целиакии.

У пациентов с целиакией концентрации стеариновой (#66), 2-гидроксиизовалериановой (#14), янтарной (#25), фумаровой (#28) и бензойной (#19) кислот были значимо повышены по сравнению со здоровыми добровольцами, а уровень арахидоновой кислоты (#70) был значимо повышен только по сравнению с больными язвенным колитом.

Концентрации остальных метаболитов статистически значимо не различались между группами.

Значимые различия между всеми тремя группами были выявлены в сывороточных концентрациях таких метаболитов, как капроновая кислота (#05) ($p = 0,018$), стеариновая кислота (#66) ($p = 0,033$), линолевая кислота (#63) ($p = 0,017$), эйкозодиеновая кислота (#71) ($p = 0,020$), 2-гидроксимасляная кислота (#10) ($p = 0,002$), 2-гидроксиизовалериановая кислота (#14) ($p < 0,001$), 3-гидроксикоричная кислота (#41) ($p = 0,041$), янтарная кислота (#25) ($p = 0,015$), фумаровая кислота (#28) ($p = 0,050$), бензойная кислота (#19) ($p = 0,005$) и парагидроксифенилуксусная кислота (#39) ($p = 0,021$). По данным дополнительного анализа, проведенного с помощью теста Джонкхир – Терпстры, были выявлены значимые различия между всеми группами в уровне

молочной кислоты (#04) ($p = 0,034$) и индолуксусной кислоты (#50) ($p = 0,049$).

Значимые различия в концентрациях таких метаболитов, как стеариновая кислота (#66) ($p = 0,027$), эйкозодиеновая кислота (#71) ($p = 0,010$), молочная кислота (#04) ($p = 0,028$), 2-гидроксимасляная кислота (#10) ($p = 0,005$), 3-гидроксиизомасляная кислота (#13) ($p = 0,025$), 2-гидроксиизовалериановая кислота (#14) ($p < 0,001$), янтарная кислота (#25) ($p = 0,005$), фумаровая кислота (#28) ($p = 0,021$), бензойная кислота (#19) ($p = 0,002$), парагидроксифенилуксусная кислота (#39) ($p = 0,015$), 3-гидроксикоричная кислота (#41) ($p = 0,013$) и индолуксусная кислота (#50) ($p = 0,036$), наблюдались также между объединенной группой больных язвенным колитом и целиакией и группой здоровых добровольцев.

Кроме того, был рассчитан ряд метаболомных индексов – биомаркеров метаболизма жирных кислот. Индекс липогенеза *de novo* (липогенный индекс), рассчитываемый как отношение концентраций пальмитиновой и линолевой кислот ($C16:0/C18:2n-6$, #55/#63), был значимо повышен у пациентов с язвенным колитом по сравнению как со здоровыми добровольцами (3,53 vs. 1,51, $p = 0,003$; U-критерий Манна – Уитни), так и с больными целиакией (3,53 vs. 2,45, $p = 0,039$; U-критерий Манна – Уитни). Индекс активности элонгазы (ИАЭ) ELOVL6, рассчитываемый как отношение концентраций стеариновой и пальмитиновой кислот ($C18:0/C16:0$, #66/#55), у пациентов с язвенным колитом был значимо повышен (по сравнению со здоровыми добровольцами) (0,86 vs. 0,51, $p = 0,021$; U-критерий Манна – Уитни). Индекс активности элонгазы у больных целиакией имел тенденцию к повышению, однако различия не являлись статистически значимыми ($p = 0,067$; U-критерий Манна – Уитни). У пациентов же объединенной группы больных наблюдалось значимое повышение ИАЭ (0,72 vs. 0,51, $p = 0,018$; U-критерий Манна – Уитни). У пациентов с язвенным колитом (по сравнению со здоровыми лицами) также было значимо повышено отношение уровня насыщенной стеариновой кислоты к уровню незаменимой ω -6-полиненасыщенной линолевой кислоты ($C18:0/C18:2n-6$, #66/#63) (2,88 vs. 0,70, $p = 0,002$; U-критерий Манна – Уитни). Индекс активности $\Delta 6$ -десатуразы–элонгазы– $\Delta 5$ -десатуразы, рассчитываемый как отношение концентраций арахидоновой и линолевой кислот ($C20:4n-6/C18:2n-6$, #70/#63), был значимо повышен только у больных язвенным колитом (по сравнению со здоровыми добровольцами) (0,13 vs. 0,05, $p = 0,021$; U-критерий Манна – Уитни). Отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозодиеновой кислоты ($C20:4n-6/C20:2n-6$, #70/#71) было повышено как в группе пациентов с язвенным колитом (6,88 vs. 3,28, $p = 0,014$; U-критерий Манна – Уитни), так и в группе больных целиакией (4,84 vs. 3,28, $p = 0,033$; U-критерий Манна – Уитни).

Результаты ROC-анализа показали потенциальную возможность использования некоторых метаболитов (преимущественно микробного или смешанного происхождения) и индексов в качестве биомаркеров хронического воспаления в кишечнике (таблица 2, рис. 1).

№ п/п	Код	Метаболиты	Подгруппа жирных кислот	Концентрация в сыворотке крови (усл. ед.), Ме (Q ₁ –Q ₃)			Уровень значимости (p)
				Язвенный колит	Целиакия	Здоровые	
Монокарбоновые кислоты							
Насыщенные жирные кислоты							
1	#01	Изовалериановая кислота	КЖКРЦ/ НМРЖК	0,044 (0,034–0,102)	0,062 (0,041–0,133)	0,048 (0,003–0,065)	
2	#05	Капроновая кислота	КЖК	0,080 ^{a, b} (0,048–0,159)	0,205 (0,084–0,255)	0,204 (0,106–0,249)	^a p = 0,006; ^b p = 0,017
3	#11	Энантовая кис- лота	КЖК	0,006 (0,004–0,014)	0,007 (0,004–0,013)	0,007 (0,001–0,014)	
4	#21	Каприловая кислота	СЖК	0,282 (0,181–0,558)	0,484 (0,242–0,758)	0,309 (0,250–0,579)	
5	#29	Пеларгоновая кислота	СЖК	0,642 (0,430–0,753)	0,755 (0,517–1,550)	0,744 (0,587–1,510)	
6	#36	Каприновая кислота	СЖК	0,899 (0,735–1,213)	0,863 (0,611–1,153)	0,779 (0,635–1,070)	
7	#40	Лауриновая кислота	СЖК	1,644 (1,034–2,311)	1,936 (1,356–2,591)	2,039 (1,312–2,752)	
8	#45	Миристиновая кислота	ДЖК	2,632 (2,015–3,899)	3,579 (2,927–10,098)	3,867 (2,244–6,002)	
9	#49	Пентадекановая кислота	ДЖК	0,704 (0,510–0,974)	0,891 (0,655–1,301)	0,787 (0,611–1,125)	
10	#55	Пальмитиновая кислота	ДЖК	33,278 (19,249–58,548)	41,838 (30,815– 108,408)	41,647 (28,435–51,303)	
11	#66	Стеариновая кислота	ДЖК	20,822 (16,096–34,575)	34,205 ^a (17,726–53,324)	16,022 ^c (12,958–21,309)	^a p = 0,015; ^c p = 0,027
12	#72	Бегеновая кис- лота	ДЖК	0,098 (0,051–0,169)	0,118 (0,059–0,190)	0,089 (0,055–0,152)	
Полиненасыщенные жирные кислоты							
13	#63	Линолевая кис- лота	ω-6-ПНЖК	7,019 ^{a, b} (5,416–16,571)	23,162 (12,667–37,932)	27,120 (17,992–39,745)	^a p = 0,006; ^b p = 0,019
14	#70	Арахидоновая кислота (АК)	ω-6-ПНЖК	0,987 (0,650–1,224)	1,467 ^b (1,012–1,968)	1,030 (0,504–2,650)	^b p = 0,028
15	#71	Эйкозодиеновая кислота (ЭДК)	ω-6-ПНЖК	0,098 ^a (0,055–0,221)	0,256 (0,044–0,424)	0,544 ^c (0,146–0,765)	^a p = 0,007; ^c p = 0,010
Гидроксикарбоновые кислоты (оксикислоты)							
16	#06	Гликолевая кислота		0,099 ^b (0,058–0,146)	0,248 (0,101–0,474)	0,170 (0,067–0,238)	^b p = 0,039
17	#04	Молочная кис- лота		12,878 ^a (4,483–15,837)	7,619 (4,684–15,349)	4,814 ^c (3,418–7,271)	^a p = 0,041; ^c p = 0,028
18	#12	3-Гидроксипро- пионовая кислота (3-ГПК)		0,009 (0,003–0,044)	0,021 (0,009–0,046)	0,012 (0,004–0,027)	
19	#10	2-Гидроксимас- ляная кислота (2-ГМК)		0,241 ^{a, b} (0,191–0,540)	0,154 (0,055–0,245)	0,084 ^c (0,043–0,122)	^a p = 0,001; ^b p = 0,029; ^c p = 0,005
20	#13	3-Гидроксиизо- масляная кислота (3-ГИМК)		0,284 ^a (0,135–0,969)	0,191 (0,088–0,467)	0,112 ^c (0,070–0,174)	^a p = 0,027; ^c p = 0,025
21	#14	2-Гидроксиизо- валериановая кислота (2-ГИВК)		0,100 ^{a, b} (0,073–0,212)	0,034 ^a (0,012–0,047)	0,005 ^c (0,002–0,012)	^a p < 0,001 (ЯК vs. 3); ^a p = 0,003 (Ц vs. 3); ^b p = 0,028; ^c p = 0,001
Дикарбоновые кислоты							
22	#25	Янтарная кислота (ЯК)		0,281 ^a (0,112–0,659)	0,228 ^a (0,071–0,375)	0,037 ^c (0,024–0,128)	^a p = 0,010 (ЯК vs. 3); ^a p = 0,022 (Ц vs. 3); ^c p = 0,005
23	#28	Фумаровая кис- лота (ФК)		0,016 (0,009–0,047)	0,019 ^a (0,013–0,093)	0,009 ^c (0,005–0,023)	^a p = 0,022; ^c p = 0,021
Фенилкарбоновые кислоты							
24	#19	Бензойная кисло- та (БК)		0,678 ^a (0,566–0,947)	0,649 ^a (0,371–0,973)	0,380 ^c (0,247–0,590)	^a p = 0,001 (ЯК vs. 3); ^a p = 0,025 (Ц vs. 3); ^c p = 0,002
25	#23	Фенилуксусная кислота (ФУК)		0,116 (0,035–0,199)	0,086 (0,012–0,199)	0,067 (0,022–0,138)	

Таблица 1.
Содержание метаболитов в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев (усл. ед.), Ме (Q₁–Q₃).

Примечание:
^a Различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами (U-критерий Манна – Уитни; p < 0,05, точные значения p приведены в таблице).
^b Различия значимы по сравнению с пациентами с другим заболеванием (U-критерий Манна – Уитни; p < 0,05, точные значения p приведены в таблице).
^c Различия значимы между группой здоровых добровольцев (З) и объединенной группой больных (ЯК + Ц) (U-критерий Манна – Уитни; p < 0,05, точные значения p приведены в таблице).
КЖК – короткоцепочечная жирная кислота, КЖКРЦ – короткоцепочечная жирная кислота с разветвленной цепью, НМРЖК – насыщенная метил-разветвленная жирная кислота, СЖК – среднецепочечная жирная кислота, ДЖК – длинноцепочечная жирная кислота, ω-6-ПНЖК – ω-6-полиненасыщенная жирная кислота.

таблица 1
(продолжение)

№ п/п	Код	Метаболиты	Подгруппа жирных кислот	Концентрация в сыворотке крови (усл. ед.), Ме (Q ₁ –Q ₃)			Уровень значимости (p)
				Язвенный колит	Целиакия	Здоровые	
26	#31	2-Фенилмасляная кислота (2-ФМК)		0,003 (0,001–0,005)	0,004 (0,002–0,007)	0,001 (0,001–0,003)	
27	#32	Фенилпропио- новая кислота (ФПК)		0,208 (0,044–0,332)	0,130 (0,002–0,314)	0,234 (0,109–0,351)	
28	#39	Парагидроксифе- нилуксусная кислота (ПГФУК)		0,355 ^a (0,265–0,665)	0,201 (0,115–0,584)	0,122 ^c (0,099–0,288)	^a p = 0,005; ^c p = 0,015
29	#41	3-Гидроксико- ричная кислота (3-ГКК)		0,341 ^a (0,154–0,495)	0,222 (0,096–0,802)	0,138 ^c (0,081–0,158)	^a p = 0,007; ^c p = 0,013
Индолкарбоновые кислоты							
30	#50	Индолуксусная кислота (ИУК)		0,978 ^a (0,338–2,358)	0,622 (0,322–2,017)	0,306 ^c (0,200–0,870)	^a p = 0,047; ^c p = 0,036
31	#56	Индолпропио- новая кислота (ИПК)		0,407 (0,096–0,616)	0,468 (0,176–1,987)	0,362 (0,232–0,624)	
Аминокислоты							
32	#07	L-аланин		0,007 (0,003–0,010)	0,024 (0,012–0,095)	0,017 (0,011–0,049)	
33	#09	Глицин		0,009 (0,006–0,019)	0,039 (0,017–0,132)	0,008 (0,001–0,042)	
34	#37	Пролин		0,068 (0,031–0,257)	0,235 (0,062–0,431)	0,089 (0,060–0,141)	
Амиды кислот							
35	#18	Мочевина		0,587 (0,343–1,561)	0,750 (0,384–1,346)	0,483 (0,286–0,746)	
36	#62	Гексадеканамид		0,498 (0,130–0,649)	0,372 (0,218–0,509)	0,328 (0,211–0,661)	
Алкалоиды							
37	#46	Кофеин		0,455 (0,085–0,709)	0,302 (0,033–0,590)	0,083 (0,062–0,265)	

Таблица 2.
Результаты анализа
ROC-кривых сывороточных
концентраций некоторых
метаболитов – потенциа-
льных биомаркеров храни-
ческих воспалительных
процессов в кишечнике.

Примечание:
2-ГМК – 2-гидроксимасля-
ная кислота, ПГФУК – па-
рагидроксифенилуксусная
кислота, 2-ГИВК – 2-гидрок-
сиизовалериановая кислота,
АК – арахидоновая кислота,
ЭДК – эйкозодиеновая
кислота AUC – площадь под
ROC-кривой.

Заболевание / патологическое состояние	Биомаркер	AUC	95 % ДИ	Уровень значимости (p)	Качество биомаркера	Чувстви- тельность	Специ- фичность
Язвенный колит	2-ГМК	0,915	0,803–1,000	< 0,001	Отличное	82 %	93 %
	ПГФУК	0,811	0,636–0,986	0,006	Очень хорошее	75 %	87 %
Целиакия	Стеариновая кислота	0,748	0,574–0,922	0,015	Хорошее	72 %	80 %
	Фумаровая кислота	0,737	0,562–0,912	0,022	Хорошее	88 %	60 %
Хроническое воспаление в кишечнике (язвенный колит или целиакия)	2-ГИВК	0,834	0,706–0,963	< 0,001	Очень хорошее	83 %	80 %
	Янтарная кислота	0,759	0,606–0,911	0,005	Хорошее	83 %	67 %
	Бензойная кислота	0,789	0,659–0,919	0,002	Хорошее	70 %	73 %
	Отношение АК/ЭДК (C20 : 4n – 6 / C20 : 2n – 6)	0,745	0,592–0,897	0,008	Хорошее	66 %	73 %

Представленное ниже обсуждение результатов систематизировано по группам/подгруппам химических соединений и включает, как правило, только те метаболиты, концентрации или отношения кон-
центраций которых значимо различались между
исследуемыми группами.

Монокарбоновые (жирные) кислоты

Из монокарбоновых (жирных) кислот в насто-
ящем исследовании нами были идентифициро-
ваны изовалериановая, капроновая, энантовая,
каприловая, пеларгоновая, каприновая, лаури-
новая, миристиновая, изомиристиновая, пента-
декановая, пальмитиновая, изопальмитиновая,

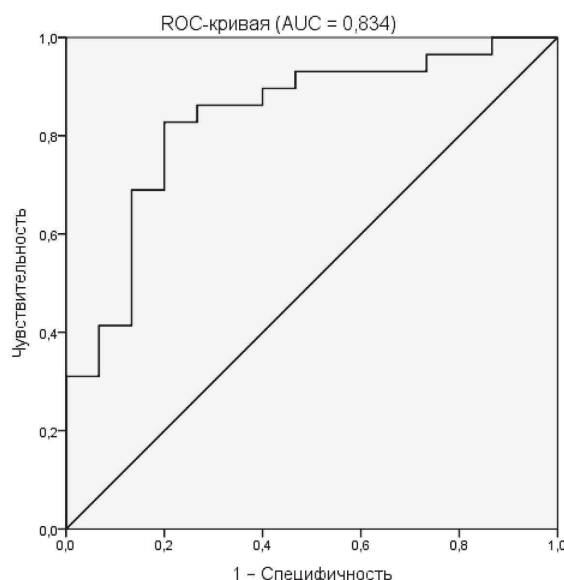


Рисунок 1. ROC-кривая для 2-гидроксиизовалериановой кислоты (2-ГИВК) – потенциального сывороточного маркера хронического воспаления в кишечнике. AUC = 0,834 (95 % ДИ: 0,706–0,963, $p < 0,001$), чувствительность – 83 %, специфичность – 80 % (таблица 2).

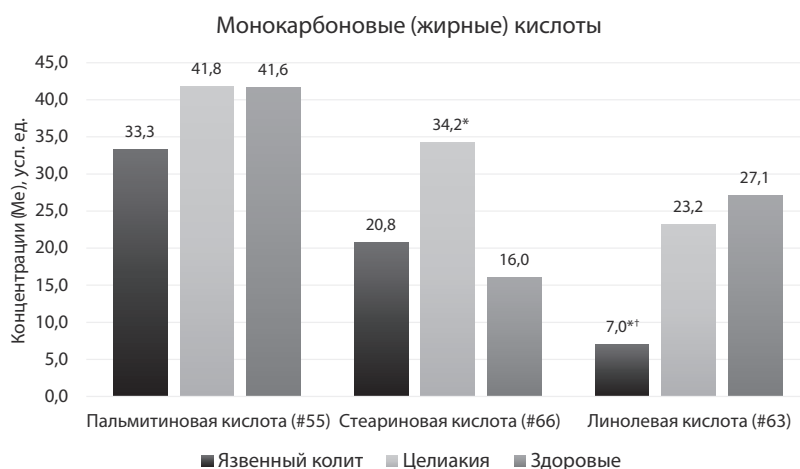


Рисунок 2. Концентрации (Me) некоторых монокарбоновых кислот в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев по данным ГХ-МС (в условных единицах). * – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами; † – различия значимы по сравнению с другим заболеванием ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни, точные значения p приведены в таблице 1).

стеариновая, бегеновая, линолевая, арахидоновая и эйкозадиеновая кислоты.

В обсуждение были включены только те соединения, концентрации или отношения концентраций которых значимо различались между исследуемыми группами: из низших жирных

кислот – капроновая кислота (#05), из высших насыщенных жирных кислот – пальмитиновая (#55) и стеариновая (#66) кислоты, из высших полиненасыщенных жирных кислот – линолевая (#63), арахидоновая (#70) и эйкозадиеновая (#71) кислоты (рис. 2 и 3).

Капроновая кислота

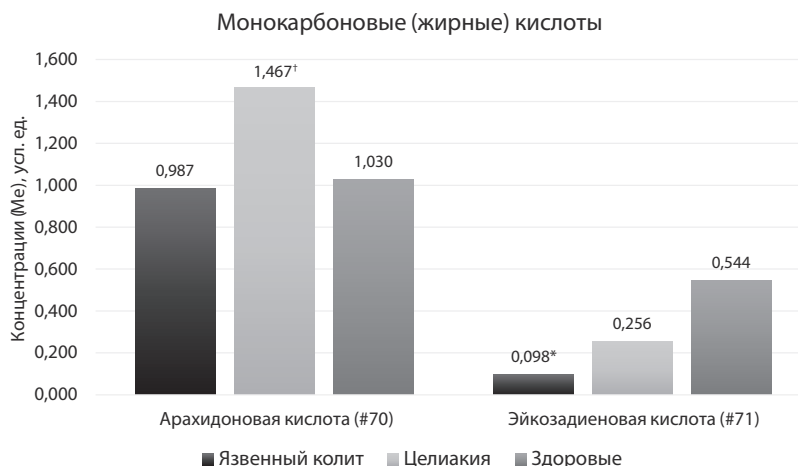
Капроновая (гексановая) кислота (C6:0) относится к короткоцепочечным жирным кислотам [93–95]. Капроновая кислота, подобно другим КЖК, является лигандом рецепторов жирных кислот – GPR43 (FFA2/FFAR2) и, в меньшей степени, GPR41 (FFA3/FFAR3), что может определять ее возможные противовоспалительные и противоопухолевые эффекты. Кроме того, она способна оказывать противомикробное действие, модулируя экспрессию антимикробных пептидов (АМП) в организме хозяина [96].

Микробное происхождение капроновой кислоты доказано в многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях. Синтез капроновой кислоты представителями микробиоты кишечника может осуществляться с использованием в качестве основного субстрата глюкозы или молочной кислоты [97, 98]. Важнейшими продуцентами

капроновой кислоты являются облигатные анаэробные бактерии *Bacteroides* spp. и *Megasphaera* spp. (семейство Veillonellaceae, тип Firmicutes), а также представители клостридиального кластера IV [97–99]. Однако, капроновая кислота была также обнаружена в культуральной жидкости факультативно аэробной бактерии *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis, что позволило авторам исследования предположить, что эта кислота выделяется многими представителями микрофлоры, выполняя такие же коммуникативные (сигнальные, регуляторные) функции, как и другие карбоновые кислоты – уксусная, пропионовая, масляная, молочная [84, 86, 100]. У пациентов с ожирением концентрация капроновой кислоты в плазме была положительно связана с фекальным уровнем аскомицетовых грибов класса Eurotiomycetes [101].

Рисунок 3.

Концентрации (Ме) некоторых монокарбоновых кислот в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев по данным ГХ–МС (в условных единицах). * – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами; † – различия значимы по сравнению с другим заболеванием ($p < 0,05$; U-критерий Манна–Уитни, точные значения p приведены в таблице 1).



Антимикробное действие капроновой кислоты установлено в отношении целого ряда бактерий, как грамположительных, так и грамотрицательных, – *Streptococcus* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, а также грибов *Candida albicans* [102]. Капроновая кислота в кале в 10 раз реже выявляется у пациентов с инфекцией *Clostridium difficile* и в 1,5 раза реже – у больных язвенным колитом (по сравнению со здоровыми лицами) [103]. Подтверждено также противоопухолевое действие капроновой кислоты, в том числе в отношении клеток колоректального рака [104]. В экспериментальных исследованиях капроновая кислота (как и некоторые другие КЖК, например, масляная) стимулировала пролиферативную активность клеток иммунной ткани селезенки и рост пробиотической бактериальной культуры *Escherichia coli* M-17 [88, 105, 106].

В доступной нам научной литературе мы не нашли данных о содержании капроновой кислоты в крови у пациентов с ВЗК или целиакией, однако

в одном исследовании было показано снижение фекального уровня капроновой кислоты у пациентов с язвенным колитом, болезнью Крона и паучитом (резервуаритом) [89]. В другом исследовании было показано уменьшение концентрации капроновой кислоты в кале у больных псориазом и псориатическим артритом с нарушениями микробиоценоза кишечника, аналогичными дисбиозу толстой кишки при ВЗК [107]. У детей с леченной целиакией уровень капроновой кислоты в кале не отличался от такового у здоровых детей, однако уровень в моче был значимо ниже [108].

В настоящем исследовании уровень капроновой кислоты (#05) при язвенном колите был значимо ниже, чем в группе здоровых добровольцев и в группе целиакии, что, по нашему мнению, может быть результатом уменьшения ее микробной продукции, связанного с дисбиозом кишечника, и косвенно свидетельствовать о ее противовоспалительном действии.

Пальмитиновая и стеариновая кислоты

Пальмитиновая и стеариновая кислоты относятся к группе высших насыщенных жирных кислот и входят в состав большинства растительных масел и животных жиров. Наряду с глюкозой, высшие насыщенные жирные кислоты (пальмитиновая и стеариновая) являются основными субстратами для синтеза АТФ, т.е. для обеспечения клеток энергией [109]. В организм пальмитиновая кислота поступает с пищей или образуется эндогенно (это первая и основная жирная кислота в организме человека, синтезируемая в процессе липогенеза). Стеариновая кислота может синтезироваться в организме уже из пальмитиновой кислоты с помощью элонгаз жирных кислот (например, ELOVL6), отвечающих за удлинение алифатической цепи жирных кислот [110, 111]. Данные о продукции пальмитиновой и стеариновой кислот микроорганизмами в кишечнике человека в доступных нам литературных источниках отсутствуют.

По данным ВОЗ, повышенное потребление пальмитиновой и миристиновой кислот увеличивает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, линолевой – уменьшает, а стеариновой – никак не влияет на данный риск [112].

Экспериментальные исследования показывают, что в условиях гипоксии, сопровождающей воспаление и канцерогенез, существенно изменяется метаболизм жирных кислот. В частности, гипоксия индуцирует элонгацию пальмитиновой кислоты (до стеариновой), что отражается в значимом повышении индекса активности элонгазы (ИАЭ), рассчитываемого как отношение концентраций стеариновой и пальмитиновой кислот. При этом индукция липогенеза гипоксией осуществляется как через HIF-1 α -зависимые пути (HIF-1 α – транскрипционный фактор 1 α , индуцируемый гипоксией), так и с помощью механизмов, не зависящих от HIF-1 α [113]. В экспериментальных исследованиях также показано, что синтаза жирных кислот (пальмитат-синтаза, СЖК, FAS), первичный фермент липогенеза *de novo*, может модулировать кишечный барьер через пальмитирование муцина-2, основного протеогликана кишечника, синтез которого при ВЗК серьезно нарушен [3, 114]. Последующие исследования, вероятно, смогут более детально выявить механизмы патофизиологической связи между воспалением в кишечнике и нарушениями липидного обмена, широко обсуждаемые в научной литературе [115].

ω-6-полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая, арахидоновая и эйкозодиеновая)

Линолевая, арахидоновая и эйкозодиеновая кислоты относятся к семейству «Омега-6» (ω-6) полиненасыщенных жирных кислот (ω-6-ПНЖК). Биологические эффекты ω-6-ПНЖК во многом связаны

с возможностью их преобразования в ω-6-эйкозаноиды, высокоактивные регуляторы клеточных функций, способные связываться с различными рецепторами в тканях организма человека [116].

Линолевая кислота

Линолевая кислота является единственной истинно незаменимой (эссенциальной) жирной кислотой из семейства ω-6-ПНЖК (остальные ω-6-ПНЖК могут синтезироваться в организме). Основным источником линолевой кислоты – жиры (как животные жиры, так и растительные масла), поступающие с пищей. Косвенно это подтверждается тем фактом, что уровень таких жирных кислот, как линолевая и пальмитиновая, коррелирует с содержанием животных и растительных жиров в пище [117].

Биомедицинское значение линолевой кислоты заключается в том, что она участвует в синтезе арахидоновой кислоты (и, таким образом, некоторых простагландинов), а также в формировании фосфолипидов клеточных мембран. Повышенное потребление линолевой кислоты, связанное с диетическими рекомендациями, возможно, уменьшает риск сердечно-сосудистых заболеваний. С другой стороны, линолевая кислота является прекурсором ряда окисленных биологически активных метаболитов, 9- и 13-гидроксиоктадекадиеновых кислот и 9- и 13-оксооктадекадиеновых кислот (9-HODE, 13-HODE, 9-охоODE и 13-охоODE), с которыми связывают некоторые патологические состояния, например, болезнь Альцгеймера и неалкогольный стеатогепатит [118]. Кроме того, ряд авторов указывают на роль линолевой кислоты в развитии системного воспаления (опосредованно через синтез провоспалительных эйкозаноидов из арахидоновой кислоты и/или ингибирование синтеза противовоспалительных эйкозаноидов из эйкозапентаеновой кислоты и/или докозагексаеновой кислоты). Так, например, в европейском исследовании «случай–контроль», включавшем оценку характера питания у 203193 человек в возрасте 30–74 лет из Великобритании, Швеции, Дании, Германии и Италии, было показано, что повышенное потребление линолевой кислоты с пищей более чем в 2 раза повышает риск развития язвенного колита [119]. Однако систематический анализ результатов рандомизированных клинических исследований не выявил увеличения уровня маркеров воспаления у здоровых лиц в связи с повышенным употреблением линолевой кислоты [120], а канадское исследование показало, что прием линолевой кислоты никак не влияет на уровень арахидоновой кислоты в плазме крови взрослых мужчин, но при этом значительно повышает уровень эйкозодиеновой кислоты (продукт элонгации линолевой кислоты) и снижает уровень дигомо-γ-линоленовой (ДГЛК, ω-6-ПНЖК) и эйкозапентаеновой (ω-3-ПНЖК) кислот [121]. В свою очередь, исследование, проведенное в Японии, показало, что повышенное потребление линолевой кислоты

(а не только альфа-линоленовой кислоты, относящейся к классу ω-3-ПНЖК), напротив, связано с уменьшением уровня маркеров воспаления, таких как С-реактивный белок [122]. По мнению авторов, линолевая кислота, так же как и ω-3-ПНЖК, обладает системными противовоспалительными эффектами [122]. Косвенным подтверждением противовоспалительных свойств линолевой кислоты является ее возможность ингибировать продукцию провоспалительного интерлейкина ИЛ-6, индуцированную пальмитиновой кислотой [123]. Значимая обратная корреляция между содержанием линолевой кислоты в крови и уровнем сывороточного С-реактивного белка, определяемого высокочувствительным методом (hs-CRP), была выявлена у женщин с ожирением [124]. Ученые из Университета Восточной Финляндии сделали вывод о том, что линолевая кислота, наряду с некоторыми другими жирными кислотами, возможно, препятствует развитию воспаления низкой степени активности, защищая тем самым от развития сахарного диабета 2-го типа [125].

Кроме линолевой кислоты вместе с молочной и мясной пищей в организм человека поступает и конъюгированная линолевая кислота (КЛК), являющаяся продуктом процессов биогидрогенизации, протекающих в рубце жвачных животных [126]. Кроме того, КЛК содержится в яйцах, некоторых видах грибов и растительных маслах (в минимальных количествах). Некоторые представители микробиоты кишечника человека (например, молочнокислые бактерии, такие как *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium* spp.), а также пробиотические штаммы (например, VSL#3, содержащий *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis* и *Streptococcus thermophilus*) способны производить КЛК из линолевой кислоты [127–130]. Показано, что в зависимости от состава микробиоты толстой кишки наблюдаются выраженные межиндивидуальные различия в метаболизме линолевой кислоты и продукции КЛК [131]. Стоит также отметить, что продукция КЛК и бактериоцинов пробиотическими штаммами рассматривается сегодня как один из основных механизмов их терапевтического и профилактического действия [132]. В экспериментальных исследованиях было показано, что конъюгированная линолевая кислота обладает потенциальным антиканцерогенным, антиатерогенным и, возможно, иммуномодулирующим действием [133], а также рядом других положительных эффектов, затрагивающих функции печени, метаболизм глюкозы и процессы, связанные с окислительным стрессом [134].

Арахидоновая кислота

Арахидоновая кислота также относится к ω -6-полиненасыщенным жирным кислотам. В организм человека арахидоновая кислота поступает преимущественно с пищей (мясомолочные продукты, яйца), но не является незаменимой, поскольку может синтезироваться в организме из линолевой кислоты. Арахидоновая кислота, по всей видимости, имеет наибольшее физиологическое значение из ω -6-ПНЖК, поскольку является основным источником эйкозаноидов (простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов), многие из которых могут выступать как в роли медиаторов воспаления (например, простагландин E_2 [PGE_2] и неклассический эйкозаноид гепоксалин A_3 [HxA_3]), так

и в роли противовоспалительных агентов (например, простагландин D_2 [PGD_2]), в том числе при воспалительных заболеваниях кишечника [135, 136]. Кроме того, арахидоновая кислота входит в состав фосфолипидов клеточных мембран (например, клеток печени, мозга, мышечных волокон) [137]. На основании результатов одного из проспективных когортных исследований была выдвинута гипотеза о том, что поступающая с пищей арахидоновая кислота может способствовать развитию язвенного колита (в дозозависимой манере), в то время как олеиновая кислота (ω -9-МНЖК), конкурентно ингибирующая метаболизм арахидоновой кислоты, напротив, препятствует этому [138].

Эйкозодиеновая кислота

Эйкозодиеновая кислота (ЭДК) содержится в тканях и биологических жидкостях организма в концентрациях, существенно меньших (иногда в десятки–сотни раз), чем концентрации линолевой и арахидоновой кислот [139]. ЭДК образуется в организме человека в процессе элонгации линолевой кислоты, и, в свою очередь, может метаболизироваться в дигомо- γ -линоленовую (ДГЛК), арахидоновую и сиадоновую (скиадоновую) кислоты. Возможен и обратный процесс конверсии ЭДК в линолеовую кислоту [140]. Концентрация ЭДК в крови в основном отражает уровень других ω -6-ПНЖК и, по всей видимости, может зависеть как от уровня эссенциальной линолевой кислоты, так и от интенсивности эндогенного синтеза арахидоновой кислоты [121].

Несмотря на то, что метаболизм ЭДК тщательно изучен, ее влияние на воспалительные процессы остается неясным. В экспериментальном исследовании эйкозодиеновая кислота по-разному влияла на различные медиаторы воспаления – уменьшала продукцию оксида азота, но повышала при этом высвобождение простагландина E_2 и ФНО- α [141]. В другом исследовании выключение гена микросомальной (мембраносвязанной) синтазы-1 простагландина E (mPGES-1), отвечающей за продукцию индуцибельного простагландина E_2 , приводило к подавлению воспаления и активации противовоспалительных путей, сопровождаясь при этом повышением уровня ЭДК [142]. В пользу противовоспалительного характера ЭДК свидетельствуют

данные о значимом снижении ее уровня (наряду со снижением уровня линолевой кислоты) в плазме крови у больных сахарным диабетом II типа (СД-2) в крупномасштабном европейском исследовании, включавшем более 12 тысяч пациентов с СД-2 [143]. Понижение уровня ЭДК наблюдалось при боковом амиотрофическом склерозе [144]. Уровень ЭДК значимо повышался после лечения при таких аутоиммунных заболеваниях как полимиозит и дерматомиозит, наряду с повышением уровня эйкозапентаеновой кислоты (ω -3-ПНЖК) [145]. С другой стороны, у пациентов с ожирением и гиперлипидемией, патогенетически связанными с другими метаболическими расстройствами, был выявлен повышенный уровень ЭДК в сыворотке крови [146]. Высокие концентрации эйкозодиеновой, арахидоновой и некоторых других ПНЖК в плазме крови, а также повышенная активность $\Delta 6$ -десатуразы ($D6D$, ген $FADS2$), в свою очередь, могут быть связаны с полиморфизмом rs174537 (и другими) в кластере генов $FADS$, определяющим также высокие уровни липопротеинов низкой плотности и общего холестерина [147, 148].

Тем не менее, результаты экспериментальных и клинических исследований позволяют предположить, что эйкозодиеновая кислота является, скорее, противо-, а не провоспалительным метаболитом, а преимущественная конверсия линолевой кислоты в эйкозодиеновую (вместо арахидоновой) может потенциально уменьшить возможные неблагоприятные эффекты ω -6-ПНЖК [149, 150].

Высшие жирные кислоты при ВЗК, целиакии и других заболеваниях, связанных с хроническим воспалением

Пул свободных жирных кислот крови образован в основном пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и арахидоновой кислотами (86 % всех циркулирующих жирных кислот) [139]. Изменение концентраций этих кислот наблюдается не только при метаболических и эндокринных расстройствах (атеросклероз, ожирение, сахарный диабет 2-го типа, НАЖБП и др.), но и при заболеваниях, связанных с хроническим воспалением, в том числе при раке различных локализаций. Так, повышенный уровень пальмитиновой и арахидоновой кислот в сыворотке крови наблюдался при колоректальном раке [151]. В другом исследовании уровень арахидоновой и линолевой кислот

(как и некоторых других ненасыщенных жирных кислот) в сыворотке крови у пациентов с колоректальным раком был значимо снижен (по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с доброкачественными заболеваниями толстой кишки) [152]. При раке поджелудочной железы содержание арахидоновой кислоты в плазме крови повышалось [153], а содержание пальмитиновой кислоты снижалось [72]. При раке печени уровень пальмитиновой кислоты в сыворотке крови повышался [154]. У японских мужчин, участвовавших в периодическом профилактическом осмотре, концентрация такого маркера воспаления, как С-реактивный белок, была положительно связана с содержанием

пальмитиновой кислоты в сыворотке крови [155]. Значимая положительная связь между уровнем провоспалительного интерлейкина ИЛ-6 и концентрацией арахидоновой кислоты в сыворотке крови выявлена у пациентов с колоректальным раком [156].

При раке других локализаций концентрации высших жирных кислот в крови также могут значимо изменяться. Например, при аденокарциноме легких значимо повышались (в 1,8–3,3 раза) уровни линолевой и арахидоновой кислот, а также их метаболитов, таких как 5-, 11-, 12- и 15-гидроксиэйкозатетраеновые кислоты (5-НЕТЕ, 11-НЕТЕ, 12-НЕТЕ, 15-НЕТЕ) [157].

Повышенный уровень стеариновой кислоты и пониженные концентрации эйкозапентаеновой и докозапентаеновой кислот в сыворотке крови, связанные с клиническими проявлениями заболевания, повышенной экспрессией γ -интерферона (IFN γ) в Т-клетках CD4+ и Th1-ответом, были также выявлены у пациентов с ревматоидным артритом [158].

Высшие жирные кислоты (в том числе ПНЖК и их производные, например, PGE₂ и PGD₂), будучи вовлеченными как в провоспалительные, так и в противовоспалительные сигнальные пути, могут играть двойственную роль при хроническом воспалении в кишечнике человека и других млекопитающих [159–162].

При воспалительных заболеваниях кишечника концентрации жирных кислот, как насыщенных, так и полиненасыщенных, в крови изменяются в зависимости от активности процесса и нозологической формы. Так, при активном язвенном колите концентрация пальмитиновой кислоты в плазме крови значимо повышалась, в то время как концентрации линолевой и арахидоновой кислот не изменялись [163]. У больных с неактивным язвенным колитом (фаза ремиссии) уровень всех этих кислот (линолевой, арахидоновой и пальмитиновой) в плазме крови был значимо выше, чем в контрольной группе здоровых лиц. При болезни Крона наблюдались аналогичные изменения за исключением повышения уровня пальмитиновой кислоты. Результаты этих исследований позволили авторам сделать вывод о повышенном биосинтезе жирных кислот при воспалительных заболеваниях кишечника [164]. У взрослых пациентов с неактивным язвенным колитом содержание арахидоновой и докозагексаеновой кислот в плазме крови было повышено (по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы) [165]. Педиатрическое исследование, напротив, продемонстрировало значимое снижение уровня линолевой и арахидоновой кислот в плазме крови детей с язвенным колитом и болезнью Крона, связанное с активностью заболевания и обусловленное, по мнению авторов, малабсорбцией и мальдигестией, характерными для детей, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника [166].

У пациентов с активным ВЗК уровень свободных жирных кислот в крови был значимо повышен (как по сравнению со здоровыми добровольцами, так и по сравнению с пациентами в ремиссии) и прямо коррелировал с сывороточными маркерами

воспаления – С-реактивным белком (С-РБ) (у пациентов с ЯК) и ИЛ-6 (у пациентов с БК) [167].

У больных язвенным колитом уровень некоторых тканевых провоспалительных цитокинов, в том числе эотаксина-1, Г-КСФ, ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-8 и ИЛ-17, прямо коррелировал с содержанием насыщенных жирных кислот и обратно коррелировал с содержанием ПНЖК (ω -3 + ω -6), эйкозапентаеновой и докозапентаеновой кислот (обе – ω -3-ПНЖК) в сыворотке крови [57].

Содержание арахидоновой кислоты в плазме крови у пациентов с язвенным колитом обратно коррелировало с активностью заболевания, оцениваемой с помощью модифицированного индекса активности Харви – Брэдшоу (Harvey-Bradshaw activity index, HBAI), а содержание докозапентаеновой кислоты – с уровнем С-реактивного белка [168].

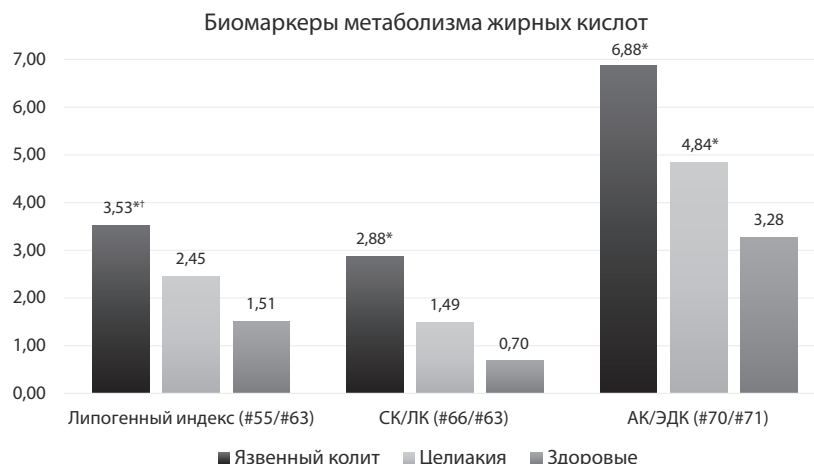
Уровень дериватов арахидоновой (но не линолевой) кислоты, таких как простагландины E₂ и D₂ (PGE₂, PGD₂), тромбоксан B₂ (TXB₂), 5-, 11-, 12- и 15-гидроксиэйкозатетраеновые кислоты (5-НЕТЕ, 11-НЕТЕ, 12-НЕТЕ, 15-НЕТЕ), в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки пациентов с активным язвенным колитом был значимо повышен и положительно коррелировал с гистологической тяжестью воспаления [169].

При целиакии выявлено увеличение долей пальмитиновой и стеариновой кислот (НЖК) и снижение долей линолевой, арахидоновой, эйкозапентаеновой, докозапентаеновой и докозагексаеновой кислот (все – ω -3-ПНЖК) в сыворотке крови по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы [170]. В более позднем исследовании у пациентов с целиакией была значимо изменена (увеличена) лишь доля докозагексаеновой кислоты, в то время как доли остальных высших жирных кислот (как НЖК, так и ПНЖК) значимо не различались между группами больных и здоровых [55]. У нелеченых пациентов с целиакией концентрации ряда высших жирных кислот в мембранах эритроцитов были значимо изменены по сравнению с контрольной группой здоровых лиц (снижены концентрации пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и докозагексаеновой кислот, повышены концентрации арахидоновой (эйкозано-вой), эйкозодиеновой и докозапентаеновой кислот, повышено отношение концентраций арахидоновой и докозагексаеновой кислот, отражающее баланс ω -6- и ω -3-ПНЖК), причем нарушенный профиль жирных кислот не восстанавливался полностью даже через год нахождения на безглютеновой диете [171].

В настоящем исследовании концентрации пальмитиновой кислоты (#55) статистически значимо не различались между группами, а концентрация стеариновой кислоты (#66) была значимо повышена только у пациентов с целиакией (по сравнению со здоровыми добровольцами). Тем не менее, отношение концентраций стеариновой и пальмитиновой кислот (ИАЭ) было значимо повышено у пациентов с язвенным колитом (по сравнению со здоровыми добровольцами), что могло свидетельствовать о повышенной интенсивности биосинтеза жирных кислот, обусловленной хроническим воспалением в кишечнике [113, 172]. Изменены были и другие

Рисунок 4.

Биомаркеры метаболизма жирных кислот. СК/ЛК – отношение уровня стеариновой кислоты к уровню линолевой кислоты; АК/ЭДК – отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозодиеновой кислоты. * – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами; † – различия значимы по сравнению с другим заболеванием ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни, точные значения p указаны в тексте статьи).



показатели метаболизма жирных кислот, обсуждаемые ниже.

Статистически значимые различия между всеми тремя группами в сывороточных концентрациях стеариновой, линолевой и эйкозодиеновой кислот, а также между объединенной группой больных и группой здоровых добровольцев в концентрациях стеариновой и эйкозодиеновой кислот свидетельствуют в пользу гипотезы о нарушении метаболизма жирных кислот в условиях хронического воспаления при обоих заболеваниях.

Снижение концентрации линолевой кислоты у пациентов с язвенным колитом может быть обусловлено самыми разными причинами – пониженным уровнем потребления с пищей (что, скорее всего, маловероятно), биотрансформацией микробиотой кишечника (преимущественно молочно-кислыми бактериями, численность которых при

ВЗК не изменена), вторичной малабсорбцией, эндогенной биотрансформацией в длинноцепочечные ω -6-ПНЖК [166, 173, 174]. Низкий уровень линолевой кислоты поддерживает версию об усилении липогенеза и служит косвенным подтверждением ее противовоспалительных свойств, в пользу чего свидетельствует наличие значимой положительной корреляции между сывороточным уровнем линолевой кислоты и численностью *Faecalibacterium prausnitzii* ($r_s = 0,317$, $p = 0,038$). Снижение уровня эйкозодиеновой кислоты у пациентов с язвенным колитом, в свою очередь, может быть обусловлено уменьшением концентрации линолевой кислоты, а положительная корреляционная связь между концентрацией эйкозодиеновой кислоты и общим количеством бутират-продуцирующих бактерий ($r_s = 0,410$, $p = 0,008$) также свидетельствует в пользу ее возможной противовоспалительной роли.

Биомаркеры метаболизма жирных кислот

Как видно из результатов приведенных исследований, уровень различных жирных кислот может значимо изменяться при хронических состояниях, связанных с воспалением, однако собственно концентрации ЖК в крови (как и доли отдельных кислот в общем пуле жирных кислот) вряд ли могут служить эффективными диагностическими или прогностическими биомаркерами при конкретных нозологических формах, прежде всего, в силу неспецифичности процессов, обуславливающих подобные изменения. Кроме того, основная доля высших жирных кислот поступает в организм с пищей, и уровень отдельных кислот в крови, прежде всего, незаменимых, в значительной степени может зависеть от характера питания, выраженности синдрома малабсорбции, состояния микробиоты кишечника (микробного метаболизма) (конъюгация линолевой и линоленовой кислот, насыщение ПНЖК) и ряда других факторов [166, 175–178].

Гораздо больший интерес, на наш взгляд, представляет оценка направленности метаболических процессов, лежащих в основе нарушений липидного обмена, для чего могут быть использованы специальные метаболомные (липидомные) биомаркеры, отражающие процессы биотрансформации жирных кислот в печени и жировой ткани – биосинтеза жирных кислот (липогенез *de novo*)

и интерконверсии (взаимопревращения) жирных кислот [91]. Биотрансформация жирных кислот происходит с участием двух основных типов ферментов – элонгаз, удлиняющих углеродную цепь, и десатураз, формирующих двойные («ненасыщенные») связи в строго определенных участках углеродной цепи молекул жирных кислот [179].

Рассчитанные нами значения биомаркеров метаболизма жирных кислот представлены на рис. 4 и 5.

Индекс липогенеза *de novo* (DNL), или *липогенный индекс*, рассчитываемый как отношение концентраций пальмитиновой и линолевой кислот (C16:0/C18:2n-6) был предложен Hudgins L. C. et al. еще в 1996 году и впоследствии неоднократно использовался как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях (преимущественно кардиологического, эндокринологического и гепатологического профиля) [180, 181]. В настоящем исследовании липогенный индекс (#55/#63) был значимо повышен у пациентов с язвенным колитом по сравнению как со здоровыми добровольцами (3,53 vs. 1,51, $p = 0,003$; U-критерий Манна – Уитни), так и с больными целиакией (3,53 vs. 2,45, $p = 0,039$; U-критерий Манна – Уитни). Повышение липогенеза может быть обусловлено различными причинами, в том числе хронической гипоксией, сопровождающей хроническое воспаление,

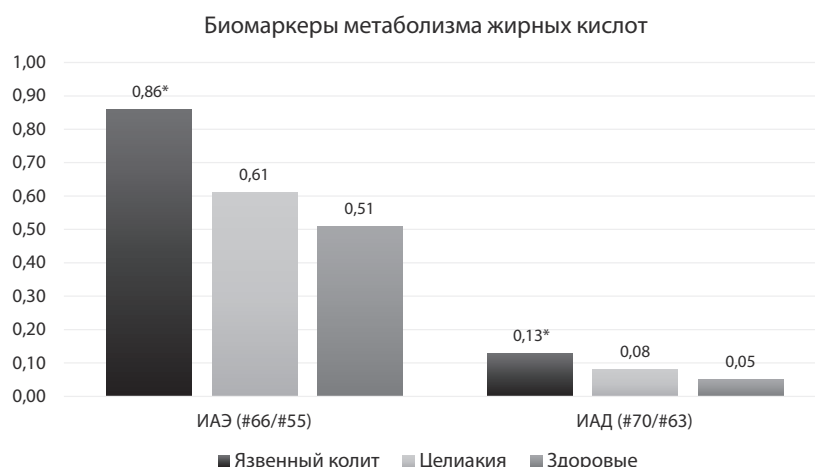


Рисунок 5. Биомаркеры метаболизма жирных кислот. ИАЭ – индекс активности элонгазы; ИАД – индекс активности Δ6-десатуразы–элонгазы–Δ5-десатуразы. * – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни, точные значения p указаны в тексте статьи).

нарушениями микробиоты, уменьшением доли полиненасыщенных жирных кислот в пище [113, 182–185]. Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами исследования, выявившего повышенную экспрессию синтазы жирных кислот (пальмитатсинтаза, СЖК, FAS) в слизистой оболочке толстой кишки у пациентов с язвенным колитом [186]. Высокие уровни СЖК, ключевого фермента липогенеза *de novo*, отвечающего преимущественно за продукцию пальмитиновой кислоты, характерны также для опухолевых тканей различного генеза, в том числе для рака толстой кишки. В настоящее время СЖК рассматривается как потенциальный ранний биомаркер колоректального рака [187], а ее ингибирование как перспективный вариант терапевтического вмешательства не только при раке различных локализаций и метаболических расстройствах, таких как ожирение, диабет 2-го типа и НАЖБП, но и при воспалительных заболеваниях кишечника [188, 189].

Другой биомаркер, называемый *индексом активности элонгазы* (ИАЭ) ELOVL6 и рассчитываемый как отношение концентраций стеариновой и пальмитиновой кислот (C18:0/C16:0), является показателем интенсивности биосинтеза жирных кислот [113, 172]. В настоящем исследовании ИАЭ (#66/#55) у пациентов с язвенным колитом был значимо повышен (по сравнению со здоровыми добровольцами) (0,86 vs. 0,51, $p = 0,021$; U-критерий Манна – Уитни). Значимое увеличение концентрации стеариновой кислоты у больных целиакией также может отражать ее повышенную продукцию путем элонгации пальмитиновой кислоты. Индекс активности элонгазы у больных целиакией имел тенденцию к повышению, однако различия не являлись статистически значимыми ($p = 0,067$; U-критерий Манна – Уитни). У пациентов же объединенной группы больных наблюдалось значимое повышение ИАЭ (0,72 vs. 0,51, $p = 0,018$; U-критерий Манна – Уитни).

У пациентов с язвенным колитом (по сравнению со здоровыми лицами) также было значимо повышено отношение уровня насыщенной стеариновой кислоты к уровню незаменимой ω-6-полиненасыщенной линолевой кислоты (C18:0/C18:2n-6, #66/#63) (2,88 vs. 0,70, $p = 0,002$; U-критерий Манна – Уитни). Повышение данного отношения, как и повышение отношения концентраций стеариновой

и олеиновой (ω-9-МНЖК) кислот, выявленные ранее в экспериментальных исследованиях, рассматриваются сегодня как возможные биомаркеры воспаления в кишечнике [190].

Индекс активности Δ6-десатуразы–элонгазы–Δ5-десатуразы (ИАД), отражающий биотрансформацию эссенциальной линолевой кислоты в длинноцепочечные ω-6-ПНЖК, также был значимо повышен только у больных язвенным колитом (по сравнению со здоровыми добровольцами) (0,13 vs. 0,05, $p = 0,021$; U-критерий Манна – Уитни). Данный индекс, рассчитываемый как отношение концентраций арахидоновой и линолевой кислот (C20:4n-6/C18:2n-6, #70/#63), можно считать косвенным маркером «общей» десатуразной активности. Показано, что повышенные значения индекса активности десатураз связаны с воспалением, маркером которого является повышенная концентрация С-реактивного белка, определяемого высокочувствительным методом (hsCRP), и ИБС [174]. Высказано предположение, что повышение активности десатураз способствует увеличению биодоступности арахидоновой кислоты и ее провоспалительных метаболитов (эйкозаноидов) [191], уровень которых в слизистой оболочке толстой кишки при активном язвенном колите значимо повышен и положительно коррелирует с гистологической тяжестью воспаления [169]. Повышенное отношение содержания арахидоновой кислоты к содержанию линолевой кислоты в опухолевой ткани было выявлено и у пациентов с колоректальным раком [192].

Для оценки направленности биотрансформации линолевой кислоты нами был предложен новый индекс, рассчитываемый как отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозодиеновой кислоты (C20:4n-6/C20:2n-6, #70/#71) и отражающий баланс между провоспалительными и противовоспалительными компонентами пула ω-6-ПНЖК, производными линолевой кислоты. Данный индекс, значения которого были повышены как в группе пациентов с язвенным колитом (6,88 vs. 3,28, $p = 0,014$; U-критерий Манна – Уитни), так и в группе больных целиакией (4,84 vs. 3,28, $p = 0,033$; U-критерий Манна – Уитни), на наш взгляд, может рассматриваться как потенциальный биомаркер хронического воспаления, что подтверждается результатами ROC-анализа (таблица 2).

Гидроксикарбоновые кислоты

К гидроксикарбоновым кислотам (гидроксикислотам, или оксикислотам) относятся карбоновые кислоты, содержащие одновременно карбоксильную ($-\text{COOH}$) и гидроксильную ($-\text{OH}$) группы, например, гликолевая кислота (гидроксиуксусная кислота), молочная кислота (2-гидроксипропановая кислота), 2-гидроксимасляная кислота (2-гидроксипропановая кислота), 2-гидроксиизомасляная кислота, 3-гидроксимасляная кислота (3-гидроксипропановая кислота), 3-гидроксиизомасляная кислота, 2-гидроксиизовалериановая кислота, 3-гидрокси-3-метилмасляная кислота и др.

Из гидроксикарбоновых кислот нам удалось идентифицировать в сыворотке крови гликолевую (#06), молочную (#04), 3-гидроксипропионовую (#12), 2-гидроксимасляную (#10), 3-гидроксиизомасляную (#13), 2-гидроксиизовалериановую (#14), парагидроксибензилуксусную (#39) и 3-гидроксикоричную

(#41) кислоты. Поскольку парагидроксибензилуксусная и 3-гидроксикоричная кислоты относятся к так называемым гидроксифенилкарбоновым кислотам и в значительной степени проявляют свойства именно фенилкарбоновых кислот, они будут рассмотрены ниже в соответствующем разделе.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, концентрации большинства оксикислот (за исключением гликолевой и 3-гидроксипропионовой кислот) при язвенном колите были повышены по сравнению со здоровыми добровольцами, причем концентрации двух из них – 2-гидроксимасляной (#10) и 2-гидроксиизовалериановой (#14) – были значимо повышены и по сравнению с пациентами с целиакией. У пациентов с целиакией была значимо повышена концентрация 2-гидроксиизовалериановой кислоты (#14) (только по сравнению со здоровыми добровольцами).

Гликолевая кислота

Гликолевая кислота является простейшим представителем α -оксикислот, называемых также фруктовыми кислотами. Кроме гликолевой, к фруктовым кислотам относятся молочная кислота, яблочная, винная и некоторые другие. Гликолевая кислота содержится в ряде пищевых продуктов – винограде, сахарной свекле, сахарном тростнике. Показано, что гликолевая кислота присутствует и в культуральной жидкости бактерий, обладает антисептическими свойствами и, следовательно, может служить фактором антагонизма бактерий [80]. О противовоспалительных эффектах гликолевой кислоты и 3-индолуксусной кислоты бактериального происхождения (источник метаболитов – микробиота легких) сообщается и в исследовании у пациентов с эмфиземой легких, получающих азитромицин [193].

В метаболомном и метагеномном исследовании, в которое были включены 7 китайских добровольцев, была выявлена положительная корреляционная связь между уровнем противовоспалительной *Faecalibacterium prausnitzii* в кале и концентрацией гликолевой кислоты в моче [194]. В экспериментальном исследовании на мышах было показано, что измененный уровень гликолевой кислоты в сыворотке крови, обусловленный активацией материнской иммунной системы при моделировании

неврологических расстройств аутистического спектра, может быть восстановлен с помощью *Bacteroides fragilis*, представителя нормальной микробиоты человека [195].

Данных об уровне гликолевой кислоты в сыворотке крови, других биологических жидкостях и образцах тканей, полученных от пациентов с язвенным колитом или больных целиакией, в доступной научной литературе нами обнаружено не было.

В настоящем исследовании уровень гликолевой кислоты при язвенном колите был значимо ниже, чем в группе целиакии, что может косвенно свидетельствовать о возможном уменьшении бактериальной продукции гликолата, обладающего противовоспалительными свойствами, при развитии хронического воспалительного процесса в толстой кишке. Значимая разница между концентрациями гликолевой кислоты в группах язвенного колита и целиакии может отражать и различия в характере основных метаболических процессов (метаболическом паттерне) при этих заболеваниях. Так, например, связь между сывороточным уровнем гликолевой кислоты и метаболическими нарушениями у пациентов с различными типами ожирения была выявлена в метаболомном исследовании, проведенном в Тайване [196].

Молочная кислота

Существует 2 оптических изомера молочной кислоты (лактата) – L-лактат и D-лактат. L-лактат образуется в процессе нормального анаэробного метаболизма из пирувата (пировиноградной кислоты) с помощью фермента лактатдегидрогеназы, а D-лактат продуцируется многими представителями нормальной микробиоты толстой кишки [27]. Основными производителями молочной кислоты в толстой кишке человека являются *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Collinsella aerofaciens*, *Eubacterium rectale* (*Agathobacter rectalis*), *Roseburia* spp., *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Eggerthella lenta* [82, 197, 198]. Кроме того, молочную кислоту могут продуцировать некоторые виды клостридий

(например, *Clostridium perfringens* и *Clostridium sporogenes*) [82].

При язвенном колите воспаленная слизистая оболочка толстой кишки может секретировать повышенное количество L-лактата в просвет кишечника, что сопровождается увеличением концентрации этого изомера в фекалиях [199]. Повышение уровня D-лактата в крови и моче, в свою очередь, рассматривается как маркер дисбиоза кишечника и/или повышенной проницаемости кишечного барьера, в том числе при воспалительных заболеваниях кишечника [200]. Однако, по мнению некоторых авторов, уровень D-лактата все же не может рассматриваться как эффективный маркер ВЗК [201]. Повышение общей концентрации молочной кислоты

выявлено как при язвенном колите, так и при болезни Крона в активной фазе заболевания [202, 203].

Повышение концентрации молочной кислоты (прежде всего, за счет L-лактата) ранее было выявлено в исследованиях метаболизма сыворотки крови больных с онкологическими заболеваниями, что может быть объяснено так называемым эффектом Варбурга. Отто Варбург (Otto Warburg), немецкий биохимик и физиолог, впоследствии лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине (1931 г.), высказал в начале 1920 гг. гипотезу о том, что опухолевые клетки переключаются на менее эффективную метаболическую стратегию (преобладание гликолиза вне зависимости от присутствия кислорода в клетках), сопровождающуюся избыточным образованием и накоплением в тканях молочной кислоты. Переход на бескислородный способ получения энергии, согласно концепции Варбурга, приводит к автономному существованию клетки, начинающей вести себя как самостоятельный организм, стремящийся к бесконтрольному воспроизведению. Повышенный уровень лактата оказался характерным и для эндометриоза, во многом сходного с раком [204–206].

Поскольку уровень молочной кислоты в крови повышается и при других гипоксических состояниях, не обязательно связанных с раком, этот показатель рассматривается иногда и как один из возможных маркеров гипоксии [207].

У пациентов с целиакией, напротив, уровень молочной кислоты в сыворотке крови, по данным двух метаболических исследований, был значимо понижен (по сравнению со здоровыми лицами) [208, 209], причем в одном из этих исследований на фоне безглютеновой диеты (в течение 12 месяцев) наблюдалось его восстановление [208].

В настоящем исследовании уровень молочной кислоты был значимо повышен (по сравнению с группой здоровых добровольцев) только

у пациентов с язвенным колитом, что может быть связано как с повышением продукции D-лактата в результате нарушений микробиоценоза толстой кишки при воспалении, так и со снижением его бактериальной утилизации. Дело в том, что лактат используется в качестве косубстрата для микробной продукции других низкомолекулярных соединений, таких как бутират, пропионат и сероводород, что предотвращает в физиологических условиях гиперпродукцию/накопление молочной кислоты в кишечнике [210]. Лактат-утилизирующие бактерии представлены некоторыми бутират-продуцирующими бактериями (*Eubacterium hallii*, *Anaerostipes* spp.), пропионат-продуцирующими бактериями (*Veillonella* spp., *Coprococcus catus*), а также сульфат-редуцирующими бактериями (*Desulfovibrio piger*) [211–213]. Статистически значимое уменьшение численности пула бутират-продуцирующих бактерий у пациентов с язвенным колитом [21] может привести к нарушению утилизации молочной кислоты и ее накоплению, а также обусловить повышенную продукцию сероводорода сульфат-редуцирующими бактериями, использующими лактат [212]. Сероводород (сульфид), в свою очередь, может подавлять β -окисление масляной кислоты, приводя к существенному снижению уровня АТФ в колоноцитах [214]. Возможная роль сероводорода микробного происхождения в этиопатогенезе язвенного колита и колоректального рака широко обсуждается в научной литературе, начиная уже с 90-х годов прошлого столетия [215–220].

Гиперсекреция L-лактата слизистой оболочкой (возможный результат усиления процессов гликолиза), отмечаемая при воспалительном процессе в толстой кишке, также может вносить вклад в увеличение концентрации молочной кислоты в сыворотке крови, особенно учитывая повышенную проницаемость кишечного барьера.

3-Гидроксипропионовая кислота

3-гидроксипропионовая кислота (3-ГПК) является одним из промежуточных метаболитов пути метаболизма пропионовой кислоты. Повышенная экскреция 3-ГПК с мочой встречается при пропионовой и метилмалоновой ацидемиях – редких генетически гетерогенных наследственных заболеваний из группы органических ацидемий [221, 222].

Кроме того, в научной литературе также приводятся данные о нескольких случаях повышения уровня 3-ГПК в моче у детей, связанных с нарушениями бактериального метаболизма, в том числе при синдроме короткой кишки [223, 224]. В одном из таких случаев у мальчика 8 лет с синдромом короткой кишки развился метаболический ацидоз, а профиль органических кислот в моче характеризовался повышенными концентрациями не только 3-гидроксипропионовой кислоты, но и других

кислот микробного происхождения – D-молочной, 3-гидроксиизомасляной, 2-гидроксиизокапроновой, фенилмолочной, парагидроксифенилуксусной и парагидроксифенилмолочной. Анализ микробиоты кишечника выявил значительное увеличение количества *Lactobacillus* spp. Применение ванкомицина позволило предотвратить последующие эпизоды ацидоза [223].

По данным японского метаболического исследования, уровень 3-ГПК в сыворотке крови был значимо повышен (по сравнению со здоровыми лицами) у пациентов с раком желудка и колоректальным раком [225].

В настоящем исследовании уровень 3-гидроксипропионовой кислоты (#12) в сыворотке крови статистически значимо не различался между группами.

Группа 2-гидроксимасляной кислоты

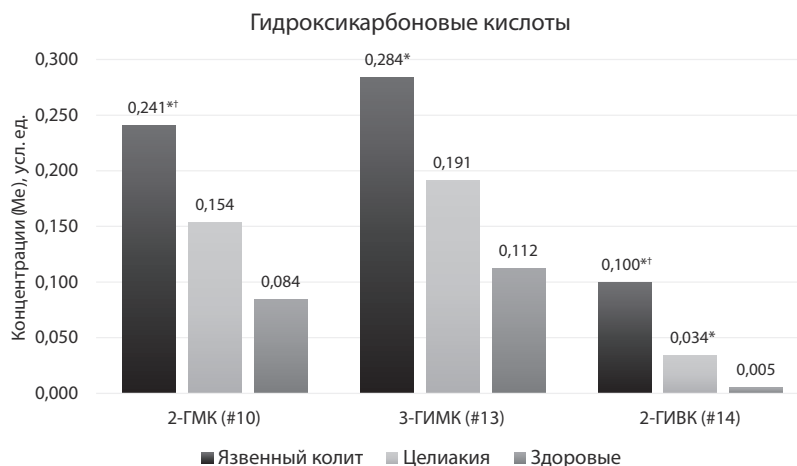
В группу 2-гидроксимасляной кислоты (2-ГМК) условно могут быть включены несколько гидроксикислот, связанных общими метаболическими путями, – собственно 2-гидроксимасляная кислота, 3-гидроксимасляная кислота (3-ГМК), 2-гидроксиизомасляная

кислота (2-ГИМК), 3-гидроксиизомасляная кислота (3-ГИМК), 2-гидроксиизовалериановая кислота (2-ГИВК), 3-гидроксиизовалериановая кислота (3-ГИВК), 3-гидрокси-3-метилмасляная кислота (3-ГММК, 3-НМВА) и, возможно, некоторые другие

Рисунок 6.

Концентрации (Ме) некоторых гидроксикарбоновых кислот из группы 2-ГМК в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев по данным ГХ–МС (в условных единицах). 2-ГМК – 2-гидроксиимасляная кислота, 3-ГИМК – 3-гидроксиимасляная кислота, 2-ГИВК – 2-гидроксиизовалериановая кислота.

* – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами;
† – различия значимы по сравнению с другим заболеванием ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни, точные значения p приведены в таблице 1).



соединения, например, 2-аминомасляная кислота (2-аминобутановая кислота, α -аминомасляная кислота, бутирин, гомоаланин), не являющаяся собственно гидроксикислотой, но способная конвертироваться

в 2-ГМК [226–228]. В настоящем исследовании нам удалось идентифицировать 3 соединения данной группы – 2-ГМК (#10), 3-ГИМК (#13) и 2-ГИВК (#14) (рис. 6).

2-гидроксиимасляная кислота

2-гидроксиимасляная кислота образуется преимущественно в печени в процессе катаболизма L-треонина, а также синтеза антиоксиданта глутатиона. Помимо треонина, источником 2-ГМК могут служить и другие аминокислоты, например, метионин и гомосерин [226]. В условиях окислительного стресса или усиленной детоксикации в печени гидрофобных токсичных соединений (ксенобиотиков), а также метилглиоксали скорость синтеза глутатиона резко возрастает, что может привести к повышенной продукции 2-ГМК как промежуточного продукта метаболизма [226, 227, 229]. Повышение уровня 2-ГМК в крови может также встречаться при различных метаболических нарушениях (молочнокислый ацидоз, кетоацидоз) [79, 226].

Уровень 2-гидроксиимасляной кислоты в плазме крови значимо повышается у пациентов с шизофренией (по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы), а также является независимым предиктором клинической депрессии (большого депрессивного расстройства), что, по мнению авторов, может быть связано с развитием окислительного стресса при этих заболеваниях [230].

Исследования последних лет показали, что повышенная концентрация 2-гидроксиимасляной кислоты может отражать ранние признаки резистентности к инсулину, а также служить независимым предиктором развития нарушения толерантности к глюкозе (предиабета) [231, 232]. В перекрестном клиническом исследовании, включавшем 217 пациентов с повышенным риском развития диабета, было показано, что определение уровня 2-ГМК в сыворотке крови натощак может служить скрининг-тестом для раннего выявления субклинической гипергликемии, дисфункции β -клеток поджелудочной железы и повышенного риска развития сахарного диабета 2-го типа [233].

2-гидроксиимасляная кислота может иметь и бактериальное происхождение, в частности, ее

продуцируют некоторые виды клостридий (например, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*) [82].

Повышение уровня 2-ГМК может наблюдаться при инфекционных заболеваниях. Увеличенные концентрации гидроксикислот, таких как 2-ГМК, 2-гидроксиизовалериановая и молочная кислоты, а также 2-метилглутаровой кислоты, креатинина и глюкозы были связаны с септическим шоком и предложены авторами в качестве биомаркеров неонатального сепсиса [234]. Повышенный уровень α -гидроксибутиратдегидрогеназы, фермента, катализирующего редукцию α -кетомасляной (2-оксомасляной) кислоты в 2-гидроксиимасляную кислоту, ранее был выявлен в сыворотке крови детей, больных корью [235]. В экспериментальном исследовании на мышах было показано резкое повышение сывороточных концентраций 2-ГМК, 3-ГМК, ацетона, изомасляной кислоты и креатина у мышей, инфицированных *Staphylococcus aureus*. Кроме того, была выявлена положительная связь между уровнями 2-ГМК, ацетона, формиата и креатина и интерлейкином-6, одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления [236].

При колоректальном раке концентрация 2-ГМК в сыворотке крови была значимо повышена в двух исследованиях [237, 238], в последнем из которых авторы пришли к выводу, что в случае рака 2-гидроксиимасляная кислота может синтезироваться с помощью α -гидроксибутиратдегидрогеназы (но не лактатдегидрогеназы), либо секретироваться клетками [238]. По результатам метаболического исследования, 2-ГМК (наряду с триптофаном и глутамином) была включена в высокоинформативную модель сывороточных биомаркеров гепатоцеллюлярной карциномы (диагностическая точность модели по данным анализа ROC-кривых составила 0,97–0,99) [239]. Повышенный уровень 2-ГМК, как и других гидроксикислот (3-ГМК, лактат), в сыворотке крови, а также повышенная экскреция 2-ГМК с мочой были выявлены и у больных

эндометриозом, сходным, как уже отмечалось, по ряду патофизиологических и клинических особенностей с раком [206, 240].

Данные о концентрациях гидроксикислот, относящихся к группе 2-гидроксималяной кислоты, и их изменениях при воспалительных заболеваниях

3-гидроксиизомасляная кислота

3-гидроксиизомасляная кислота является промежуточным продуктом метаболизма валина и может служить субстратом для глюконеогенеза в печени и канальцах коркового слоя почек [242]. Накопление 3-гидроксиизомасляной кислоты в гепатоцитах может наблюдаться при ингибировании этанолом синтеза глюкозы из α -кетонизовалериановой кислоты, интермедиатом катаболизма которой в процессе деградации валина является 3-ГИМК [243]. Стоит отметить, что повышенная экскреция с мочой 3-гидроксиизомасляной, 3-гидроксиизовалериановой, 2-гидроксималяной, а также дикарбоновых кислот (особенно их 3-гидрокси-производных с длиной цепи не более C14) часто сопровождает состояния кетонемии/кетонурии, характеризующиеся повышенным образованием и экскрецией кетонных тел, таких как 3-гидроксималяная и ацетоуксусная кислоты [79, 244]. В связи с этим, некоторые авторы относят 3-ГИМК, 3-ГИВК и 2-ГМК к так называемым кетометаболитам, которые, вероятно, могут служить косвенными биомаркерами кетогенеза [79, 245].

Повышенная экскреция 3-ГИМК с мочой наблюдается при редком (орфанном) заболевании – 3-гидроксиизомасляной ацидурии [246, 247]. 3-ГИМК при этом заболевании, характеризующемся, в том числе, развитием молочнокислого ацидоза на фоне митохондриальной дисфункции, по-видимому, специфически ингибирует функцию комплексов дыхательной цепи и активность митохондриальной креатинкиназы, способствуя развитию нейродегенеративных изменений [248]. Описан также

кишечника в научной литературе практически не представлены. Так, повышение уровня 2-ГМК в крови (как в сыворотке, так и в плазме) у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона было выявлено только в одном доступном нам исследовании [241].

случай повышения концентрации 3-ГИМК в моче (наряду с повышением концентраций ряда других гидроксикислот и фенилкарбоновых кислот микробного происхождения) при синдроме короткой кишки с развитием метаболического ацидоза на фоне резкого увеличения количества лактобацилл в кишечнике [223]. В исследованиях, посвященных аутоиммунным заболеваниям, повышенные уровни 3-ГИМК были выявлены у больных рассеянным склерозом с активными бляшками (в цереброспинальной жидкости) [249], а также у пациентов с ревматоидным артритом (в сыворотке крови), причем у последних высокая концентрация данного метаболита в крови сохранялась даже через 3 месяца индукционной терапии препаратами моноклональных антител к ФНО- α [245]. Уровень 3-ГИМК в сыворотке крови был значимо повышен у пациентов с раком желудка и раком толстой кишки (по сравнению со здоровыми лицами) [225].

В доступной нам научной литературе мы не нашли данных об изменении уровня 3-гидроксиизомасляной кислоты у больных язвенным колитом или целиакией, однако в экспериментальных исследованиях на животных было показано, что повышенная продукция 3-ГИМК (как конечного продукта катаболизма изомасляной кислоты) в колоноцитах может наблюдаться в условиях уменьшения биодоступности масляной кислоты или нарушения ее окисления. Изомасляная кислота (изобутират) в таких случаях принимает на себя функцию энергоснабжения колоноцитов, частично возмещая дефицит бутирата [250].

2-гидроксиизовалериановая кислота

2-гидроксиизовалериановая кислота является промежуточным метаболитом, участвующим в процессах кетогенеза и метаболизма валина, лейцина и изолейцина [251], и выявляется в моче у пациентов с некоторыми органическими ацидемиями/ацидуриями, такими, например, как лейциноз (разветвленнопочечная кетонурия, болезнь кленового сиропа), а также в случаях молочнокислого ацидоза и кетоацидоза [79, 252]. Повышение уровня 2-ГИВК и других оксикислот (2-ГМК, молочная кислота) может быть признаком септического шока при неонатальном сепсисе [234]. В то же время, при рассеянном склерозе было выявлено значимое снижение концентраций 2-ГИВК и 3-гидроксималяной кислоты в цереброспинальной жидкости, что, по мнению авторов, отражало (наряду с другими изменениями метаболизма) нарушения в энергетическом метаболизме и метаболизме фосфолипидов [253].

Не исключено и микробное происхождение 2-гидроксиизовалериановой кислоты, как и других α -гидрокси(изо)кислот [254]. Так, например, способностью вырабатывать 2-ГИВК обладают

Listeria spp. и *Eggerthella lenta*, которые могут служить причиной клинически выраженной бактериемии у больных ВЗК [82, 255–259]. Бактериemia *Eggerthella lenta*, основного продуцента 2-ГИВК, при этом ассоциируется с выраженным повреждением кишечного барьера, например, у пациентов с онкологическими заболеваниями [260].

Повышение концентрации 2-ГИВК в вагинальной жидкости было выявлено при бактериальном вагинозе и ассоциировалось с повышенным бактериальным разнообразием и клиническими проявлениями заболевания. Уровень 2-ГИВК при этом коррелировал с *Dialister*, *Prevotella* и *Gardnerella* ($r_s = 0,55, 0,48$ и $0,47$ соответственно; $p < 0,001$) [261].

В настоящем исследовании у пациентов с язвенным колитом концентрации всех трех выявленных оксикислот из группы 2-гидроксималяной кислоты – 2-ГМК (#10), 3-ГИМК (#13) и 2-ГИВК (#14) – были значимо повышены по сравнению с группой здоровых добровольцев, а концентрации 2-ГМК (#10) и 2-ГИВК (#14) были значимо повышены и по сравнению с пациентами

Рисунок 7.

Концентрации (Ме) дикарбоновых кислот в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев по данным ГХ–МС (в условных единицах)

* – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни, точные значения p приведены в таблице 1).



с целиакией, что может свидетельствовать о вероятном участии этих низкомолекулярных соединений в патогенезе язвенного колита. Повышение уровня оксикислот из группы 2-ГМК у больных язвенным колитом, на наш взгляд, может быть обусловлено сразу несколькими причинами: во-первых, – развитием окислительного стресса, одного из ведущих патофизиологических факторов ВЗК [262, 263], во-вторых, с учетом того, что все 3 оксикислоты являются кетометаболитами, – повышенным кетогенезом, отражающим потребность организма в дополнительных источниках энергии в условиях хронического воспаления, и, в-третьих, – возможной повышенной микробной продукцией оксикислот. В пользу гипотезы о повышении кетогенеза при ВЗК свидетельствуют и результаты китайского метаболомного исследования, показавшего, что у пациентов с активным язвенным колитом по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы уже на ранней стадии заболевания отмечается значимое повышение сывороточного уровня 3-гидроксимасляной кислоты, основного кетонowego тела, при одновременном снижении уровня липидов [264]. Повышение концентрации 3-ГМК в сыворотке крови у пациентов с активным ВЗК (ЯК или БК) было подтверждено и в недавнем польском метаболомном исследовании [203]. Принимая во внимание выявленное снижение уровня одной из основных бутират-продуцирующих бактерий *Faecalibacterium prausnitzii* у пациентов с язвенным колитом и возможное развитие дефицита масляной кислоты в толстой

кишке, не исключается вовлечение в процессы энергоснабжения колоноцитов изомасляной кислоты, образующейся в процессе ферментации белков [100, 250]. Косвенным подтверждением повышенного катаболизма изомасляной кислоты может служить увеличение продукции 3-гидроксиизомасляной кислоты и выявленное нами значимое повышение ее уровня в сыворотке крови при язвенном колите (в 2,5 раза по сравнению со здоровыми лицами).

Выявленное повышение уровня 2-гидроксиизовалериановой кислоты (#14) у пациентов с целиакией (по сравнению со здоровыми добровольцами), с определенной долей вероятности, может быть следствием увеличенной бактериальной продукции этого метаболита в результате нарушений микробиоценоза кишечника. В пользу данной гипотезы свидетельствуют ранее полученные данные о возможной связи между бактериями рода *Prevotella* (потенциальными продуцентами 2-ГИВК) и целиакией [265–267]. Не стоит отвергать и вариант повышения концентрации 2-ГИВК как проявления признаков кетогенеза, поскольку повышение уровня 3-гидроксимасляной кислоты и снижение уровня липидов в сыворотке крови ранее было выявлено у больных целиакией [208].

Наличие значимой разницы в концентрациях всех 3 кислот, относящихся к группе 2-гидроксимасляной кислоты, между объединенной группой больных и группой здоровых добровольцев также подтверждает правомерность предположения о возможном усилении процессов кетогенеза при хроническом воспалении в кишечнике.

Дикарбоновые кислоты

Дикарбоновые кислоты, или двухосновные карбоновые кислоты, – это карбоновые кислоты, содержащие две карбоксильные группы ($-\text{COOH}$), с общей формулой $\text{HOOC}-\text{R}-\text{COOH}$, где R – любой двухвалентный органический радикал.

Из дикарбоновых кислот мы идентифицировали в сыворотке крови янтарную (#25) и фумаровую (#28) кислоты (рис. 7), которые, наряду с щавелевоуксусной, лимонной и некоторыми другими кислотами, являются интермедиатами в цикле трикарбоновых

кислот (цикл Кребса, цикл лимонной кислоты), служащем универсальным конечным путем окисления углеводов, липидов и белков и играющем ключевую роль в процессах глюконеогенеза, липогенеза и катаболизма азота [268, 269]. Фумаровая кислота также является одним из побочных продуктов цикла мочевины (цикла Кребса-Хензелейта), реакции которого протекают в клетках печени и обеспечивают преобразование азотсодержащих продуктов распада в мочевину [270].

Янтарная кислота

Основными бактериальными продуцентами янтарной кислоты (сукцината) в организме человека являются *Bacteroides* spp. (*B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. cellulosilyticus*, *B. caccae*, *B. merdae*, *B. stercoris* и др.) (семейство Bacteroidaceae, тип Bacteroidetes) [271, 272], а также *Eggerthella lenta* (семейство Coriobacteriaceae, тип Actinobacteria), ранее известная как *Eubacterium lentum* [82], которая в ряде случаев может быть причиной клинически выраженной бактериемии, в том числе у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [256, 257].

Из других представителей микробиоценоза кишечника человека янтарную кислоту способны производить *Paraprevotella clara* и *Paraprevotella xylaniphila* (семейство Prevotellaceae, тип Bacteroidetes) [273], ацетогенная бактерия *Marvinbryantia formatexigens* (семейство Lachnospiraceae, тип Firmicutes), ранее известная, как *Bryantella formatexigens* [274], *Ruminococcus champanellensis* (семейство Ruminococcaceae, тип Firmicutes) [275], а также *Enterococcus faecalis* (семейство Enterococcaceae, тип Firmicutes) [276, 277].

Некоторые микроорганизмы, например, *Phascolarctobacterium succinatutens*, недавно выделенная из фекалий здорового человека (семейство Acidaminococcaceae, тип Firmicutes), могут, в свою очередь, утилизировать янтарную кислоту, производимую другими кишечными бактериями, конвертируя ее в пропионовую кислоту путем декарбоксилирования (особенно в присутствии *Paraprevotella*) [278]. Исследования показали, что при ВЗК (как при ЯК, так и при БК) количество *Phascolarctobacterium* уменьшается, что может приводить к накоплению янтарной кислоты и соответственно к снижению уровня пропионата [279].

В здоровом кишечнике человека янтарная и молочная кислоты являются промежуточными продуктами ферментации и не аккумулируются в значительных количествах, служа косубстратами для продукции конечных продуктов, таких как пропионовая и масляная кислоты, в рамках метаболического взаимодействия между микроорганизмами (кроссфидинг) [210, 280–282]. При нарушении процессов бактериальной ферментации (например, при антибиотикотерапии или расстройствах моторной функции кишечника) уровень сукцината в толстой кишке может увеличиваться, способствуя развитию воспаления и даже инфекции *Clostridium difficile* [283, 284]. Контроль уровня продуцируемой янтарной кислоты, по всей видимости, является одним из важнейших механизмов, с помощью которых здоровая микробиота обеспечивает устойчивость к патогенам и патобионтам [285].

Продукция янтарной кислоты представителями микробиоты кишечника рассматривается в настоящее время как потенциальный фактор их вирулентности. Так, например, было показано, что *Bacteroides fragilis* могут вырабатывать янтарную кислоту в количествах, способных ингибировать так называемый респираторный (окислительный) взрыв в нейтрофильных лейкоцитах за счет

снижения внутриклеточного pH [286]. В исследовании Abdul-Majid K.B. et al. янтарная кислота бактериального происхождения подавляла бактерицидную активность нейтрофилов [287].

Роль янтарной кислоты в повреждении слизистой оболочки при экспериментальном колите у крыс была показана Fukui S. et al. еще в 1997 году [288]. Введение янтарной кислоты при этом сопровождалось снижением кровотока в слизистой оболочке толстой кишки и инфильтрацией полиморфноядерных клеток, способных генерировать свободные радикалы кислорода (супероксидные радикалы), играющие значимую роль в развитии воспалительного процесса. В другом исследовании было подтверждено, что янтарная кислота, продуцируемая представителями семейства Bacteroidaceae (например, *Bacteroides caccae*), может выступать в роли ульцерогенного фактора при экспериментальном колите у мышей, вызванном декстраном сульфата натрия (DSS-колит). Концентрации янтарной кислоты в содержимом слепой кишки и фекалиях мышей с DSS-колитом при этом были повышены, как и уровень Bacteroidaceae (особенно *B. caccae*) [289]. Shiomi Y. et al., в свою очередь, выявили достоверное снижение уровня янтарной кислоты в ткани толстой кишки у мышей с экспериментальным DSS-колитом, что, по мнению авторов, может быть связано с повреждением слизистой оболочки кишечника янтарной кислотой [290]. Колонизация безмикробных мышей (гнотобионтов) микробиотой больных язвенным колитом (UC hGB) также привела к повышению уровня янтарной кислоты в просвете толстой кишки, как по сравнению с безмикробными мышами, не подвергавшимися колонизации (GB), так и по сравнению с мышами, колонизированными микробиотой, полученной от здоровых добровольцев (HC hGB). Экспрессия генов, связанных с метаболизмом (утилизацией) янтарной кислоты (гены пути метаболизма пропионата), у UC hGB-мышей была значимо снижена [291].

Данные последних исследований свидетельствуют о том, что янтарная кислота микробного происхождения, источником которой могут служить грамотрицательные кишечные бактерии, является провоспалительной сигнальной молекулой, индуцирующей интерлейкин-1 β при посредничестве протеина HIF-1 α – транскрипционного фактора 1 α , индуцируемого гипоксией [292]. Избыточная концентрация сукцината в кишечнике может приводить к реализации целого ряда патофизиологических эффектов – от уже упомянутой индукции провоспалительного интерлейкина 1 β до активации экспрессии генов вирулентности условно патогенных и патогенных бактерий (через фактор транскрипции Cga), способствуя развитию хронического воспаления [292–294]. Кроме того, сукцинат является лигандом провоспалительных рецепторов GPR 91 (SUNC1, succinate receptor 1). Повышение микробной продукции янтарной кислоты может привести к существенному повышению концентрации сукцината в крови и последующей активации рецепторов GPR 91, имеющей

патогенетическое значение в развитии реноваскулярной гипертензии, связанной, в свою очередь, с почечной недостаточностью, сахарным диабетом и атеросклерозом [295, 296].

В японском экспериментальном исследовании было показано, что в отличие от короткоцепочечных жирных кислот, стимулирующих пролиферацию эпителиальных клеток кишечника, янтарная кислота ингибирует пролиферацию колоноцитов и уменьшает размер крипт [297]. С учетом имеющихся данных о накоплении янтарной кислоты в толстой кишке у больных язвенным колитом [298], авторы предположили, что ингибирующий эффект янтарной кислоты в отношении пролиферации эпителия толстой кишки может быть непосредственно связан как с развитием язвенного колита, так и с ухудшением течения этого заболевания.

Примечательно, что назначение пребиотических продуктов (например, на основе проросшего ячменя) в экспериментальных исследованиях на животных (на модели рака толстой кишки и при экспериментальном колите) приводит к достоверному снижению продукции янтарной кислоты и повышению продукции таких КЖК, как масляная, обладающих противовоспалительным действием. По мнению авторов, снижение продукции сукцината связано с изменениями микробиоценоза толстой кишки под действием пребиотика, в частности, с уменьшением количества *Bacteroides* spp., вырабатывающих янтарную кислоту [299, 300]. Ранее проведенные клинические исследования показали, что назначение пребиотиков на основе проросшего ячменя достоверно снижает индекс клинической активности у пациентов с активным язвенным колитом и пролонгирует ремиссию при язвенном колите [301, 302]. Диета с высоким содержанием жира, в свою очередь, уменьшает продукцию КЖК, повышает уровень янтарной кислоты и усиливает воспаление, как было показано в экспериментальных исследованиях на животных [303].

Данные о концентрации янтарной кислоты в биологических жидкостях и тканях организма человека и млекопитающих при воспалительных заболеваниях кишечника и колоректальном раке противоречивы. Так, по некоторым данным, концентрация янтарной кислоты в сыворотке крови при ВЗК может повышаться, например, при болезни Крона, понижаться, например, при язвенном колите, либо не отличаться от нормальных значений [34, 203, 241]. Повышенный уровень янтарной кислоты в сыворотке крови недавно был выявлен у пациентов с прогрессирующим колоректальным раком, что, по мнению авторов, свидетельствует о наличии митохондриальной дисфункции, связанной с клеточной гипоксией [304]. При язвенном колите повышается уровень янтарной кислоты в просвете толстой кишки, однако при этом может снижаться ее содержание в колоректальной ткани [34, 298], обусловленное, вероятно, повреждением слизистого барьера кишечника [27]. В других исследованиях, напротив, выявлено накопление янтарной кислоты в опухолевой ткани, что, по мнению авторов, свидетельствует о наличии гипоксии опухолевых клеток при КРР [305]. У пациентов с ВЗК и больных колоректальным раком выявлено

снижение концентрации янтарной кислоты в моче [241, 306]. При экспериментальном колите у мышей уровень янтарной кислоты в сыворотке крови и колоректальной ткани (наряду с уровнями индолуксусной и глутаминовой кислот, а также глутамина) был тесно связан с активностью воспалительного процесса [290].

Данных о содержании янтарной кислоты в сыворотке крови, других биологических жидкостях и образцах тканей, полученных от больных целиакией в доступной нам научной литературе обнаружено не было.

По мнению некоторых исследователей, определение концентрации янтарной кислоты в крови и других биологических жидкостях может иметь клиническое значение. Так, уровень янтарной кислоты (как и уровень молочной кислоты) в крови повышается при гипоксических состояниях, что дает возможность рассматривать этот показатель как один из возможных маркеров гипоксии [207]. Получены убедительные данные о нарушении митохондриального механизма окисления янтарной кислоты до фумаровой при гипоксии, сопровождающей септические состояния, синдром системного воспалительного ответа (ССВО, SIRS), ишемически-реперфузионный синдром (например, при инсульте, инфаркта миокарда), результатом чего является развитие обратного процесса – восстановления фумаровой кислоты до янтарной с аккумулярованием последней и последующей генерацией активных форм кислорода (АФК, ROS) [307–309].

В настоящем исследовании было выявлено значимое повышение уровня янтарной кислоты (#25) в сыворотке крови, как при целиакии, так и при язвенном колите, по сравнению с группой здоровых добровольцев ($p = 0,022$ и $p = 0,010$ соответственно) (рис. 7). Сравнение объединенной группы больных и группы здоровых добровольцев также выявило значимое повышение уровня янтарной кислоты в сыворотке крови пациентов с тем или другим заболеванием по сравнению со здоровыми добровольцами ($p = 0,005$). По нашему мнению, значимое повышение концентрации янтарной кислоты в сыворотке крови может указывать на возможную роль янтарной кислоты в развитии и поддержании воспалительного процесса, как в толстой, так и в тонкой кишке.

Механизмы, приводящие к повышению уровня янтарной кислоты в сыворотке крови при язвенном колите и целиакии, могут быть связаны как с увеличением микробной продукции этого соединения в результате нарушения метаболической активности рассмотренных выше сукцинат-продуцирующих бактерий и сукцинат-утилизирующих бактерий, так и с нарушением эндогенного окисления янтарной кислоты, характерного для воспалительных и гипоксических состояний различной этиологии.

В пользу «микробной» гипотезы свидетельствуют выявленные нами значимые отрицательные корреляции между уровнями представителей пребиотических бактерий – *Bifidobacterium* spp. и *Faecalibacterium prausnitzii* в кале и концентрацией янтарной кислоты в сыворотке крови ($r_s = -0,343$ [$p = 0,026$] и $r_s = -0,430$ [$p = 0,005$] соответственно).

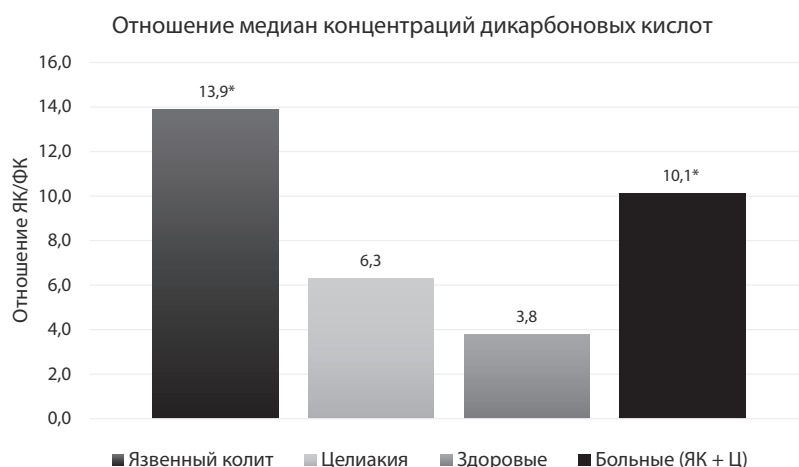


Рисунок 8.

Отношение медиан концентраций дикарбоновых кислот (ЯК/ФК) в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев. ЯК – янтарная кислота, ФК – фумаровая кислота.

* – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни).

Фумаровая кислота

Фумаровая кислота – следующий за янтарной кислотой метаболит в цикле Кребса [268, 269]. Фумаровая кислота (фумарат) образуется из янтарной кислоты (сукцината) в результате окисления последней сукцинатдегидрогеназой. Далее фумаровая кислота под действием фумаратгидратазы (фумаразы, FH) гидратируется, образуя яблочную кислоту (малат).

Из бактерий кишечной микрофлоры фумаровую кислоту, так же как и янтарную, производят представители рода *Bacteroides* (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*) и вышеупомянутая *Eggerthella lenta*, однако в гораздо меньших (в десятки раз) количествах [82], поэтому, скорее всего, основным источником фумаровой кислоты в тканях и жидкостях организма являются не микроорганизмы, а эндогенные метаболические процессы (цикл Кребса и цикл Кребса-Хензелейта). Кроме того, существует реальная возможность биоконверсии фумарата в сукцинат в толстой кишке. Этой способностью обладают, например, представители рода *Bacteroides*, некоторые штаммы *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* [277, 310, 311].

При воспалительных заболеваниях кишечника (как при язвенном колите, так и при болезни Крона) уровень фумаровой кислоты в сыворотке крови повышается, а содержание ее в ткани толстой кишки у пациентов с язвенным колитом и коло-ректальным раком может как снижаться [34, 312], так и повышаться, отражая в последнем случае состояние клеточной гипоксии [305].

Данных об уровне фумаровой кислоты в сыворотке крови, других биологических жидкостях и образцах тканей, полученных от больных целиакией в доступной научной литературе обнаружено не было.

В настоящем исследовании было выявлено значимое повышение уровня фумаровой кислоты (#28) в сыворотке крови у пациентов с целиакией по сравнению с группой здоровых добровольцев ($p = 0,022$) (рис. 7). Концентрация фумаровой кислоты у больных язвенным колитом также была выше, чем в группе здоровых добровольцев, однако различия между группами не были значимыми ($p > 0,05$). Тем не менее, сравнение объединенной группы больных и группы здоровых добровольцев выявило

значимое повышение уровня фумаровой кислоты в сыворотке крови пациентов с одним или другим заболеванием по сравнению со здоровыми лицами ($p = 0,021$).

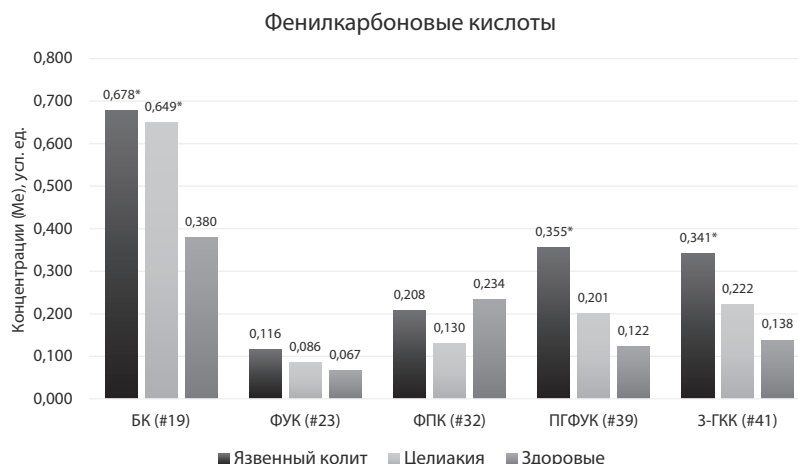
Интересно, что соотношение медиан концентраций янтарной и фумаровой кислот у больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев различалось (13,9, 6,3 и 3,8 соответственно; $p < 0,05$ только для разницы между группой больных язвенным колитом и группой здоровых добровольцев), что может быть обусловлено различной направленностью метаболических процессов в каждой из групп (рис. 8). Поскольку в цикле трикарбоновых кислот фумаровая кислота образуется из янтарной, то повышенная утилизация янтарной кислоты, сопровождающаяся снижением ее концентрации, может приводить к повышению концентрации фумаровой кислоты и наоборот. Более высокие соотношения концентраций дикарбоновых кислот, наблюдаемые в группах пациентов с язвенным колитом и целиакией, могут быть обусловлены значительным увеличением бактериальной биоконверсии фумаровой кислоты в янтарную вследствие дисбиотических изменений в толстой кишке. Повышение сыровоточного уровня фумаровой кислоты и особенно увеличение отношения медиан концентраций янтарной и фумаровой кислот в группах больных свидетельствует, на наш взгляд, в пользу гипотезы о возможной роли нарушений цикла Кребса и сопутствующей митохондриальной дисфункции, сопровождающих процессы воспаления и клеточной гипоксии, в патогенезе исследуемых заболеваний.

Выявленная значимая отрицательная корреляция между количеством пробиотической *Faecalibacterium prausnitzii* в кале и концентрацией фумаровой кислоты в сыворотке крови ($r_s = -0,429$, $p = 0,005$) косвенно подтверждает провоспалительные свойства фумарата.

В целом, обсуждая роль дикарбоновых кислот в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника и целиакии, можно заключить, что воспалительные процессы в организме (вне зависимости от их локализации) могут быть достаточно тесно связаны с интенсивностью и направленностью реакций цикла Кребса, а фармакологическая

Рисунок 9.

Концентрации (Ме) фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев по данным ГХ–МС (в условных единицах). БК – бензойная кислота, ФУК – фенилуксусная кислота, ФПК – фенилпропионовая кислота, ПГФУК – парагидроксифенилуксусная кислота, 3-ГКК – 3-гидроксикоричная кислота. * – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни, точные значения p приведены в таблице 1).



регуляция активности сукцинатдегидрогеназы и уровня сукцината рассматриваются сегодня как возможные инструменты контроля за воспалением [313, 314]. Изменение активности цикла Кребса, сопровождающееся повышением уровней фумарата, 2-оксoglутарата и цитрата в моче, выявлено в экспериментальном исследовании у мышей с DSS-колитом [315]. Метаболические изменения в биоптатах

слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, связанные с нарушением цикла Кребса (дефицит энергии), были обнаружены у пациентов с целиакией [316]. Дисфункция цикла Кребса обсуждается сегодня и как одна из возможных причин развития рака различной локализации, а янтарная и фумаровая кислоты рассматриваются как потенциальные «онкометаболиты» [269, 317–321].

Фенилкарбоновые кислоты

Основным источником фенилкарбоновых кислот (ФКК) в организме человека служат ароматические аминокислоты – фенилаланин и тирозин [322, 323].

В сыворотке крови здоровых добровольцев и пациентов с целиакией и язвенным колитом методом ГХ–МС нами были идентифицированы и включены в анализ такие ФКК, как бензойная кислота (БК, #19), фенилуксусная кислота (ФУК, #23), фенилпропионовая кислота (ФПК, #32), парагидроксифенилуксусная кислота (ПГФУК, #39), а также 3-гидроксикоричная кислота (3-ГКК, #41) (рис. 9).

Все из них могут являться микробными метаболитами. Из постоянных представителей анаэробной флоры организма человека в метаболизме ароматических аминокислот принимают участие в основном представители клостридий и бактериоидов. Так, например, *Clostridium botulinum* тип G и *Clostridium subterminale* метаболизируют фенилаланин и тирозин в фенилуксусную и парагидроксифенилуксусную кислоты [324]. *Subdoligranulum variabile* (кластер *Clostridium leptum*), не так давно выделенный из фекалий человека, также может вырабатывать парагидроксифенилуксусную кислоту [194]. Из числа клостридий, наиболее часто встречающихся в кишечнике, такие виды, как *Paraclostridium bifermentans* (семейство *Peptostreptococcaceae*), ранее известная как *Clostridium bifermentans*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* и *Paenibacillus sordellii* (семейство *Peptostreptococcaceae*) активно продуцируют фенилуксусную кислоту [325], *Intestinibacter bartlettii* (семейство *Peptostreptococcaceae*), ранее известный как *Clostridium bartlettii*, – как ФУК, так и ПГФУК [326], а *Clostridium sporogenes* – фенилпропионовую и парагидроксифенилпропионовую кислоты [82]. В свою очередь, в результате β -окисления фенилпропионовой

и парагидроксифенилпропионовой кислот в печени образуется бензойная кислота [327]. Бензойная кислота, наряду с 3-гидроксифенилпропионовой кислотой, является важнейшим микробным метаболитом кофейной кислоты [328], а также чаще встречается у пациентов с инфекцией *Clostridium difficile* и *Campylobacter jejuni* [103]. Помимо того, что бензойная кислота является промежуточным продуктом микробного метаболизма фенилаланина и образуется в кишечнике в процессе бактериальной трансформации полифенолов пищевого происхождения (фрукты, напитки), она широко используется в качестве пищевого консерванта. Употребление продуктов, содержащих бензоат натрия (пищевая добавка Е211), может приводить к значимому повышению концентраций бензойной, гиппуровой и антралиновой кислот и снижению уровня ацетилглицина в плазме крови. Изменение метаболического профиля крови, в свою очередь, может оказать влияние на метаболические процессы в организме человека, затрагивающие, например, гомеостаз глюкозы [329].

Из бактериоидов, характерных для микробиоты кишечника человека, фенилуксусную и парагидроксифенилуксусную кислоты продуцируют *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides eggerthii*, *Bacteroides ovatus* и *Parabacteroides distasonis* (ранее – *Bacteroides distasonis*). *Bacteroides vulgatus* и *Bacteroides uniformis*, в то же время, не способны вырабатывать ФУК и ПГФУК [82, 325, 326, 330].

Из представителей других родов можно упомянуть *Eubacterium hallii* (семейство *Eubacteriaceae*, тип *Firmicutes*), вырабатывающую фенилуксусную и парагидроксифенилуксусную кислоты [326], и *Peptostreptococcus anaerobius* (семейство *Clostridiaceae*, тип *Firmicutes*), способный

метаболизировать тирозин в фенилпропионовую и парагидроксифенилпропионовую кислоты [331]. Способность к продукции фенилмолочной и парагидроксифенилмолочной кислот обнаружена у *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli* (оба микроорганизма относятся к семейству Enterobacteriaceae, тип Proteobacteria) и *Staphylococcus aureus* (семейство Staphylococcaceae, тип Firmicutes) [40]. *Escherichia coli*, кроме того, участвует в метаболизме фенилпропионовой кислоты и ее 3-гидроксипроизводных [332]. Фенилпропионовую кислоту (наряду с изомасляной, изокапроновой и изовалериановой кислотами) может производить также *Eubacterium brachy* (семейство Eubacteriaceae, тип Firmicutes), анаэроб полости рта, связанный с пародонтозом и плевропульмональной инфекцией [333, 334]. Способностью вырабатывать фенилуксусную кислоту отличаются также представители рода *Mogibacterium*, анаэробных бактерий, связанных с пародонтозом, например, *Mogibacterium timidum*, (ранее известная как *Eubacterium timidum*) [333–335]. Интересно, что повышенное количество *Mogibacterium* в слизистой оболочке кишечника (наряду с *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* и *Porphyromonas*) было выявлено у пациентов с колоректальным раком [336, 337]. Кроме того, увеличение количества *Mogibacterium* (наряду с *Actinomycineae*, *Bilophila*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Proteus* и др.) в микробиоте аппендикса обнаружено у пациентов с аппендицитом (по сравнению с пациентами, имевшими неизмененный аппендикс) [338].

Стоит отметить и тот факт, что некоторые микроорганизмы могут продуцировать фенилкарбоновые кислоты не только из ароматических аминокислот, но и из других субстратов. Например, *Intestinibacter bartlettii* (ранее – *Clostridium bartlettii* [*Clostridium* cluster XI]) способен вырабатывать фенилуксусную кислоту, утилизируя глюкозу [339]. Отруби (ржанные, пшеничные, овсяные и др.) также могут служить источником ФКК. Основным фенольным бактериальным метаболитом при этом является фенилпропионовая кислота, образующаяся из феруловой кислоты [340]. Важным представляется тот факт, что пищевые волокна/пребиотики (например, пшеничные отруби), стимулируют рост бутират-продуцирующих бактерий, некоторые из которых (например, *Eubacterium xylanophilum*, *Butyrivibrio* spp., *Roseburia intestinalis*, *R. faecis*, *R. hominis*) синтезируют, помимо бутирата, феруловую кислоту, быстро метаболизирующуюся в фенилпропионовую кислоту [341].

В норме фенилкарбоновые кислоты присутствуют в крови человека. Так, по данным Белобородовой Н. В. и соавт., средние концентрации ФУК и ФПК в сыворотке крови здорового человека составили соответственно 226 и 147 нг/мл (с интерквартильным размахом [ИР] в 0–512 и 0–220 соответственно) [342]. По уточненным данным, концентрации (медианы) ФУК, ФПК и ПГФУК у здоровых людей – 1,41 мкМ, 0,55 мкМ и 0,98 мкМ (ИР: 0,95–2,15, 0,25–1,17 и 0,68–1,48 соответственно) [343]. При генетических обусловленных нарушениях эндогенных путей метаболизма фенилаланина и тирозина, например, при фенилкетонурии

и тирозинемии, уровень ФКК в сыворотке крови и в моче может существенно повышаться. Снижение уровня ФУК в крови и в моче, обусловленное возможными нарушениями метаболизма фенилаланина, тирозина и дофамина, описано у пациентов с большими депрессивными расстройствами и некоторыми формами шизофрении [344]. Повышенное содержание некоторых ФКК (например, ПГФУК, фенилмолочной и парагидроксифенилмолочной) в крови наблюдается у септических больных и, скорее всего, связано с микробной деградацией фенилаланина и тирозина [40]. Данные об аномальном уровне фенилкарбоновых кислот при сепсисе, полученные отечественными учеными, послужили поводом использовать термин «сепсис-ассоциированные ФКК» для таких кислот, как бензойная, парагидроксibenзойная, ФПК, парагидроксифенилпропионовая, ФУК, ПГФУК, фенилмолочная и парагидроксифенилмолочная [343, 345].

Изменение содержания ФКК в крови и моче встречается и при других заболеваниях. Так, Jankowski J. et al. выявили повышенный уровень ФУК у пациентов в терминальной стадии хронической почечной недостаточности [346]. Kopple J. D. в статье, посвященной метаболизму фенилаланина и тирозина, приводит данные о повышении концентраций ПГФУК, фенилмолочной, парагидроксibenзойной и других кислот у пациентов с хронической почечной недостаточностью [347]. Mutsaers H. A. et al. также сообщают о повышении уровня фенилуксусной кислоты у пациентов, находящихся на терминальной стадии хронической почечной недостаточности [348], а Schmidt S. et al. рассматривают ФУК как один из уремических токсинов, обладающий ингибирующим эффектом в отношении экспрессии индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS). Ингибирование iNOS, в свою очередь, угнетает функцию макрофагов и может привести к развитию иммунодефицитных состояний у таких пациентов [349]. Изменения в уровне ПГФУК и индолуксусной кислоты в моче, обусловленные нарушением микробиоценоза кишечника, наблюдаются при раннем половом созревании [350]. Значимое снижение концентрации бензойной кислоты в плазме крови выявлено у пациентов с шизофренией [351].

В недавних экспериментальных исследованиях показано, что, в отличие, например, от короткоцепочечных масляной и капроновой кислот, ФУК, ФПК и некоторые другие ФКК (фенилмолочная, 2-фенилмасляная, фениллантарная) подавляют рост эксплантатов иммунной ткани (селезенки) и здоровых тканей печени, поджелудочной железы и почек половозрелых крыс линии Wistar, а также ингибируют рост культуры пробиотического штамма *Escherichia coli* M-17. Эти данные подтверждают вероятную патогенетическую роль фенилкарбоновых кислот в развитии хронических заболеваний, связанных с нарушением иммунного ответа, в том числе аутоиммунных. Возможно, что фенилкарбоновые кислоты могут служить метаболитами маркерами не только развивающегося сепсиса, но и заболеваний, сопровождающихся нарушенным иммунным ответом и хроническим

воспалением, например, ВЗК, колоректального рака, хронических заболеваний печени и почек, вторичных иммунодефицитных состояний [88, 105, 106].

В доступной нам литературе мы не нашли сведений о содержании в крови фенолкарбоновых кислот при воспалительных заболеваниях кишечника, таких как язвенный колит и болезнь Крона, а также при целиакии. Практически единственное упоминание о возможной связи ФКК с фенотипами ВЗК встречается в исследовании Jansson J. et al., показавшей, что содержание парагидроксифенилпропионовой кислоты в фекалиях пациентов с болезнью Крона существенно выше (в 6–7 раз), чем у здоровых индивидуумов [352]. Кроме того, было установлено, что при колоректальном раке, частота развития которого при ВЗК (особенно при язвенном колите) увеличена, повышается уровень ФУК и ПГФУК в моче [306]. В недавнем японском исследовании уровень бензойной кислоты в сыворотке крови значимо коррелировал со стадией колоректального рака, что дало авторам повод рассматривать его в качестве одного из возможных биомаркеров при этом заболевании [353]. Указывается также на возможность повышенной экскреции фенолкарбоновых кислот, в том числе бензойной кислоты и ПГФУК, с мочой у больных целиакией в результате нарушений микробиоценоза кишечника [85, 354].

Если говорить о других фенолсодержащих метаболитах, то в недавнем польском исследовании было установлено, что для пациентов с ВЗК (в активной фазе заболевания) характерны более высокие концентрации в моче неизвестного метаболита, содержащего 4-гидроксифенильную группу [203].

В настоящем исследовании у пациентов с язвенным колитом концентрации бензойной (#19) и парагидроксифенилуксусной (#39) кислот были значимо повышены по сравнению с группой здоровых добровольцев. У пациентов с целиакией была значимо повышена только концентрация бензойной кислоты (#19). Сравнение объединенной группы больных и группы здоровых добровольцев выявило значимое повышение уровня обеих кислот, как бензойной, так и ПГФУК, в сыворотке крови пациентов с язвенным колитом или целиакией по сравнению со здоровыми лицами ($p = 0,002$ и $p = 0,015$ соответственно). У больных, как язвенным колитом, так и целиакией, также было выявлено повышение уровня фенолуксусной кислоты (#23) в крови (по сравнению со здоровыми добровольцами), однако различия в концентрациях между группами не были значимыми. Незначимым оказалось и снижение уровня фенолпропионовой кислоты в крови у больных целиакией.

Эти данные могут свидетельствовать о возможном повышении при язвенном колите метаболической активности некоторых видов клостридий

и бактероидов, метаболизирующих ароматические аминокислоты (прежде всего, тирозин) в ПГФУК [326]. Повышение уровня бензойной кислоты в группах больных, скорее всего, также обусловлено увеличением ее микробной продукции. Изменение метаболической активности бактериальной флоры кишечника, в свою очередь, может являться следствием серьезных нарушений микробиоценоза (дисбиоз толстой кишки, синдром избыточного бактериального роста в тонкой кишке), сопровождающих как воспалительные заболевания кишечника [355, 356], так и целиакию [265, 357, 358]. Кроме того, с учетом данных метаболомных исследований, повышенный уровень бензойной кислоты и ПГФУК при язвенном колите может свидетельствовать и о более высоком риске развития колоректального рака у этой группы пациентов [306, 353].

Полученные нами данные о 3-кратном повышении уровня ПГФУК у больных язвенным колитом представляют несомненный интерес еще с одной точки зрения. Не так давно было показано, что добавление парагидроксифенилуксусной кислоты в культуру *Clostridium difficile* приводит к активной продукции паракрезола, токсического фенольного соединения с выраженной бактериостатической активностью в отношении нормофлоры, в результате декарбоксилирования ПГФУК ферментом *C. difficile*. Этот феномен является уникальным свойством вида *C. difficile* (среди других представителей рода клостридий), фактически ответственным за развитие *C. difficile*-ассоциированных заболеваний в условиях гиперпродукции парагидроксифенилуксусной кислоты [359]. Возможно, что данные о существенном повышении уровня ПГФУК у пациентов с ЯК помогут (хотя бы частично) объяснить повышенную частоту инфекции *C. difficile* при язвенном колите, отягчающей течение заболевания и ухудшающей прогноз, а также выявить возможную патогенетическую связь между инфекцией *C. difficile* и ВЗК [360–365].

Возможную роль обсуждаемых фенолкарбоновых кислот в патогенезе язвенного колита косвенно подтверждают и выявленные нами значимые отрицательные корреляции между концентрацией бензойной кислоты в сыворотке крови и количеством *Faecalibacterium prausnitzii* в кале ($r_s = -0,344$, $p = 0,024$), а также между концентрацией ПГФУК и общим количеством бутират-продуцирующих бактерий ($r_s = -0,354$, $p = 0,022$), уровень которых у пациентов с язвенным колитом был значимо снижен по сравнению со здоровыми лицами.

Концентрация бензойной кислоты также отрицательно коррелировала с количеством *Bifidobacterium* spp. в кале ($r_s = -0,341$, $p = 0,025$), уровень которых у больных целиакией был значимо снижен по сравнению как со здоровыми добровольцами, так и с больными язвенным колитом.

3-Гидроксикоричная кислота

3-гидроксикоричная (м-кумаровая, м-кумариновая) кислота относится к гидроксильным производным коричной кислоты из группы

фенилпропаноидов и представляет собой полифенольный метаболит кофейной кислоты, образующийся в толстой кишке при участии микробиоты



Рисунок 10. Концентрации (Ме) индолкарбоновых кислот в сыворотке крови больных язвенным колитом, пациентов с целиакией и здоровых добровольцев по данным ГХ-МС (в условных единицах). * – различия значимы по сравнению со здоровыми добровольцами ($p < 0,05$; U-критерий Манна – Уитни, точные значения p приведены в таблице 1).

кишечника [366, 367]. Концентрации 3-ГКК в биологических жидкостях человека являются диетозависимыми. 3-ГКК переносится транспортером монокарбоновых кислот (англ. monocarboxylic acid transporter, МСТ). Считается, что МСТ-опосредованная абсорбция фенольных соединений и их метаболитов, таких, например, как 3-ГКК, в толстой кишке оказывает значительное влияние на здоровье человека [367]. Так, например, антиоксидантные эффекты, связанные с употреблением кофе в значительной степени связаны с метаболитами кофейной кислоты, образующимися при участии микробиоты кишечника, такими как 3-гидроксикоричная и дигидроферуловая кислоты [368]. Не так давно показана возможная роль пробиотических штаммов *Bifidobacterium animalis* в биоконверсии хлорогеновой кислоты, содержащейся, например, в кофе, семенах подсолнечника, корнях цикория, в кофейную и другие гидроксикоричные кислоты (в том числе в 3-ГКК) [369, 370].

Данных об уровне 3-гидроксикоричной кислоты в сыворотке крови, других биологических жидкостях и образцах тканей, полученных от пациентов с язвенным колитом или больных целиакией в доступной научной литературе нами обнаружено не было.

В настоящем исследовании уровень 3-гидроксикоричной кислоты (#41) в сыворотке крови больных язвенным колитом был значимо повышен по сравнению с группой здоровых добровольцев. Концентрация 3-ГКК у больных целиакией также была выше, чем в группе здоровых добровольцев, однако различия между группами не были значимыми

($p > 0,05$). Сравнение объединенной группы больных и группы здоровых добровольцев, тем не менее, выявило значимое повышение уровня 3-ГКК в сыворотке крови больных одним или другим заболеванием по сравнению со здоровыми лицами ($p = 0,013$).

С учетом имеющихся в литературе данных, можно предположить, что более высокие концентрации 3-ГКК при язвенном колите, скорее всего, не имеют патогенетического значения и могут быть обусловлены повышенной биоконверсией хлорогеновой и кофейной кислот пищевого происхождения в результате изменений микробиоценоза толстой кишки, а также нарушенной проницаемости кишечного барьера. Стоит отметить, что, хотя между концентрациями 3-гидроксикоричной кислоты и кофеина в сыворотке крови была выявлена умеренная положительная связь ($r_s = 0,384$, $p = 0,009$), повышение концентрации 3-ГКК у пациентов с язвенным колитом вряд ли могло быть связано с повышенным употреблением кофе и других кофеинсодержащих продуктов, поскольку уровень кофеина статистически значимо не различался между группами. Более высокие значения коэффициентов корреляции характеризовали умеренную (средней силы) значимую связь между уровнем 3-гидроксикоричной кислоты и концентрациями бензойной кислоты (#19) ($r_s = 0,575$, $p < 0,001$), также являющейся одним из важнейших микробных метаболитов кофейной кислоты [328], и ПГФУК (#39) ($r_s = 0,627$, $p < 0,001$), образующейся в толстой кишке в процессе бактериальной деградации тирозина представителями клостридий и бактероидов [194, 324, 326].

Индолкарбоновые кислоты

Предшественником индолкарбоновых кислот является триптофан – незаменимая аминокислота, играющая важную роль в биосинтезе белка и являющаяся также биохимическим прекурсором таких соединений, как серотонин и никотиновая кислота. Кроме того, получены доказательства того, что повышенный катаболизм триптофана является ключевым метаболическим процессом, поддерживающим феномен индуцированных иммунных привилегий, а управление метаболизмом триптофана

в перспективе может дать новый терапевтический инструмент для коррекции гипоиммунных, гипериммунных и аутоиммунных состояний [371]. В ряде исследований было показано, что индолкарбоновые кислоты могут принимать участие в регуляции экспрессии некоторых бактериальных генов [372].

В настоящем исследовании нами были идентифицированы 2 индолкарбоновые кислоты – индолуксусная (ИУК, #50) и индолпропионовая (ИПК, #56) (рис. 10).

Индолуксусная кислота

Индолуксусная кислота является одним из основных метаболитов триптофана, наряду с индолпропионовой кислотой, индолилакрилоилглицином, 5-гидроксииндолилуксусной и 3-гидроксиантралиновой кислотами, а также индолом и скатолом. В невысоких концентрациях ИУК обнаруживается в моче здорового человека, причем ее содержание коррелирует с содержанием индолилакрилоилглицина [373]. Как и фенилуксусная кислота, индолуксусная кислота вследствие ее цитотоксичности также рассматривается как один из уремических токсинов [374]. Кроме того, известно, что индолуксусная кислота токсична для некоторых опухолевых клеток человека, в связи с чем рассматриваются возможности использования ИУК растительного происхождения (ауксин, гетероауксин) для целевой терапии злокачественных новообразований, например, меланомы, рака поджелудочной железы и рака мочевого пузыря [375–377].

Физиологические функции ИУК до конца не изучены, однако установлено, что она, как и некоторые другие индол-содержащие соединения, является лигандом арил-углеводородных рецепторов (AhR) и в этом качестве способна обеспечивать передачу сигналов между представителями микробиоты кишечника и клетками иммунной системы организма-хозяина [378]. В исследовании у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) было показано, например, что ИУК (как лиганд AhR) может активировать воспалительный путь

AhR/p38MAPK/NF-κB, приводящий к индукции провоспалительной циклооксигеназы-2 и развитию воспаления в клетках человеческого эндотелия. Сывороточные концентрации ИУК при этом коррелировали с маркерами воспаления (С-РБ) и окислительного стресса (малондиальдегид) и служили независимыми предикторами смертности и развития сердечно-сосудистых осложнений при ХБП [379]. Как уже отмечалось, при экспериментальном колите у мышей уровень индолуксусной кислоты в сыворотке крови и колоректальной ткани (наряду с уровнями янтарной и глутаминовой кислот, а также глутамина) был тесно связан с активностью воспалительного процесса [290].

Продуцентами индолуксусной кислоты являются некоторые виды клостридий, в частности, *Clostridium botulinum* тип G, *Clostridium difficile*, *Clostridium lituseburense*, *Clostridium putrefaciens*, *Clostridium subterminale*, *Intestinibacter bartlettii* (семейство Peptostreptococcaceae), ранее известный как *Clostridium bartlettii*, метаболизирующие триптофан и другие ароматические аминокислоты [324, 326, 380]. Из представителей других родов ее способны вырабатывать некоторые бактерии из группы *Bacteroides fragilis* (например, *Bacteroides thetaiotaomicron* и *Bacteroides eggerthii*), а также *Eubacterium hallii* (семейство Eubacteriaceae, тип Firmicutes), *Citrobacter* sp. (семейство Enterobacteriaceae, тип Proteobacteria) и *Escherichia coli* [326, 381].

Индолпропионовая кислота

Индолпропионовая кислота, так же как и индолуксусная кислота, является метаболитом триптофана. Физиологические функции ИПК до сих пор не выяснены, однако в ряде работ сообщается о ее возможности предотвращать окислительный стресс (антиоксидантное действие), а также о потенциальном нейропротективном действии [382–387]. Известна также способность ИПК подавлять рост *Legionella pneumophila*, бактерии, этиологически связанной с болезнью легионеров (легионеллез) [388]. Исследования последних лет раскрывают возможности ИПК не только как лиганда (агониста) AhR, ограничивающего воспаление в центральной нервной системе (ЦНС) [389], но и как лиганда ядерных прегнан-Х-рецепторов (PXR), играющих ключевую роль в биотрансформации ксенобиотиков и регуляции кишечного барьера [390]. В экспериментальных исследованиях показано, что ИПК при посредничестве PXR и Toll-подобного рецептора 4 (TLR 4) может регулировать барьерную функцию и поддерживать иммунный гомеостаз кишечника, модулируя продукцию ФНО-α и ИЛ-22 [24, 390, 391]. Повышенный уровень ИПК в сыворотке крови связан с пониженной вероятностью развития сахарного диабета 2-го типа. Кроме того, уровень ИПК в крови обратно коррелировал с уровнем сывороточного С-реактивного белка, определяемого высокочувствительным методом (hs-CRP) [125].

Спектр микроорганизмов, способных продуцировать ИПК, по всей видимости, ограничен представителями клостридий, прежде всего, *Clostridium*

sporogenes, а также *Clostridium cylindrosporum* [178, 392–394]. Косвенным подтверждением бактериального происхождения индолпропионовой кислоты могут служить данные о снижении уровня ИПК у животных после назначения антибиотиков [395]. Прямое подтверждение микробного происхождения ИПК было получено в экспериментальном исследовании на мышах (обычных и безмикробных линий), результаты которого показали, что продукция индолпропионовой кислоты полностью зависит от микрофлоры кишечника и, в частности, от колонизации *Clostridium sporogenes*. ИПК обнаруживалась только в сыворотке крови обычных мышей и полностью отсутствовала в крови безмикробных мышей. Из 24 видов микроорганизмов, принадлежащих к различным типам бактерий (*Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*) и архей (*Methanobrevibacter smithii*), только *Clostridium sporogenes* была способна продуцировать ИПК в культуре [394].

В норме индолкарбоновые кислоты (так же как и ФКК) присутствуют в крови человека. По данным одного из исследований, средние концентрации ИУК и ИПК в крови здорового человека составили соответственно 100 ± 40 и 91 ± 48 нг/мл [396]. В доступной нам научной литературе мы не нашли данных об изменении концентраций индолкарбоновых кислот в крови или других биологических жидкостях у пациентов с заболеваниями органов пищеварения.

Наблюдаемое в настоящем исследовании повышение сывороточных концентраций

Исследуемые группы	Янтарная кислота	Линолевая кислота	Эйкозодиеновая кислота
A ₁ (ЯК)	Исходно	0,262 (0,114–0,599)	9,177 (5,473–17,173)
	Через 28 дней	0,147 (0,083–0,314)	0,075 (0,045–0,195)
	Уровень значимости р*	0,021	0,017

Таблица 3.
Динамика уровня некоторых метаболитов в сыворотке крови больных язвенным колитом (группа A₁) на фоне дополнительного применения масляной кислоты в комбинации с инулином (усл. ед.), Me (Q₁–Q₃)
* р – значение согласно W-критерию Вилкоксона (Уилкоксона) для парных (связанных) выборок.

Исследуемые группы	Янтарная кислота	2-Гидрокси-изовалериановая кислота
B ₁ (Ц)	Исходно	0,276 (0,029–0,575)
	Через 28 дней	0,035 (0,010–0,123)
	Уровень значимости р*	0,080 (0,044–0,132)

Таблица 4.
Динамика уровня некоторых метаболитов в сыворотке крови больных целиакией (группа B₁) на фоне дополнительного применения масляной кислоты в комбинации с инулином (усл. ед.), Me (Q₁–Q₃)
* р – значение согласно W-критерию Вилкоксона (Уилкоксона) для парных (связанных) выборок.

индолуксусной кислоты (по сравнению с группой здоровых добровольцев) являлось статистически значимым только для группы больных язвенным колитом (р = 0,047). Тем не менее, по данным дополнительного анализа, проведенного с помощью теста Джонкхира – Терпстры, были выявлены значимые различия между всеми тремя группами в уровне индолуксусной кислоты (р = 0,049). Сравнение объединенной группы больных и группы здоровых добровольцев также выявило значимое повышение уровня индолуксусной кислоты в сыворотке крови пациентов с язвенным колитом или целиакией по сравнению со здоровыми лицами (р = 0,036). Значимых различий между группами в концентрации индолпропионовой кислоты в сыворотке крови выявлено не было.

Объяснение различий между группами в уровне ИУК может дать выдвинутая ранее гипотеза о том, что как язвенный колит, так и целиакия могут быть связаны с нарушением метаболизма триптофана [371, 397–399]. В пользу этой гипотезы свидетельствуют данные о значимой положительной связи между сывороточными уровнями метаболитов, связанных с метаболизмом триптофана (ИУК, ИПК, кинуренин, 3-индоксилсульфат и С-гликозилтриптофан), с уровнем провоспалительного интерлейкина ИЛ-6 в сыворотке крови [400]. Кроме того, возможная роль CARD 9-ассоциированных нарушений метаболизма триптофана в патогенезе ВЗК при посредничестве AhR недавно была продемонстрирована во французском экспериментальном исследовании [401].

Динамика уровня метаболитов на фоне приема метабитоика

Анализ метаболома сыворотки крови у пациентов, включенных на 2-м этапе в открытое рандомизированное исследование в параллельных группах, показал, что исходно группы пациентов с одинаковым заболеванием (A₁ и A₂ [ЯК], B₁ и B₂ [Ц] соответственно) значимо не различались между собой. У пациентов из групп A₂ (ЯК) и B₂ (Ц), получавших только базисную терапию (при язвенном колите) и безглютеновую диету (при целиакии), значимых изменений сывороточного метаболома через 28 дней выявлено не было.

В группах A₁ (ЯК) и B₁ (Ц) на фоне дополнительного применения масляной кислоты в комбинации с инулином (Закофальк NMX) через 28 дней отмечалось значимое понижение сывороточных концентраций двух провоспалительных метаболитов, имеющих, возможно, микробное происхождение, – янтарной кислоты, как у больных язвенным колитом (с 0,262 усл. ед. до 0,147 усл. ед., р = 0,021), так и у пациентов с целиакией (с 0,276 усл. ед. до 0,080 усл. ед., р = 0,037) (таблицы 3 и 4, рис. 11), и 2-гидроксиизовалериановой кислоты – у больных целиакией (с 0,035 усл. ед. до 0,008 усл. ед., р = 0,043). В то же время у пациентов с язвенным колитом наблюдалось значимое повышение уровня линолевой (с 9,177 усл. ед.

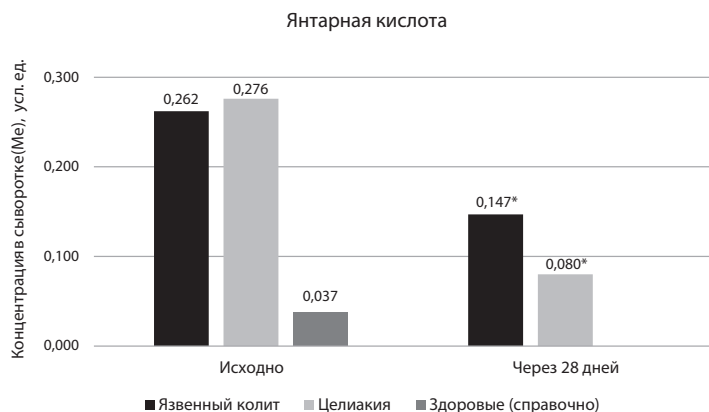
до 15,963 усл. ед., р = 0,017) и эйкозодиеновой кислот (с 0,075 усл. ед. до 0,242 усл. ед., р = 0,037). Статистически значимых изменений других показателей метаболома у пациентов данных групп выявлено не было.

Стоит также отметить, что наряду с положительной динамикой метаболического профиля и улучшением количественных показателей микробиоты у значимо большего числа пациентов (85 %) из группы A₁, получавших дополнительно Закофальк NMX, по сравнению с 55 % пациентов из группы A₂ (р = 0,048; точный критерий Фишера) через 14 дней наблюдалось клиническое улучшение, определяемое как одновременное снижение двух первых показателей индекса Мейо/UC-DAI – частоты стула и ректального кровотечения – как минимум на один пункт от исходных значений. У пациентов с целиакией из группы B₁, получавших дополнительно Закофальк NMX, наблюдалось значимое улучшение субпоказателей синдрома диспепсии и синдрома абдоминальной боли шкалы гастроинтестинальных симптомов GSRS через 28 дней (снижение с 3,8 до 2,1 и с 3,2 до 1,7; р < 0,05 для обоих случаев; W-критерий Вилкоксона для парных выборок). У больных целиакией, находившихся только на

Рисунок 11.

Динамика концентраций янтарной кислоты в сыворотке крови у пациентов с язвенным колитом и больных целиакией на фоне дополнительного применения масляной кислоты в комбинации с инулином.

* – различия значимы (точные значения p приведены в таблицах 3 и 4).



безглютеновой диете (группа В₂), значимых изменений субпоказателей GSRS выявлено не было. Кроме того, дополнительный прием масляной кислоты в комбинации с инулином снижал

интенсивность вздутия живота у 73 % пациентов из группы В₁, в то время как улучшение этого симптома наблюдалось только у 29 % пациентов в группе В₂ ($p = 0,006$; точный критерий Фишера).

Метаболическое перепрограммирование при хроническом воспалении в кишечнике

Завершая обсуждение результатов исследования, с учетом ранее полученных данных, можно предположить, что при наличии хронического воспалительного процесса в кишечнике (как в толстой, так и тонкой кишке) в результате взаимодействия целого ряда факторов (дисбиотические изменения метаболической активности микробиоты, повышенная проницаемость кишечного барьера, транслокация микроорганизмов, изменение биодоступности микробных метаболитов, активация иммунных клеток, продукция цитокинов, клеточная гипоксия и др.) в организме человека могут развиваться существенные метаболические нарушения, затрагивающие не только кишечник, но и (судя по наличию системных эффектов) другие метаболически активные органы и ткани, такие как печень, жировая ткань брыжейки, органы ЦНС. Эти нарушения затрагивают важнейшие метаболические пути, включая гликолиз, цикл Кребса, окисление и биосинтез жирных кислот, метаболизм кетоновых тел, метаболизм триптофана, фенилаланина и тирозина, микробный метаболизм. Еще одним подтверждением тому служат результаты недавнего метаболомного педиатрического исследования, выявившего аналогичные изменения метаболома мочи у детей с ВЗК, отражающие, в частности, значимые нарушения энергетического (цикл Кребса и другие пути) и микробного метаболизма [402].

По всей видимости, клетки органов-мишеней (прежде всего, иммунные и эпителиальные клетки кишечника) при воспалении и бактериальные клетки в условиях дисбиоза подвергаются своеобразному метаболическому перепрограммированию, имеющему на ранних стадиях адаптационное значение. Необходимость раннего выявления нарушений метаболизма, связанных с воспалением и дисбиозом, обусловлена, прежде всего, тем, что в условиях хронического воспаления

метаболическое перепрограммирование через HIF-1 α - и ИЛ-6-зависимые пути способствует не только прогрессированию заболевания, но и онкогенезу (например, развитию колоректального рака у пациентов с язвенным колитом) [403]. Измененные метаболические пути и отдельные метаболиты, как эндогенные, так и микробные, задействованные в этих процессах (сукцинат, фумарат, лактат, 2-гидроксимасляная, 2-гидроксиизовалериановая и другие оксикислоты, некоторые фенилкарбоновые и индолкарбоновые кислоты), могут служить потенциальными диагностическими инструментами (биомаркерами) и/или терапевтическими мишенями. Примечательно, что по результатам ROC-анализа наибольшую диагностическую эффективность ($AUC > 0,7$) продемонстрировали метаболиты микробного или смешанного происхождения (таблица 2).

Для эффективного восстановления нарушенного метаболизма (по сути, обратного метаболического перепрограммирования) могут быть использованы различные средства – от пробиотиков и метабитиков, содержащих бактериальные метаболиты и их синтетические аналоги (например, бутират, пропионат, некоторые аминокислоты), до невсасывающихся антибиотиков (рифаксимин, рифамицин SV MMX) и препаратов против воспалительных интерлейкинов (в более тяжелых случаях) [84, 404–406]. Метабитики при этом могут обладать существенными преимуществами перед другими агентами, связанными с прямым действием метаболитов (как сигнальных молекул – лигандов рецепторов) на терапевтические мишени и высоким уровнем безопасности [407]. Дальнейшие исследования в этом направлении могут стать основой для разработки принципиально новых терапевтических подходов при хронических заболеваниях кишечника и других органов [14, 408].

Выводы

- Как при язвенном колите, так и при целиакии наблюдаются значимые изменения сывороточных концентраций метаболитов микробного и эндогенного происхождения, отражающие нарушения в соответствующих метаболических путях (гликолиз, цикл Кребса, окисление и биосинтез жирных кислот, метаболизм кетоновых тел, метаболизм триптофана, фенилаланина и тирозина, микробный метаболизм и др.). Некоторые из этих метаболитов можно рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров хронического воспаления в кишечнике. Повышение показателей эффективности (точности, чувствительности и специфичности) метаболомных маркеров возможно путем построения диагностических моделей на основе методов логистической регрессии, позволяющей объединить вклады отдельных предикторов.
- Повышение концентрации янтарной кислоты в сыворотке крови, как у пациентов с язвенным колитом, так и у больных целиакией, может указывать на возможную роль янтарной кислоты, провоспалительной сигнальной молекулы микробного происхождения, в развитии и поддержании хронического воспаления, как в толстой, так и в тонкой кишке. Повышение сывороточного уровня фумаровой кислоты и увеличение отношения медиан концентраций янтарной и фумаровой кислот в группах больных подтверждает гипотезу о возможной роли нарушений цикла Кребса и сопутствующей митохондриальной дисфункции, сопровождающих процессы воспаления и клеточной гипоксии, в патогенезе исследуемых заболеваний.
- Повышение уровня оксикислот из группы 2-гидроксимасляной кислоты при язвенном колите свидетельствует о возможном участии этих низкомолекулярных соединений в патогенезе заболевания и может быть обусловлено окислительным стрессом, кетогенезом, а также повышенной микробной продукцией в результате нарушений микробиоценоза кишечника. Выявленное повышение уровня 2-гидроксиизовалериановой кислоты у пациентов с целиакией может быть следствием увеличенной бактериальной продукции этого метаболита либо проявлением кетогенеза (возможно, в несколько меньшей степени, чем при язвенном колите). Гипотеза о том, что кетогенез может отражать потребность организма в дополнительных источниках энергии в условиях хронического воспаления в кишечнике, требует дальнейшего изучения и подтверждения.
- Значимое повышение концентрации парагидроксифенилуксусной кислоты у пациентов с язвенным колитом свидетельствует об усилении метаболической активности некоторых видов клостридий и бактероидов, трансформирующих ароматические аминокислоты (например, тирозин) в ПГФУК и, возможно, ответственно за повышенную частоту инфекции *Clostridium difficile* при язвенном колите. Повышенный уровень бензойной кислоты в обеих группах больных, скорее всего, также обусловлен увеличением ее микробной продукции в результате нарушений микробиоценоза, сопровождающих как ВЗК, так и целиакию.
- Значимые различия между всеми группами в уровне индолуксусной кислоты и повышение уровня ИУК в сыворотке крови у пациентов объединенной группы больных свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что патогенез как язвенного колита, так и целиакии может быть связан с нарушением метаболизма триптофана и гиперпродукцией провоспалительного интерлейкина ИЛ-6.
- Впервые выявленное значимое повышение липогенного индекса, индекса активности элонгазы и индекса активности $\Delta 6$ -десатуразы–элонгазы– $\Delta 5$ -десатуразы при язвенном колите, свидетельствует об увеличении эндогенного синтеза жирных кислот и липогенеза *de novo* и может быть обусловлено хронической гипоксией, сопровождающей воспаление. В пользу гипотезы о нарушении метаболизма жирных кислот в условиях хронического воспаления при обоих заболеваниях свидетельствуют статистически значимые различия между всеми тремя группами в сывороточных концентрациях стеариновой, линолевой и эйкозодиеновой кислот, а также между объединенной группой больных и группой здоровых добровольцев в концентрациях стеариновой и эйкозодиеновой кислот. Низкий уровень линолевой кислоты в сыворотке крови поддерживает версию об усилении липогенеза и служит косвенным подтверждением ее противовоспалительных свойств, связанных с возможным ингибированием продукции провоспалительного интерлейкина ИЛ-6, индуцированной пальмитиновой кислотой. Снижение уровня эйкозодиеновой кислоты и значимые положительные корреляции между уровнем линолевой кислоты и численностью *Faecalibacterium prausnitzii*, а также между концентрацией эйкозодиеновой кислоты и общим количеством бутират-продуцирующих бактерий могут свидетельствовать о возможной противовоспалительной роли этих метаболитов.
- Новый метаболомный индекс – отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозодиеновой кислоты ($C20:4n-6/C20:2n-6$), отражающий баланс между провоспалительными и противовоспалительными компонентами пула ω -6-ПНЖК, может рассматриваться как потенциальный биомаркер хронического воспаления.
- Значимое снижение сывороточных концентраций некоторых провоспалительных метаболитов микробного происхождения (янтарная и 2-гидроксиизовалериановая кислоты) на фоне дополнительного применения масляной кислоты в комбинации с инулином свидетельствует о возможности эффективной коррекции метаболического дисбиоза с помощью метабиотиков как у пациентов с язвенным колитом, так и у больных целиакией и, вкупе с клиническими данными, позволяет рекомендовать назначение Закофалька NMХ в дополнение к базисной терапии при язвенном колите и безглютеновой диете при целиакии с целью более быстрого и эффективного купирования основных симптомов этих заболеваний.

Литература

1. Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Jun 26;1–14. doi: 10.1080/17474124.2017.1343143.
2. Wapenaar MC, Monsuur AJ, van Bodegraven AA, Weersma RK, Bevoa MR, Linskens RK, Howdle P, Holmes G, Mulder CJ, Dijkstra G, van Heel DA, Wijmenga C. Associations with tight junction genes PARD 3 and MAGI2 in Dutch patients point to a common barrier defect for coeliac disease and ulcerative colitis. *Gut*. 2008 Apr;57(4):463–7. doi: 10.1136/gut.2007.133132.
3. Miner-Williams WM, Moughan PJ. Intestinal barrier dysfunction: implications for chronic inflammatory conditions of the bowel. *Nutr Res Rev*. 2016 Jun;29(1):40–59. doi: 10.1017/S0954422416000019.
4. Pastorelli L, De Salvo C, Mercado JR, Vecchi M, Pizarro TT. Central role of the gut epithelial barrier in the pathogenesis of chronic intestinal inflammation: lessons learned from animal models and human genetics. *Front Immunol*. 2013 Sep 17;4:280. doi: 10.3389/fimmu.2013.00280.
5. McCole DF. IBD candidate genes and intestinal barrier regulation. *Inflamm Bowel Dis*. 2014 Oct;20(10):1829–49. doi: 10.1097/MIB.0000000000000090.
6. Pascual V, Dieli-Crimi R, López-Palacios N, Bodas A, Medrano LM, Núñez C. Inflammatory bowel disease and celiac disease: overlaps and differences. *World J Gastroenterol*. 2014 May 7;20(17):4846–56. doi: 10.3748/wjg.v20.i17.4846.
7. Meddings J. The significance of the gut barrier in disease. *Gut*. 2008 Apr;57(4):438–40. doi: 10.1136/gut.2007.143172.
8. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Herber A. Mucosal flora in Crohn's disease and ulcerative colitis – an overview. *J Physiol Pharmacol*. 2009 Dec;60 Suppl 6:61–71.
9. Chen SJ, Liu XW, Liu JP, Yang XY, Lu FG. Ulcerative colitis as a polymicrobial infection characterized by sustained broken mucus barrier. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul 28;20(28):9468–75. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9468.
10. Hering NA, Fromm M, Schulzke JD. Determinants of colonic barrier function in inflammatory bowel disease and potential therapeutics. *J Physiol*. 2012 Mar 1;590(Pt 5):1035–44. doi: 10.1113/jphysiol.2011.224568.
11. Крυσ В., Ситкин С. И. Заживление слизистой оболочки при воспалительных заболеваниях кишечника: Влияние месалазина и различных механизмов его действия на заживление слизистой оболочки кишечника при язвенном колите. – М.: Форте принт, 2013. – 36 с.
12. Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*. 2014 May;14(5):329–42. doi: 10.1038/nri3661.
13. Matsuoka K, Kanai T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol*. 2015 Jan;37(1):47–55. doi: 10.1007/s00281–014–0454–4.
14. Sartor RB, Wu GD. Roles for Intestinal Bacteria, Viruses, and Fungi in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Therapeutic Approaches. *Gastroenterology*. 2017 Feb;152(2):327–339.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.012.
15. Duboc H, Rajca S, Rainteau D, Benarous D, Maubert MA, Quervain E, Thomas G, Barbu V, Humbert L, Despras G, Bridonneau C, Dumetz F, Grill JP, Masliah J, Beaugier L, Cosnes J, Chazouillères O, Poupon R, Wolf C, Mallet JM, Langella P, Trugnan G, Sokol H, Seksik P. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut*. 2013 Apr;62(4):531–9. doi: 10.1136/gutjnl-2012–302578.
16. Meisel M, Mayassi T, Fehlner-Peach H, Koval JC, O'Brien SL, Hinterleitner R, Lesko K, Kim S, Bouziat R, Chen L, Weber CR, Mazmanian SK, Jabri B, Antonopoulos DA. Interleukin-15 promotes intestinal dysbiosis with butyrate deficiency associated with increased susceptibility to colitis. *ISME J*. 2017 Jan;11(1):15–30. doi: 10.1038/ismej.2016.114.
17. Корниенко Е. А. Роль кишечной микробиоты в развитии целиакии // Медицинский совет. – 2013. – № 1. – С. 44–51.
18. Verdu EF, Galipeau HJ, Jabri B. Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Sep;12(9):497–506. doi: 10.1038/nrgastro.2015.90.
19. De Palma G, Nadal I, Collado MC, Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *Br J Nutr*. 2009 Oct;102(8):1154–60. doi: 10.1017/S0007114509371767.
20. Brown K, DeCoffe D, Molcan E, Gibson DL. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*. 2012 Aug;4(8):1095–119. doi: 10.3390/nu4081095.
21. Ситкин С. И., Вахитов Т. Я., Ткаченко Е. И., Орешко Л. С., Жигалова Т. Н., Радченко В. Г., Селиверстов П. В., Авалуева Е. Б., Суворова М. А., Комличенко Э. В. Микробиота кишечника при язвенном колите и целиакии // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 1 (137). – С. 8–30.
22. Ситкин С. И., Ткаченко Е. И., Вахитов Т. Я. Метаболический дисбиоз кишечника и его биомаркеры // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – № 12 (124). – С. 6–29.
23. Huda-Faujan N, Abdulmir AS, Fatimah AB, Anas OM, Shuhaimi M, Yazid AM, Loong YY. The impact of the level of the intestinal short chain fatty acids in inflammatory bowel disease patients versus healthy subjects. *Open Biochem J*. 2010 May 13;4:53–8. doi: 10.2174/1874091X01004010053.
24. Romagnoli PA, Shenk GK, Pham QM, Maher L, Khanna KM. Commensal metabolite indol-3-propionic acid promotes gut barrier function by regulating IL-22 production during intestinal inflammatory conditions. *J Immunol*. 2016 May 1;196(1) Suppl 67.10.
25. Sitkin S, Vakhitov T, Tkachenko E., Oreshko L., Zhigalova T. Metabolic dysbiosis concept and its biomarkers in ulcerative colitis and celiac disease. *J Crohns Colitis*. 2015;9(Suppl 1): S437. doi: 10.1093/ecco-jcc/jju027.829.
26. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*. 2012 Jun 8;336(6086):1262–7. doi: 10.1126/science.1223813.
27. Verbeke KA, Boobis AR, Chiodini A, Edwards CA, Franck A, Kleerebezem M, Nauta A, Raes J, van Tol EA, Tuohy KM. Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutr Res Rev*. 2015 Jun;28(1):42–66. doi: 10.1017/S0954422415000037.
28. Vernocchi P, Del Chierico F, Putignani L. Gut Microbiota Profiling: Metabolomics Based Approach to Unravel Compounds Affecting Human Health. *Front Microbiol*. 2016 Jul 26;7:1144. doi: 10.3389/fmicb.2016.01144.
29. Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012 Mar 22;13(4):263–9. doi: 10.1038/nrm3314.
30. Zhang A., Sun H, Wang X. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for disease: a systematic review. *Anal Bioanal Chem*. 2012 Sep;404(4):1239–45. doi: 10.1007/s00216–012–6117–1.

31. De Preter V, Verbeke K. Metabolomics as a diagnostic tool in gastroenterology. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2013 Nov 6;4(4):97–107. doi: 10.4292/wjgpt.v4.i4.97.
32. De Preter V. Metabolomics in the Clinical Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis.* 2015 Sep 14;33 Suppl 1:2–10. doi: 10.1159/000437033.
33. Zhang A, Sun H, Yan G, Wang P, Wang X. Mass spectrometry-based metabolomics: applications to biomarker and metabolic pathway research. *Biomed Chromatogr.* 2016 Jan;30(1):7–12. doi: 10.1002/bmc.3453.
34. Ooi M, Nishiumi S, Yoshie T, Shiohara Y, Kohashi M, Fukunaga K, Nakamura S, Matsumoto T, Hatano N, Shinohara M, Irino Y, Takenawa T, Azuma T, Yoshida M. GC/MS-based profiling of amino acids and TCA cycle-related molecules in ulcerative colitis. *Inflamm Res.* 2011 Sep;60(9):831–40. doi: 10.1007/s00011-011-0340-7.
35. Vignsnaes LK, van den Abbeele P, Sulek K, Frandsen HL, Steenholdt C, Brynskov J, Vermeiren J, van de Wiele T, Licht TR. Microbiotas from UC patients display altered metabolism and reduced ability of LAB to colonize mucus. *Sci Rep.* 2013;3:1110. doi: 10.1038/srep01110.
36. Novak EA, Mollen KP. Mitochondrial dysfunction in inflammatory bowel disease. *Front Cell Dev Biol.* 2015 Oct 13;62. doi: 10.3389/fcell.2015.00062.
37. Heller S, Penrose HM, Cable C, Biswas D, Nakhoul H, Baddoo M, Flemington E, Crawford SE, Savkovic SD. Reduced mitochondrial activity in colonocytes facilitates AMPK α 2-dependent inflammation. *FASEB J.* 2017 May;31(5):2013–2025. doi: 10.1096/fj.201600976R.
38. Bernini P, Bertini I, Calabrò A, la Marca G, Lami G, Luchinat C, Renzi D, Tenori L. Are patients with potential celiac disease really potential? The answer of metabolomics. *J Proteome Res.* 2011 Feb 4;10(2):714–21. doi: 10.1021/pr100896s.
39. Calabrò A, Gralka E, Luchinat C, Saccenti E, Tenori L. A metabolomic perspective on coeliac disease. *Autoimmune Dis.* 2014;2014:756138. doi: 10.1155/2014/756138.
40. Белобородова Н. В., Ходакова А. С., Байрамов И. Т., Оленин А. Ю. Микробный путь образования фенолкарбоновых кислот в организме человека // *Биохимия.* – 2009. – Т. 74, вып. 12. – С. 1657–1663.
41. Осипов Г. А., Зыбина Н. Н., Родионов Г. Г. Опыт применения масс-спектрометрии микробных маркеров в лабораторной диагностике // *Медицинский алфавит.* – 2013. – Том 1, № 3 (193). – С. 64–67.
42. DuPont AW, DuPont HL. The intestinal microbiota and chronic disorders of the gut. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011 Aug 16;8(9):523–31. doi: 10.1038/nrgastro.2011.133.
43. Belcheva A, Irrazabal T, Martin A. Gut microbial metabolism and colon cancer: can manipulations of the microbiota be useful in the management of gastrointestinal health? *Bioessays.* 2015 Apr;37(4):403–12. doi: 10.1002/bies.201400204.
44. Undseth R, Jakobsdottir G, Nyman M, Berstad A, Valeur J. Low serum levels of short-chain fatty acids after lactulose ingestion may indicate impaired colonic fermentation in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Exp Gastroenterol.* 2015 Nov 27;8:303–8. doi: 10.2147/CEG.S94084.
45. Chang C, Lin H. Dysbiosis in gastrointestinal disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2016 Feb;30(1):3–15. doi: 10.1016/j.bpg.2016.02.001.
46. Hold GL. Gastrointestinal Microbiota and Colon Cancer. *Dig Dis.* 2016;34(3):244–50. doi: 10.1159/000443358.
47. Ahmed I, Roy BC, Khan SA, Septer S, Umar S. Microbiome, Metabolome and Inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms.* 2016 Jun 15;4(2). pii: E20. doi: 10.3390/microorganisms4020020.
48. Ситкин С. И., Вахитов Т. Я., Ткаченко Е. И., Орешко Л. С., Жигалова Т. Н., Радченко В. Г., Селиверстов П. В., Авалуева Е. Б., Суворова М. А., Утсаль В. А. Дисбиоз кишечника при язвенном колите и целиакии и его терапевтическая коррекция с помощью масляной кислоты в комбинации с инулином // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2017. – № 6 (142). – С. 77–98.
49. Nachman F, del Campo MP, González A, Corzo L, Vázquez H, Sfoggia C, Smecuol E, Sánchez MI, Niveloni S, Sugai E, Mauriño E, Bai JC. Long-term deterioration of quality of life in adult patients with celiac disease is associated with treatment noncompliance. *Dig Liver Dis.* 2010 Oct;42(10):685–91. doi: 10.1016/j.dld.2010.03.004.
50. Лохов П. Г., Арчаков А. И. Масс-спектрометрические методы в метабомике // *Биомедицинская химия.* – 2008. – Том 54, № 5. – С. 497–511.
51. Гладилович В. Д., Подольская Е. П. Возможности применения метода ГХ–МС (обзор) // *Научное приборостроение.* – 2010. – Том 20, № 4. – С. 36–49.
52. Lei Z, Huhman DV, Sumner LW. Mass spectrometry strategies in metabolomics. *J Biol Chem.* 2011 Jul 22;286(29):25435–42. doi: 10.1074/jbc.R111.238691.
53. Вирюс Э. Д., Иванов А. В., Лузянин Б. П., Пальцын А. А., Кубатиев А. А. Масс-спектрометрия в биологии и медицине XXI века // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2013. – № 4. – С. 68–75.
54. Kohashi M, Nishiumi S, Ooi M, Yoshie T, Matsubara A, Suzuki M, Hoshi N, Kamikozuru K, Yokoyama Y, Fukunaga K, Nakamura S, Azuma T, Yoshida M. A novel gas chromatography mass spectrometry-based serum diagnostic and assessment approach to ulcerative colitis. *J Crohns Colitis.* 2014 Sep;8(9):1010–21. doi: 10.1016/j.crohns.2014.01.024.
55. van Hees NJ, Giltay EJ, Geleijnse JM, Janssen N, van der Does W. DHA serum levels were significantly higher in celiac disease patients compared to healthy controls and were unrelated to depression. *PLoS One.* 2014 May 19;9(5):e97778. doi: 10.1371/journal.pone.0097778.
56. Мороз В. В., Белобородова Н. В., Бедова А. Ю., Ревельский А. И., Гецина М. Л., Осипов А. А., Саршор Ю. Н., Бучинская А. А., Оленин А. Ю. Разработка и адаптация к условиям клинической лаборатории методик газохроматографического определения фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови // *Журнал аналитической химии.* – 2015. – Том 70, № 4. – С. 418–425. – DOI: 10.7868/S004445021504012X.
57. Wiese DM, Horst SN, Brown CT, Allaman MM, Hodges ME, Slaughter JC, Druce JP, Beaulieu DB, Schwartz DA, Wilson KT, Coburn LA. Serum Fatty Acids Are Correlated with Inflammatory Cytokines in Ulcerative Colitis. *PLoS One.* 2016 May 26;11(5):e0156387. doi: 10.1371/journal.pone.0156387.
58. Babushok VI, Linstrom PJ, Reed JJ, Zenkevich IG, Brown RL, Mallard WG, Stein SE. Development of a database of gas chromatographic retention properties of organic compounds. *J Chromatogr A.* 2007 Jul 20;1157(1–2):414–21. doi: 10.1016/j.chroma.2007.05.044.
59. Psychogios N, Hau DD, Peng J, Guo AC, Mandal R, Bouatra S, Sinelnikov I, Krishnamurthy R, Eisner R, Gautam B, Young N, Xia J, Knox C, Dong E, Huang P, Hollander Z, Pedersen TL, Smith SR, Bamforth F, Greiner R, McManus B, Newman JW, Goodfriend T, Wishart DS. The human serum metabolome. *PLoS One.* 2011 Feb 16;6(2):e16957. doi: 10.1371/journal.pone.0016957.
60. Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C, Liu Y, Djoumbou Y, Mandal R, Aziat F, Dong E, Bouatra S, Sinelnikov I, Arndt D, Xia J, Liu P, Yallou F, Bjorn Dahl

- T, Perez-Pineiro R, Eisner R, Allen F, Neveu V, Greiner R, Scalbert A. HMDB 3.0—The Human Metabolome Database in 2013. *Nucleic Acids Res.* 2013 Jan;41(Database issue): D801–7. doi: 10.1093/nar/gks1065.
61. Osipov GA, Verkhovtseva NV. Study of human microecology by mass spectrometry of microbial markers. *Benef Microbes.* 2011 Mar;2(1):63–78. doi: 10.3920/BM2010.0017.
 62. Ktsoyan ZA, Beloborodova NV, Sedrakyan AM, Osipov GA, Khachatryan ZA, Kelly D, Manukyan GP, Arakelova KA, Hovhannisyan AI, Olenin AY, Arakelyan AA, Ghazaryan KA, Aminov RI. Profiles of Microbial Fatty Acids in the Human Metabolome are Disease-Specific. *Front Microbiol.* 2011 Jan 20;1:148. doi: 10.3389/fmicb.2010.00148.
 63. Гржибовский А. М. Типы данных, проверка распределения и описательная статистика // *Экология человека.* – 2008. – № 1. – С. 52–58.
 64. Банержи А. Медицинская статистика понятным языком: вводный курс / пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. – М.: Практическая медицина, 2014. – 287 с.
 65. Гржибовский А. М. Анализ количественных данных для двух независимых групп // *Экология человека.* – 2008. – № 2. – С. 54–61.
 66. Наследов А. SPSS 19: профессиональный статистический анализ данных. – СПб.: Питер, 2011. – 400 с.
 67. Гржибовский А. М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // *Экология человека.* – 2008. – № 3. – С. 50–58.
 68. Гржибовский А. М. Одномерный анализ повторных измерений // *Экология человека.* – 2008. – № 4. – С. 51–60.
 69. Гржибовский А. М. Корреляционный анализ // *Экология человека.* – 2008. – № 9. – С. 50–60.
 70. Гржибовский А. М. Анализ номинальных данных (независимые наблюдения) // *Экология человека.* – 2008. – № 6. – С. 58–68.
 71. Леонов В. П. Логистическая регрессия и ROC-анализ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.biometrika.tomsk.ru/logit_4.htm.
 72. Nishiumi S, Shinohara M, Ikeda A, Yoshie T, Hatano N, Kakuyama S, Mizuno S, Sanuki T, Kutsumi H, Fukusaki E, Azuma T, Takenawa T, Yoshida M. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for pancreatic cancer. *Metabolomics.* 2010;6(4): 518–28. doi: 10.1007/s11306-010-0224-9.
 73. Dibner JJ, Buttin P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *J Appl Poult Res.* 2002;11(4):453–63. doi: 10.1093/japr/11.4.453.
 74. Белобородова Н. В. Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях // *Общая реаниматология.* – 2012. – Т. VIII, № 4. – С. 42–54.
 75. Sharon G, Garg N, Debelius J, Knight R, Dorrestein PC, Mazmanian SK. Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell Metab.* 2014 Nov 4;20(5):719–30. doi: 10.1016/j.cmet.2014.10.016.
 76. Richards JL, Yap YA, McLeod KH, Mackay CR, Mariño E. Dietary metabolites and the gut microbiota: an alternative approach to control inflammatory and autoimmune diseases. *Clin Transl Immunology.* 2016 May 13;5(5): e82. doi: 10.1038/cti.2016.29.
 77. Руденко А. О., Карцова Л. А., Снарский С. И. Определение важнейших аминокислот в сложных объектах биологического происхождения методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением фенилтиогидантоиновых аминокислот // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2010. Т. 10. Вып. 2. – С. 223–230.
 78. Fekkes D. Automated analysis of primary amino acids in plasma by high-performance liquid chromatography. *Methods Mol Biol.* 2012;828:183–200. doi: 10.1007/978-1-61779-445-2_16.
 79. Kumps A, Duez P, Mardens Y. Metabolic, nutritional, iatrogenic, and artifactual sources of urinary organic acids: a comprehensive table. *Clin Chem.* 2002 May;48(5):708–17.
 80. Вахитов Т. Я. Регуляторные функции бактериальных экзометаболитов на внутрипопуляционном и межвидовом уровнях: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.23 – биотехнология. – СПб., 2007–40 с.
 81. Dai ZL, Wu G, Zhu WY. Amino acid metabolism in intestinal bacteria: links between gut ecology and host health. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2011 Jan 1;16:1768–86.
 82. Белобородова Н. В., Байрамов И. Т., Оленин А. Ю., Федотчева Н. И. Экзометаболиты некоторых анаэробных микроорганизмов микрофлоры человека // *Биомедицинская химия.* – 2011. – Т. 57, № 1. – С. 95–105.
 83. Russell WR, Hoyle L, Flint HJ, Dumas ME. Colonic bacterial metabolites and human health. *Curr Opin Microbiol.* 2013 Jun;16(3):246–54. doi: 10.1016/j.mib.2013.07.002.
 84. Вахитов Т. Я., Петров Л. Н. Регуляторные функции экзометаболитов бактерий // *Микробиология.* – 2006. – Т. 75, № 4. – С. 483–488.
 85. Lord RS, Bralley JA. Clinical applications of urinary organic acids. Part 2. Dysbiosis markers. *Altern Med Rev.* 2008 Dec;13(4):292–306.
 86. Полевая Е. В., Вахитов Т. Я., Яковлева Е. П. Штаммоспецифические особенности в составе и динамике карбоновых кислот при выращивании бактерий *Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis* // *Научный журнал КубГАУ.* – 2012. – № 3 (77).
 87. Захарова Ю. В., Сухих А. С. Хроматографический анализ жирных кислот клеточных стенок бифидобактерий с различной гидрофобностью // *Сорбционные и хроматографические процессы.* – 2015. – Т. 15, № 6. – С. 776–783.
 88. Yoshida M, Hatano N, Nishiumi S, Irino Y, Izumi Y, Takenawa T, Azuma T. Diagnosis of gastroenterological diseases by metabolome analysis using gas chromatography-mass spectrometry. *J Gastroenterol.* 2012 Jan;47(1):9–20. doi: 10.1007/s00535-011-0493-8.
 89. De Preter V, Machiels K, Joossens M, Arijis I, Matthys C, Vermeire S, Rutgeerts P, Verbeke K. Faecal metabolite profiling identifies medium-chain fatty acids as discriminating compounds in IBD. *Gut.* 2015 Mar;64(3):447–58. doi: 10.1136/gutjnl-2013-306423.
 90. Uttley L, Whiteman BL, Woods HB, Harnan S, Philips ST, Cree IA; Early Cancer Detection Consortium. Building the Evidence Base of Blood-Based Biomarkers for Early Detection of Cancer: A Rapid Systematic Mapping Review. *EBioMedicine.* 2016 Aug;10:164–73. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.07.004.
 91. Lamaziere A, Wolf C, Quinn PJ. Perturbations of lipid metabolism indexed by lipidomic biomarkers. *Metabolites.* 2012 Jan 4;2(1):1–18. doi: 10.3390/metabo2010001.
 92. Gaber T, Strehl C, Buttgerit F. Metabolic regulation of inflammation. *Nat Rev Rheumatol.* 2017 May;13(5):267–279. doi: 10.1038/nrrheum.2017.37.
 93. Белобородова Н. В., Белобородов С. М. Метаболиты анаэробных бактерий (летучие жирные кислоты) и реактивность макроорганизма // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2000. – Том 45, № 2. – С. 28–36.
 94. Безрукова С. А. Карбоновые кислоты и их функциональные производные: практическое руководство. – Северск: Изд-во СТИ НИЯУМИФИ, 2011. – 34 с.
 95. Zheng X, Qiu Y, Zhong W, Baxter S, Su M, Li Q, Xie G, Ore BM, Qiao S, Spencer MD, Zeisel SH, Zhou Z, Zhao

- A, Jia W. A targeted metabolomic protocol for short-chain fatty acids and branched-chain amino acids. *Metabolomics*. 2013 Aug 1;9(4):818–827. doi: 10.1007/s11306-013-0500-6.
96. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 2014;121:91–119. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9.
97. Shetty SA, Marathe NP, Lanjekar V, Ranade D, Shouche YS. Comparative genome analysis of *Megasphaera* sp. reveals niche specialization and its potential role in the human gut. *PLoS One*. 2013 Nov 18;8(11): e79353. doi: 10.1371/journal.pone.0079353.
98. Zhu X, Tao Y, Liang C, Li X, Wei N, Zhang W, Zhou Y, Yang Y, Bo T. The synthesis of n-caproate from lactate: a new efficient process for medium-chain carboxylates production. *Sci Rep*. 2015 Sep 25;5:14360. doi: 10.1038/srep14360.
99. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005 Mar 25;307(5717):1915–20. doi: 10.1126/science.1104816.
100. Домарадский И. В., Хохоев Т. Х., Кондракова О. А., Дубинин А. В., Вострухов С. В., Бабин В. Н. Противоречивая микроэкология // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI, № 3. – С. 80–89.
101. Mar Rodríguez M, Pérez D, Javier Chaves F, Esteve E, Marin-Garcia P, Xifra G, Vendrell J, Jové M, Pamplona R, Ricart W, Portero-Otin M, Chacón MR, Fernández Real JM. Obesity changes the human gut microbiome. *Sci Rep*. 2015 Oct 12;5:14600. doi: 10.1038/srep14600.
102. Huang CB, Alimova Y, Myers TM, Ebersole JL. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Arch Oral Biol*. 2011 Jul;56(7):650–4. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.01.011.
103. Garner CE, Smith S, de Lacy Costello B, White P, Spencer R, Probert CS, Ratcliffe NM. Volatile organic compounds from feces and their potential for diagnosis of gastrointestinal disease. *FASEB J*. 2007 Jun;21(8):1675–88. doi: 10.1096/fj.06-6927com.
104. Narayanan A, Baskaran SA, Amalaradjou MA, Venkitanarayanan K. Anticarcinogenic properties of medium chain fatty acids on human colorectal, skin and breast cancer cells in vitro. *Int J Mol Sci*. 2015 Mar 5;16(3):5014–27. doi: 10.3390/ijms16035014.
105. Вахитов Т. Я., Чалисова Н. И., Ситкин С. И., Салль Т. С., Шалаева О. Н., Демьянова Е. В., Морузина А. С., Виноградова А. Ф., Петров А. В., Ноздрачев А. Д. Низкомолекулярные компоненты метаболома крови регулируют пролиферативную активность в клеточных и бактериальных культурах // Доклады Академии наук. – 2017. – Том 472, № 4. – С. 491–493. – DOI: 10.7868/S0869565217040284.
106. Vakhitov TY, Chalisova NI, Sitkin SI, Sall TS, Shalaeva ON, Demyanova EV, Morugina AS, Vinogradova AF, Petrov AV, Nozdrachev AD. Low-molecular-weight components of the metabolome control the proliferative activity in cellular and bacterial cultures. *Dokl Biol Sci*. 2017 Jan;472(1):8–10. doi: 10.1134/S0012496617010069.
107. Scher JU, Ubeda C, Artacho A, Attur M, Isaac S, Reddy SM, Marmon S, Neimann A, Brusca S, Patel T, Manasson J, Pamer EG, Littman DR, Abramson SB. Decreased bacterial diversity characterizes the altered gut microbiota in patients with psoriatic arthritis, resembling dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Jan;67(1):128–39. doi: 10.1002/art.38892.
108. Di Cagno R, De Angelis M, De Pasquale I, Ndagijimana M, Vernocchi P, Ricciuti P, Gagliardi F, Laghi L, Crecchio C, Guerzoni ME, Gobbetti M, Francavilla R. Duodenal and faecal microbiota of celiac children: molecular, phenotype and metabolome characterization. *BMC Microbiol*. 2011 Oct 4;11:219. doi: 10.1186/1471-2180-11-219.
109. Терешина Е. В. Роль жирных кислот в развитии возрастного окислительного стресса. Гипотеза // Успехи геронтологии. – 2007. – Том 20, № 1. – С. 59–65.
110. Brolinson A. Regulation of Elov1 and fatty acid metabolism. Doctoral thesis from the department of Physiology, The Wenner-Gren Institute, Stockholm University. Stockholm 2009. 58 p.
111. Matsuzaka T, Shimano H. Elov16: a new player in fatty acid metabolism and insulin sensitivity. *J Mol Med (Berl)*. 2009 Apr;87(4):379–84. doi: 10.1007/s00109-009-0449-0.
112. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2003;916: i-viii, 1–149.
113. Valli A, Rodriguez M, Moutsianas L, Fischer R, Fedele V, Huang HL, Van Stiphout R, Jones D, McCarthy M, Vinaxia M, Igarashi K, Sato M, Soga T, Buffa F, McCullagh J, Yanes O, Harris A, Kessler B. Hypoxia induces a lipogenic cancer cell phenotype via HIF1a-dependent and -independent pathways. *Oncotarget*. 2015 Feb 10;6(4):1920–41. doi: 10.18632/oncotarget.3058.
114. Wei X, Yang Z, Rey FE, Ridaura VK, Davidson NO, Gordon JI, Semenkovich CF. Fatty acid synthase modulates intestinal barrier function through palmitoylation of mucin 2. *Cell Host Microbe*. 2012 Feb 16;11(2):140–52. doi: 10.1016/j.chom.2011.12.006.
115. Shores DR, Binion DG, Freeman BA, Baker PR. New insights into the role of fatty acids in the pathogenesis and resolution of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Oct;17(10):2192–204. doi: 10.1002/ibd.21560.
116. Lands B. Benefit-Risk Assessment of Fish Oil in Preventing Cardiovascular Disease. *Drug Saf*. 2016 Sep;39(9):787–99. doi: 10.1007/s40264-016-0438-5.
117. Uusitalo L, Nevalainen J, Salminen I, Ovasikainen ML, Kronberg-Kippilä C, Ahonen S, Niinistö S, Alftan G, Simell O, Ilonen J, Veijola R, Knip M, Virtanen SM. Fatty acids in serum and diet – a canonical correlation analysis among toddlers. *Matern Child Nutr*. 2013 Jul;9(3):381–95. doi: 10.1111/j.1740-8709.2011.00374.x.
118. Ramsden CE, Ringel A, Feldstein AE, Taha AY, MacIntosh BA, Hibbeln JR, Majchrzak-Hong SF, Faurot KR, Rapoport SI, Cheon Y, Chung YM, Berk M, Mann JD. Lowering dietary linoleic acid reduces bioactive oxidized linoleic acid metabolites in humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2012 Oct-Nov;87(4–5):135–41. doi: 10.1016/j.plefa.2012.08.004.
119. Tjonneland A, Overvad K, Bergmann MM, Nagel G, Linseisen J, Hallmans G, Palmqvist R, Sjodin H, Haglund G, Berglund G, Lindgren S, Grip O, Palli D, Day NE, Khaw KT, Bingham S, Riboli E, Kennedy H, Hart A. (IBD in EPIC Study Investigators) Linoleic acid, a dietary n-6 polyunsaturated fatty acid, and the aetiology of ulcerative colitis: a nested case-control study within a European prospective cohort study. *Gut*. 2009 Dec;58(12):1606–11. doi: 10.1136/gut.2008.169078.
120. Johnson GH, Fritsche K. Effect of dietary linoleic acid on markers of inflammation in healthy persons: a systematic review of randomized controlled trials. *J Acad Nutr Diet*. 2012 Jul;112(7):1029–41. doi: 10.1016/j.jand.2012.03.029.
121. Liou YA, Innis SM. Dietary linoleic acid has no effect on arachidonic acid, but increases n-6 eicosadienoic acid, and lowers dihomo-gamma-linolenic and eicosapentaenoic acid in plasma of adult men. *Prostaglandins*

- Leukot Essent Fatty Acids. 2009 Apr;80(4):201–6. doi: 10.1016/j.plefa.2009.02.003.
122. Poudel-Tandukar K, Nanri A, Matsushita Y, Sasaki S, Ohta M, Sato M, Mizoue T. Dietary intakes of alpha-linolenic and linoleic acids are inversely associated with serum C-reactive protein levels among Japanese men. *Nutr Res*. 2009 Jun;29(6):363–70. doi: 10.1016/j.nutres.2009.05.012.
 123. Weigert C, Brodbeck K, Staiger H, Kausch C, Machicao F, Häring HU, Schleicher ED. Palmitate, but not unsaturated fatty acids, induces the expression of interleukin-6 in human myotubes through proteasome-dependent activation of nuclear factor-kappaB. *J Biol Chem*. 2004 Jun 4;279(23):23942–52. doi: 10.1074/jbc.M312692200.
 124. Kaska L, Mika A, Stepnowski P, Proczko M, Ratnicki-Sklucki K, Sledzinski T, Goyke E, Swierczynski J. The relationship between specific Fatty acids of serum lipids and serum high sensitivity C-reactive protein levels in morbidly obese women. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(4):1101–8. doi: 10.1159/000366324.
 125. de Mello VD, Paananen J, Lindström J, Lankinen MA, Shi L, Kuusisto J, Pihlajamäki J, Auriola S, Lehtonen M, Rolandsson O, Bergdahl IA, Nordin E, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Landberg R, Eriksson JG, Tuomilehto J, Hanhineva K, Uusitupa M. Indolepropionic acid and novel lipid metabolites are associated with a lower risk of type 2 diabetes in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Sci Rep*. 2017 Apr 11;7:46337. doi: 10.1038/srep46337.
 126. Banni S. Conjugated linoleic acid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2002 Jun;13(3):261–6.
 127. Coakley M, Ross RP, Nordgren M, Fitzgerald G, Devery R, Stanton C. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived *Bifidobacterium* species. *J Appl Microbiol*. 2003;94(1):138–45.
 128. Ogawa J, Kishino S, Ando A, Sugimoto S, Mihara K, Shimizu S. Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J Biosci Bioeng*. 2005 Oct;100(4):355–64. doi: 10.1263/jbb.100.355.
 129. Macouzet M, Lee BH, Robert N. Production of conjugated linoleic acid by probiotic *Lactobacillus acidophilus* La-5. *J Appl Microbiol*. 2009 Jun;106(6):1886–91. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04164.x.
 130. Bassaganya-Riera J, Viladomiu M, Pedragosa M, De Simone C, Carbo A, Shaykhutdinov R, Jobin C, Arthur JC, Corl BA, Vogel H, Storr M, Hontecillas R. Probiotic bacteria produce conjugated linoleic acid locally in the gut that targets macrophage PPAR γ to suppress colitis. *PLoS One*. 2012;7(2): e31238. doi: 10.1371/journal.pone.0031238.
 131. Devillard E, McIntosh FM, Duncan SH, Wallace RJ. Metabolism of linoleic acid by human gut bacteria: different routes for biosynthesis of conjugated linoleic acid. *J Bacteriol*. 2007 Mar;189(6):2566–70. doi: 10.1128/JB.01359-06.
 132. O'Shea EF, Cotter PD, Stanton C, Ross RP, Hill C. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid. *Int J Food Microbiol*. 2012 Jan 16;152(3):189–205. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.025.
 133. Aydin R. Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources and biological properties. *Turk J Vet Anim Sci*. 2005;29:189–95.
 134. Dilzer A, Park Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2012;52(6):488–513. doi: 10.1080/10408398.2010.501409.
 135. Iwanaga K, Nakamura T, Maeda S, Aritake K, Hori M, Urade Y, Ozaki H, Murata T. Mast cell-derived prostaglandin D2 inhibits colitis and colitis-associated colon cancer in mice. *Cancer Res*. 2014 Jun 1;74(11):3011–9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2792.
 136. Stenson WF. The universe of arachidonic acid metabolites in inflammatory bowel disease: can we tell the good from the bad? *Curr Opin Gastroenterol*. 2014 Jul;30(4):347–51. doi: 10.1097/MOG.0000000000000075.
 137. Brash AR. Arachidonic acid as a bioactive molecule. *J Clin Invest*. 2001 Jun;107(11):1339–45. doi: 10.1172/JCI13210.
 138. de Silva PS, Luben R, Shrestha SS, Khaw KT, Hart AR. Dietary arachidonic and oleic acid intake in ulcerative colitis etiology: a prospective cohort study using 7-day food diaries. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jan;26(1):11–8. doi: 10.1097/MEG.0b013e328365c372.
 139. Quehenberger O, Armando AM, Brown AH, Milne SB, Myers DS, Merrill AH, Bandyopadhyay S, Jones KN, Kelly S, Shaner RL, Sullards CM, Wang E, Murphy RC, Barkley RM, Leiker TJ, Raetz CR, Guan Z, Laird GM, Six DA, Russell DW, McDonald JG, Subramaniam S, Fahy E, Dennis EA. Lipidomics reveals a remarkable diversity of lipids in human plasma. *J Lipid Res*. 2010 Nov;51(11):3299–305. doi: 10.1194/jlr.M009449.
 140. Tanaka T, Uozumi S, Morito K, Osumi T, Tokumura A. Metabolic conversion of C20 polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acids to essential fatty acids. *Lipids*. 2014 May;49(5):423–9. doi: 10.1007/s11745-014-3896-5.
 141. Huang YS, Huang WC, Li CW, Chuang LT. Eicosadienoic acid differentially modulates production of pro-inflammatory modulators in murine macrophages. *Mol Cell Biochem*. 2011 Dec;358(1–2):85–94. doi: 10.1007/s11010-011-0924-0.
 142. Idborg H, Olsson P, Leclerc P, Raouf J, Jakobsson PJ, Korotkova M. Effects of mPGES-1 deletion on eicosanoid and fatty acid profiles in mice. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2013 Dec;107:18–25. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2013.07.004.
 143. Forouhi NG, Imamura F, Sharp SJ, Koulman A, Schulze MB, Zheng J, Ye Z, Sluijs I, Guevara M, Huerta JM, Kröger J, Wang LY, Summerhill K, Griffin JL, Feskens EJ, Affret A, Amiano P, Boeing H, Dow C, Fagherazzi G, Franks PW, Gonzalez C, Kaaks R, Key TJ, Khaw KT, Kühn T, Mortensen LM, Nilsson PM, Overvad K, Pala V, Palli D, Panico S, Quirós JR, Rodriguez-Barranco M, Rolandsson O, Sacerdote C, Scalbert A, Slimani N, Spijkerman AM, Tjønneland A, Tormo MJ, Tumino R, van der A DL, van der Schouw YT, Langenberg C, Riboli E, Wareham NJ. Association of Plasma Phospholipid n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acids with Type 2 Diabetes: The EPIC-InterAct Case-Cohort Study. *PLoS Med*. 2016 Jul 19;13(7): e1002094. doi: 10.1371/journal.pmed.1002094.
 144. Drbal A. Studies on bioactive lipid mediators involved in brain function and neurodegenerative disorders: the effect of ω -3PUFA supplementation and lithium treatment on rat brain sphingomyelin species and endocannabinoids formation: changes in oxysterol profiles in blood of ALS patients and animal models of ALS. University of Bradford Doctoral Thesis (Ph.D.) 2013. ETHOS ID: uk.bl.ethos.600435.
 145. Raouf J, Idborg H, Olsson P, Jakobsson PJ, Lundberg IE, Korotkova M. Altered Serum Fatty Acid Profiles in Patients with Polymyositis or Dermatomyositis Compared to Healthy Individuals and in Relation to Immunosuppressive Treatment [abstract]. *Arthritis Rheumatol*. 2015; 67 Suppl 10.
 146. Wang Y, Liu D, Li Y, Guo L, Cui Y, Zhang X, Li E. Metabolomic analysis of serum from obese adults with

- hyperlipemia by UHPLC-Q-TOF MS/MS. *Biomed Chromatogr.* 2016 Jan;30(1):48–54. doi: 10.1002/bmc.3491.
147. Tanaka T, Shen J, Abecasis GR, Kisialiou A, Ordovas JM, Guralnik JM, Singleton A, Bandinelli S, Cherubini A, Arnett D, Tsai MY, Ferrucci L. Genome-wide association study of plasma polyunsaturated fatty acids in the InCHIANTI Study. *PLoS Genet.* 2009 Jan;5(1):e1000338. doi: 10.1371/journal.pgen.1000338.
148. Li SW, Wang J, Yang Y, Liu ZJ, Cheng L, Liu HY, Ma P, Luo W, Liu SM. Polymorphisms in FADS 1 and FADS2 alter plasma fatty acids and desaturase levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *J Transl Med.* 2016 Mar 22;14:79. doi: 10.1186/s12967-016-0834-8.
149. Mocking RJ, Lok A, Assies J, Koeter MW, Visser I, Ruhé HG, Bockting CL, Schene AH. Ala54Thr fatty acid-binding protein 2 (FABP2) polymorphism in recurrent depression: associations with fatty acid concentrations and waist circumference. *PLoS One.* 2013 Dec 10;8(12):e82980. doi: 10.1371/journal.pone.0082980.
150. Pereira DM, Correia-da-Silva G, Valentão P, Teixeira N, Andrade PB. Anti-inflammatory effect of unsaturated fatty acids and Ergosta-7,22-dien-3-ol from *Marthasterias glacialis*: prevention of CHOP-mediated ER-stress and NF- κ B activation. *PLoS One.* 2014 Feb 13;9(2):e88341. doi: 10.1371/journal.pone.0088341.
151. Ma Y, Liu W, Peng J, Huang L, Zhang P, Zhao X, Cheng Y, Qin H. A pilot study of gas chromatograph/mass spectrometry-based serum metabolic profiling of colorectal cancer after operation. *Mol Biol Rep.* 2010 Mar;37(3):1403–11. doi: 10.1007/s11033-009-9524-4.
152. Zhang Y, He C, Qiu L, Wang Y, Qin X, Liu Y, Li Z. Serum Unsaturated Free Fatty Acids: A Potential Biomarker Panel for Early-Stage Detection of Colorectal Cancer. *J Cancer.* 2016 Jan 29;7(4):477–83. doi: 10.7150/jca.13870.
153. Urayama S, Zou W, Brooks K, Tolstikov V. Comprehensive mass spectrometry based metabolic profiling of blood plasma reveals potent discriminatory classifiers of pancreatic cancer. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2010 Mar 15;24(5):613–20. doi: 10.1002/rcm.4420.
154. Xue R, Lin Z, Deng C, Dong L, Liu T, Wang J, Shen X. A serum metabolomic investigation on hepatocellular carcinoma patients by chemical derivatization followed by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2008 Oct;22(19):3061–8. doi: 10.1002/rcm.3708.
155. Poudel-Tandukar K, Sato M, Ejima Y, Nanri A, Matsushita Y, Imaizumi K, Mizoue T. Relationship of serum fatty acid composition and desaturase activity to C-reactive protein in Japanese men and women. *Atherosclerosis.* 2012 Feb;220(2):520–4. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.11.012.
156. Jia HJ, Zhang PJ, Liu YL, Jiang CG, Zhu X, Tian YP. Relationship of serum polyunsaturated fatty acids with cytokines in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2016 Feb 28;22(8):2524–32. doi: 10.3748/wjg.v22.i8.2524.
157. Liu J, Mazzone PJ, Cata JP, Kurz A, Bauer M, Mascha EJ, Sessler DI. Serum free fatty acid biomarkers of lung cancer. *Chest.* 2014 Sep;146(3):670–9. doi: 10.1378/chest.13-2568.
158. Rodríguez-Carrio J, Alperi-López M, López P, Ballina-García FJ, Suárez A. Non-Esterified Fatty Acids Profiling in Rheumatoid Arthritis: Associations with Clinical Features and Th1 Response. *PLoS One.* 2016 Aug 3;11(8):e0159573. doi: 10.1371/journal.pone.0159573.
159. Fritsche KL. Too much linoleic acid promotes inflammation-doesn't it? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008 Sep-Nov;79(3–5):173–5. doi: 10.1016/j.plefa.2008.09.019.
160. Hokari R, Matsunaga H, Miura S. Effect of dietary fat on intestinal inflammatory diseases. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Dec;28 Suppl 4:33–6. doi: 10.1111/jgh.12252.
161. Honda KL, Lamon-Fava S, Matthan NR, Wu D, Lichtenstein AH. Docosahexaenoic acid differentially affects TNF α and IL-6 expression in LPS-stimulated RAW 264.7 murine macrophages. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2015 Jun;97:27–34. doi: 10.1016/j.plefa.2015.03.002.
162. Le Loupp AG, Bach-Ngohou K, Bettan A, Denis M, Masson D. Dual role for prostaglandin D2 in intestinal epithelial homeostasis. *Med Sci (Paris).* 2015 Jun-Jul;31(6–7):617–21. doi: 10.1051/medsci/20153106014.
163. Esteve-Comas M, Ramírez M, Fernández-Bañares F, Abad-Lacruz A, Gil A, Cabré E, González-Huix F, Moreno J, Humbert P, Guileria M, Boix J, Gassull MA. Plasma polyunsaturated fatty acid pattern in active inflammatory bowel disease. *Gut.* 1992 Oct;33(10):1365–9.
164. Esteve-Comas M, Núñez MC, Fernández-Bañares F, Abad-Lacruz A, Gil A, Cabré E, González-Huix F, Bertrán X, Gassull MA. Abnormal plasma polyunsaturated fatty acid pattern in non-active inflammatory bowel disease. *Gut.* 1993 Oct;34(10):1370–3.
165. Figler M, Gasztonyi B, Cseh J, Horváth G, Kisbenedek AG, Bokor S, Decsi T. Association of n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids in plasma lipid classes with inflammatory bowel diseases. *Br J Nutr.* 2007 Jun;97(6):1154–61. doi: 10.1017/S0007114507682956.
166. Socha P, Ryzko J, Koletzko B, Celinska-Cedro D, Woynarowski M, Czubkowski P, Socha J. Essential fatty acid depletion in children with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2005 May;40(5):573–7. doi: 10.1080/00365520510012136.
167. Karrasch T, Obermeier F, Straub RH. Systemic metabolic signaling in acute and chronic gastrointestinal inflammation of inflammatory bowel diseases. *Horm Metab Res.* 2014 Jun;46(6):445–51. doi: 10.1055/s-0034-1374587.
168. Romanato G, Scarpa M, Angriman I, Faggian D, Ruffolo C, Marin R, Zambon S, Basato S, Zanoni S, Filosa T, Pilon F, Manzato E. Plasma lipids and inflammation in active inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009 Feb 1;29(3):298–307. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03886.x.
169. Masoodi M, Pearl DS, Eiden M, Shute JK, Brown JF, Calder PC, Trebble TM. Altered colonic mucosal Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) derived lipid mediators in ulcerative colitis: new insight into relationship with disease activity and pathophysiology. *PLoS One.* 2013 Oct 18;8(10):e76532. doi: 10.1371/journal.pone.0076532.
170. Solakivi T, Kaukinen K, Kunnas T, Lehtimäki T, Mäki M, Nikkari ST. Serum fatty acid profile in celiac disease patients before and after a gluten-free diet. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44(7):826–30. doi: 10.1080/00365520902912589.
171. Riezzo G, Ferreri C, Orlando A, Martulli M, D'Atto B, Russo F. Lipidomic analysis of fatty acids in erythrocytes of coeliac patients before and after a gluten-free diet intervention: a comparison with healthy subjects. *Br J Nutr.* 2014 Dec 14;112(11):1787–96. doi: 10.1017/S0007114514002815.
172. Pan DA, Lillioja S, Milner MR, Kriketos AD, Baur LA, Bogardus C, Storlien LH. Skeletal muscle membrane lipid composition is related to adiposity and insulin action. *J Clin Invest.* 1995 Dec;96(6):2802–8. doi: 10.1172/JCI118350.

173. Devillard E, McIntosh FM, Duncan SH, Wallace RJ. Metabolism of linoleic acid by human gut bacteria: different routes for biosynthesis of conjugated linoleic acid. *J Bacteriol*. 2007 Mar;189(6):2566–70. doi: 10.1128/JB.01359–06.
174. Martinelli N, Girelli D, Malerba G, Guarini P, Illig T, Trabetti E, Sandri M, Friso S, Pizzolo F, Schaeffer L, Heinrich J, Pignatti PF, Corrocher R, Olivieri O. FADS genotypes and desaturase activity estimated by the ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease. *Am J Clin Nutr*. 2008 Oct;88(4):941–9.
175. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res*. 2008 Sep;47(5):348–80. doi: 10.1016/j.plipres.2008.03.003.
176. Kishino S, Takeuchi M, Park SB, Hirata A, Kitamura N, Kunisawa J, Kiyono H, Iwamoto R, Isobe Y, Arita M, Arai H, Ueda K, Shima J, Takahashi S, Yokozeki K, Shimizu S, Ogawa J. Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Oct 29;110(44):17808–13. doi: 10.1073/pnas.1312937110.
177. Druart C, Neyrinck AM, Vlaeminck B, Fievez V, Cani PD, Delzenne NM. Role of the lower and upper intestine in the production and absorption of gut microbiota-derived PUFA metabolites. *PLoS One*. 2014 Jan 27;9(1):e87560. doi: 10.1371/journal.pone.0087560.
178. Zhang LS, Davies SS. Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for new therapeutic interventions. *Genome Med*. 2016 Apr 21;8(1):46. doi: 10.1186/s13073-016-0296-x.
179. Guillou H, Zdravcov D, Martin PG, Jacobsson A. The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: Insights from transgenic mice. *Prog Lipid Res*. 2010 Apr;49(2):186–99. doi: 10.1016/j.plipres.2009.12.002.
180. Hudgins LC, Hellerstein M, Seidman C, Neese R, Diakun J, Hirsch J. Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. *J Clin Invest*. 1996 May 1;97(9):2081–91. doi: 10.1172/JCI118645.
181. Chong MF, Hodson L, Bickerton AS, Roberts R, Neville M, Karpe F, Frayn KN, Fielding BA. Parallel activation of de novo lipogenesis and stearoyl-CoA desaturase activity after 3 d of high-carbohydrate feeding. *Am J Clin Nutr*. 2008 Apr;87(4):817–23.
182. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JL. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Nov 2;101(44):15718–23. doi: 10.1073/pnas.0407076101.
183. Muccioli GG, Naslain D, Bäckhed F, Reigstad CS, Lambert DM, Delzenne NM, Cani PD. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol*. 2010 Jul;6:392. doi: 10.1038/msb.2010.46.
184. Dahiya DK, Renuka, Puniya M, Shandilya UK, Dhewa T, Kumar N, Kumar S, Puniya AK, Shukla P. Gut Microbiota Modulation and Its Relationship with Obesity Using Prebiotic Fibers and Probiotics: A Review. *Front Microbiol*. 2017 Apr 4;8:563. doi: 10.3389/fmicb.2017.00563.
185. Kersten S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO Rep*. 2001 Apr;2(4):282–6. doi: 10.1093/embo-reports/kve071.
186. Consolazio A, Alò PL, Rivera M, Iacopini F, Paoluzi OA, Crispino P, Pica R, Paoluzi P. Overexpression of fatty acid synthase in ulcerative colitis. *Am J Clin Pathol*. 2006 Jul;126(1):113–8. doi: 10.1309/PUBV-QNDN-VQKJ-VC8M.
187. Cruz MD, Wali RK, Bianchi LK, Radosevich AJ, Crawford SE, Jepeal L, Goldberg MJ, Weinstein J, Momi N, Roy P, Calderwood AH, Backman V, Roy HK. Colonic mucosal fatty acid synthase as an early biomarker for colorectal neoplasia: modulation by obesity and gender. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014 Nov;23(11):2413–21. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0026.
188. Matsuo S, Yang WL, Aziz M, Kameoka S, Wang P. Fatty acid synthase inhibitor C75 ameliorates experimental colitis. *Mol Med*. 2014 Jan 17;20:1–9. doi: 10.2119/molmed.2013.00113.
189. Angeles TS, Hudkins RL. Recent advances in targeting the fatty acid biosynthetic pathway using fatty acid synthase inhibitors. *Expert Opin Drug Discov*. 2016 Dec;11(12):1187–1199. doi: 10.1080/17460441.2016.1245286.
190. Wang R, Gu X, Dai W, Ye J, Lu F, Chai Y, Fan G, Gonzalez FJ, Duan G, Qi Y. A lipidomics investigation into the intervention of celastrol in experimental colitis. *Mol Biosyst*. 2016 Apr 26;12(5):1436–44. doi: 10.1039/c5mb00864f.
191. Martinelli N, Consoli L, Olivieri O. A 'desaturase hypothesis' for atherosclerosis: Janus-faced enzymes in omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acid metabolism. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2009;2(3):129–39. doi: 10.1159/000238177.
192. Yang K, Li H, Dong J, Dong Y, Wang CZ. Expression profile of polyunsaturated fatty acids in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2015 Feb 28;21(8):2405–12. doi: 10.3748/wjg.v21.i8.2405.
193. Segal LN, Clemente JC, Wu BG, Wikoff WR, Gao Z, Li Y, Ko JP, Rom WN, Blaser MJ, Weiden MD. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial with azithromycin selects for anti-inflammatory microbial metabolites in the emphysematous lung. *Thorax*. 2017 Jan;72(1):13–22. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208599.
194. Li M, Wang B, Zhang M, Rantalainen M, Wang S, Zhou H, Zhang Y, Shen J, Pang X, Zhang M, Wei H, Chen Y, Lu H, Zuo J, Su M, Qiu Y, Jia W, Xiao C, Smith LM, Yang S, Holmes E, Tang H, Zhao G, Nicholson JK, Li L, Zhao L. Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Feb 12;105(6):2117–22. doi: 10.1073/pnas.0712038105.
195. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, Codelli JA, Chow J, Reisman SE, Petrosino JF, Patterson PH, Mazmanian SK. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*. 2013 Dec 19;155(7):1451–63. doi: 10.1016/j.cell.2013.11.024.
196. Chen HH, Tseng YJ, Wang SY, Tsai YS, Chang CS, Kuo TC, Yao WJ, Shieh CC, Wu CH, Kuo PH. The metabolome profiling and pathway analysis in metabolic healthy and abnormal obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2015 Aug;39(8):1241–8. doi: 10.1038/ijo.2015.65.
197. Belenguer A, Duncan SH, Holtrop G, Anderson SE, Lobley GE, Flint HJ. Impact of pH on lactate formation and utilization by human fecal microbial communities. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Oct;73(20):6526–33.
198. Pessione E. Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012 Jun 22;2:86. doi: 10.3389/fcimb.2012.00086.
199. Hove H, Holtug K, Jeppesen PB, Mortensen PB. Butyrate absorption and lactate secretion in ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum*. 1995 May;38(5):519–25.
200. Song WB, Lv YH, Zhang ZS, Li YN, Xiao LP, Yu XP, Wang YY, Ji HL, Ma L. Soluble intercellular adhesion molecule-1, D-lactate and diamine oxidase in patients

- with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2009 Aug 21;15(31):3916–9.
201. Xie Q, Gan HT. Controversies about the use of serological markers in diagnosis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2010 Jan 14;16(2):279–80.
202. Williams HR, Willmore JD, Cox IJ, Walker DG, Cobbold JF, Taylor-Robinson SD, Orchard TR. Serum metabolic profiling in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*. 2012 Aug;57(8):2157–65. doi: 10.1007/s10620-012-2127-2.
203. Dawiskiba T, Deja S, Mulak A, Zqbek A, Jawieñ E, Pawelka D, Banasik M, Mastalerz-Migas A, Balcerzak W, Kaliszewski K, Skóra J, Barć P, Korta K, Pormańczuk K, Szyber P, Litarski A, Młynarz P. Serum and urine metabolomic fingerprinting in diagnostics of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*. 2014 Jan 7;20(1):163–74. doi: 10.3748/wjg.v20.i1.163.
204. Spratlin JL, Serkova NJ, Eckhardt SG. Clinical applications of metabolomics in oncology: a review. *Clin Cancer Res*. 2009 Jan 15;15(2):431–40. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1059.
205. Kouremenos KA, Johansson M, Marriott PJ. Advances in gas chromatographic methods for the identification of biomarkers in cancer. *J Cancer*. 2012;3:404–20. doi: 10.7150/jca.4956.
206. Dutta M, Joshi M, Srivastava S, Lodh I, Chakravarty B, Chaudhury K. A metabonomics approach as a means for identification of potential biomarkers for early diagnosis of endometriosis. *Mol Biosyst*. 2012 Oct 30;8(12):3281–7. doi: 10.1039/c2mb25353d.
207. Komaromy-Hiller G, Sundquist PD, Jacobsen LJ, Nuttall KL. Serum succinate by capillary zone electrophoresis: marker candidate for hypoxia. *Ann Clin Lab Sci*. 1997 Mar-Apr;27(2):163–8.
208. Bertini I, Calabrò A, De Carli V, Luchinat C, Nepi S, Porfirio B, Renzi D, Saccenti E, Tenori L. The metabolomic signature of celiac disease. *J Proteome Res*. 2009 Jan;8(1):170–7. doi: 10.1021/pr800548z.
209. Fathi F, Ektefa F, Arefi Oskouie A, Rostami K, Rezaei-Tavirani M, Mohammad Alizadeh AH, Tafazzoli M, Rostami Nejad M. NMR based metabonomics study on celiac disease in the blood serum. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2013 Fall;6(4):190–4.
210. Chassard C, Dapoigny M, Scott KP, Crouzet L, Del'homme C, Marquet P, Martin JC, Pickering G, Ardid D, Eschalier A, Dubray C, Flint HJ, Bernalier-Donadille A. Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012 Apr;35(7):828–38. doi: 10.1111/j.1365-2036.2012.05007.x.
211. Duncan SH, Louis P, Thomson JM, Flint HJ. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota. *Environ Microbiol*. 2009 Aug;11(8):2112–22. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01931.x.
212. Marquet P, Duncan SH, Chassard C, Bernalier-Donadille A, Flint HJ. Lactate has the potential to promote hydrogen sulphide formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett*. 2009 Oct;299(2):128–34. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01750.x.
213. Belenguer A, Holtrop G, Duncan SH, Anderson SE, Calder AG, Flint HJ, Lobley GE. Rates of production and utilization of lactate by microbial communities from the human colon. *FEMS Microbiol Ecol*. 2011 Jul;77(1):107–19. doi: 10.1111/j.1574-6941.2011.01086.x.
214. Hulin SJ, Singh S, Chapman MA, Allan A, Langman MJ, Eggo MC. Sulphide-induced energy deficiency in colonic cells is prevented by glucose but not by butyrate. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002 Feb;16(2):325–31.
215. Pitcher MC, Cummings JH. Hydrogen sulphide: a bacterial toxin in ulcerative colitis? *Gut*. 1996 Jul;39(1):1–4.
216. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Plewa MJ, Gaskins HR. Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. *Mol Cancer Res*. 2006 Jan;4(1):9–14. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-05-0126.
217. Rowan FE, Docherty NG, Coffey JC, O'Connell PR. Sulphate-reducing bacteria and hydrogen sulphide in the aetiology of ulcerative colitis. *Br J Surg*. 2009 Feb;96(2):151–8. doi: 10.1002/bjs.6454.
218. Rowan F, Docherty NG, Murphy M, Murphy B, Calvin Coffey J, O'Connell PR. *Desulfovibrio* bacterial species are increased in ulcerative colitis. *Dis Colon Rectum*. 2010 Nov;53(11):1530–6. doi: 10.1007/DCR.0b013e-3181f1e620.
219. Cai WJ, Wang MJ, Ju LH, Wang C, Zhu YC. Hydrogen sulfide induces human colon cancer cell proliferation: role of Akt, ERK and p21. *Cell Biol Int*. 2010 Apr 14;34(6):565–72. doi: 10.1042/CBI20090368.
220. Khalil NA, Walton GE, Gibson GR, Tuohy KM, Andrews SC. In vitro batch cultures of gut microbiota from healthy and ulcerative colitis (UC) subjects suggest that sulphate-reducing bacteria levels are raised in UC and by a protein-rich diet. *Int J Food Sci Nutr*. 2014 Feb;65(1):79–88. doi: 10.3109/09637486.2013.825700.
221. Ando T, Rasmussen K, Nyhan WL, Hull D. 3-hydroxypropionate: significance of -oxidation of propionate in patients with propionic acidemia and methylmalonic acidemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1972 Oct;69(10):2807–11.
222. Shchelochkov OA, Carrillo N, Venditti C. Propionic Acidemia. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Bird TD, Ledbetter N, Mefford HC, Smith RJH, Stephens K, editors. *SourceGeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2017.
223. Haan E, Brown G, Bankier A, Mitchell D, Hunt S, Blakey J, Barnes G. Severe illness caused by the products of bacterial metabolism in a child with a short gut. *Eur J Pediatr*. 1985 May;144(1):63–5.
224. Pollitt RJ, Fowler B, Sardharwalla IB, Edwards MA, Gray RG. Increased excretion of propan-1,3-diol and 3-hydroxypropionic acid apparently caused by abnormal bacterial metabolism in the gut. *Clin Chim Acta*. 1987 Nov 16;169(2–3):151–7.
225. Ikeda A, Nishiumi S, Shinohara M, Yoshie T, Hatano N, Okuno T, Bamba T, Fukusaki E, Takenawa T, Azuma T, Yoshida M. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for gastrointestinal cancer. *Biomed Chromatogr*. 2012 May;26(5):548–58. doi: 10.1002/bmc.1671.
226. Landaas S. The formation of 2-hydroxybutyric acid in experimental animals. *Clin Chim Acta*. 1975 Jan 6;58(1):23–32.
227. Zheng Y, Yu B, Alexander D, Steffen LM, Boerwinkle E. Human metabolome associates with dietary intake habits among African Americans in the atherosclerosis risk in communities study. *Am J Epidemiol*. 2014 Jun 15;179(12):1424–33. doi: 10.1093/aje/kwu073.
228. Miyazaki T, Honda A, Ikegami T, Iwamoto J, Monma T, Hirayama T, Saito Y, Yamashita K, Matsuzaki Y. Simultaneous quantification of salivary 3-hydroxybutyrate, 3-hydroxyisobutyrate, 3-hydroxy-3-methylbutyrate, and 2-hydroxybutyrate as possible markers of amino acid and fatty acid catabolic pathways by LC-ESI-MS/MS. *Springerplus*. 2015 Sep 15;4:494. doi: 10.1186/s40064-015-1304-0.
229. Lord RS, Bralley JA. Clinical applications of urinary organic acids. Part I: Detoxification markers. *Altern Med Rev*. 2008 Sep;13(3):205–15.

230. Kageyama Y, Kasahara T, Morishita H, Mataga N, Deguchi Y, Tani M, Kuroda K, Hattori K, Yoshida S, Inoue K, Kato T. Search for plasma biomarkers in drug-free patients with bipolar disorder and schizophrenia using metabolome analysis. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2017 Feb;71(2):115–123. doi: 10.1111/pcn.12461.
231. Gall WE, Beebe K, Lawton KA, Adam KP, Mitchell MW, Nakhle PJ, Ryals JA, Milburn MV, Nannipieri M, Camastra S, Natali A, Ferrannini E; RISC Study Group. α -Hydroxybutyrate Is an Early Biomarker of Insulin Resistance and Glucose Intolerance in a Nondiabetic Population. *PLoS One*. 2010 May 28;5(5): e10883. doi: 10.1371/journal.pone.0010883.
232. Ferrannini E, Natali A, Camastra S, Nannipieri M, Mari A, Adam KP, Milburn MV, Kastenmüller G, Adamski J, Tuomi T, Lyssenko V, Groop L, Gall WE. Early metabolic markers of the development of dysglycemia and type 2 diabetes and their physiological significance. *Diabetes*. 2013 May;62(5):1730–7. doi: 10.2337/db12-0707.
233. Varvel SA, Pottala JV, Thiselton DL, Caffrey R, Dall T, Sasinowski M, McConnell JP, Warnick GR, Voros S, Graham TE. Serum α -hydroxybutyrate (α -HB) predicts elevated 1 h glucose levels and early-phase β -cell dysfunction during OGTT. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2014 Sep 24;2(1): e000038. doi: 10.1136/bmjdr-2014-000038.
234. Delanghe JR, Speckaert MM. Translational research and biomarkers in neonatal sepsis. *Clin Chim Acta*. 2015 Dec 7;451(Pt A):46–64. doi: 10.1016/j.cca.2015.01.031.
235. Kano K, Ichimura T. Increased α -hydroxybutyrate dehydrogenase in serum from children with measles. *Clin Chem*. 1992 May;38(5):624–7.
236. Hoerr V, Zbytnuik L, Leger C, Tam PP, Kubes P, Vogel HJ. Gram-negative and Gram-positive bacterial infections give rise to a different metabolic response in a mouse model. *J Proteome Res*. 2012 Jun 1;11(6):3231–45. doi: 10.1021/pr201274r.
237. Qiu Y, Cai G, Su M, Chen T, Zheng X, Xu Y, Ni Y, Zhao A, Xu LX, Cai S, Jia W. Serum metabolite profiling of human colorectal cancer using GC-TOFMS and UPLC-QTOFMS. *J Proteome Res*. 2009 Oct;8(10):4844–50. doi: 10.1021/pr9004162.
238. Nishiumi S, Kobayashi T, Ikeda A, Yoshie T, Kibi M, Izumi Y, Okuno T, Hayashi N, Kawano S, Takenawa T, Azuma T, Yoshida M. A novel serum metabolomics-based diagnostic approach for colorectal cancer. *PLoS One*. 2012;7(7): e40459. doi: 10.1371/journal.pone.0040459.
239. Zeng J, Yin P, Tan Y, Dong L, Hu C, Huang Q, Lu X, Wang H, Xu G. Metabolomics study of hepatocellular carcinoma: discovery and validation of serum potential biomarkers by using capillary electrophoresis-mass spectrometry. *J Proteome Res*. 2014 Jul 3;13(7):3420–31. doi: 10.1021/pr500390y.
240. Vicente-Muñoz S, Morcillo I, Puchades-Carrasco L, Payá V, Pellicer A, Pineda-Lucena A. Nuclear magnetic resonance metabolomic profiling of urine provides a noninvasive alternative to the identification of biomarkers associated with endometriosis. *Fertil Steril*. 2015 Nov;104(5):1202–9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.07.1149.
241. Schicho R, Shaykhutdinov R, Ngo J, Nazyrova A, Schneider C, Panaccione R, Kaplan GG, Vogel HJ, Storr M. Quantitative metabolomic profiling of serum, plasma, and urine by ^1H NMR spectroscopy discriminates between patients with inflammatory bowel disease and healthy individuals. *J Proteome Res*. 2012 Jun 1;11(6):3344–57. doi: 10.1021/pr300139q.
242. Letto J, Brosnan ME, Brosnan JT. Valine metabolism. Gluconeogenesis from 3-hydroxyisobutyrate. *Biochem J*. 1986 Dec 15;240(3):909–12.
243. Hu H, Jaskiewicz JA, Harris RA. Ethanol and oleate inhibition of α -ketoisovalerate and 3-hydroxyisobutyrate metabolism by isolated hepatocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1992 Nov 15;299(1):57–62.
244. Landaas S. Accumulation of 3-hydroxyisobutyric acid, 2-methyl-3-hydroxybutyric acid and 3-hydroxyisovaleric acid in ketoacidosis. *Clin Chim Acta*. 1975 Oct 15;64(2):143–54.
245. Zabek A, Swierkot J, Malak A, Zawadzka I, Deja S, Bogunia-Kubik K, Mlynarz P. Application of $(1)\text{H}$ NMR-based serum metabolomic studies for monitoring female patients with rheumatoid arthritis. *J Pharm Biomed Anal*. 2016 Jan 5;117:544–50. doi: 10.1016/j.jpba.2015.10.007.
246. Podebrad F, Heil M, Beck T, Mosandl A, Sewell AC, Böhlles H. Stereodifferentiation of 3-hydroxyisobutyric- and 3-aminoisobutyric acid in human urine by enantioselective multidimensional capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chim Acta*. 2000 Feb 25;292(1–2):93–105.
247. Loupatty FJ, van der Steen A, Ijlst L, Ruiter JP, Ofman R, Baumgartner MR, Ballhausen D, Yamaguchi S, Duran M, Wanders RJ. Clinical, biochemical, and molecular findings in three patients with 3-hydroxyisobutyric aciduria. *Mol Genet Metab*. 2006 Mar;87(3):243–8. doi: 10.1016/j.ymgme.2005.09.019.
248. Viegas CM, da Costa Ferreira G, Schuck PF, Tonin AM, Zanatta A, de Souza Wyse AT, Dutra-Filho CS, Wannmacher CM, Wajner M. Evidence that 3-hydroxyisobutyric acid inhibits key enzymes of energy metabolism in cerebral cortex of young rats. *Int J Dev Neurosci*. 2008 May-Jun;26(3–4):293–9. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2008.01.007.
249. Lutz NW, Viola A, Malikova I, Confort-Gouny S, Audoin B, Ranjeva JP, Pelletier J, Cozzzone PJ. Inflammatory multiple-sclerosis plaques generate characteristic metabolic profiles in cerebrospinal fluid. *PLoS One*. 2007 Jul 4;2(7): e595. doi: 10.1371/journal.pone.0000595.
250. Jaskiewicz J, Zhao Y, Hawes JW, Shimomura Y, Crabb DW, Harris RA. Catabolism of isobutyrate by colonocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1996 Mar 15;327(2):265–70. doi: 10.1006/abbi.1996.0120.
251. Liebich HM, Först C. Hydroxycarboxylic and oxocarboxylic acids in urine: products from branched-chain amino acid degradation and from ketogenesis. *J Chromatogr*. 1984 Aug 10;309(2):225–42.
252. Landaas S, Jakobs C. The occurrence of 2-hydroxyisovaleric acid in patients with lactic acidosis and ketoacidosis. *Clin Chim Acta*. 1977 Aug 1;78(3):489–93.
253. Reinke SN, Broadhurst DL, Sykes BD, Baker GB, Catz I, Warren KG, Power C. Metabolomic profiling in multiple sclerosis: insights into biomarkers and pathogenesis. *Mult Scler*. 2014 Sep;20(10):1396–400. doi: 10.1177/1352458513516528.
254. Kortman GA, Dutilh BE, Maathuis AJ, Engelke UF, Boekhorst J, Keegan KP, Nielsen FG, Betley J, Weir JC, Kingsbury Z, Kluijtmans LA, Swinkels DW, Venema K, Tjalsma H. Microbial Metabolism Shifts Towards an Adverse Profile with Supplementary Iron in the TIM-2 In vitro Model of the Human Colon. *Front Microbiol*. 2016 Jan 6;6:1481. doi: 10.3389/fmicb.2015.01481.
255. Pine L, Malcolm GB, Brooks JB, Daneshvar MI. Physiological studies on the growth and utilization of sugars by *Listeria* species. *Can J Microbiol*. 1989 Feb;35(2):245–54.
256. Thota VR, Dacha S, Natarajan A, Nerad J. Eggerthella lenta bacteremia in a Crohn's disease patient after ileocecal resection. *Future Microbiol*. 2011 May;6(5):595–7. doi: 10.2217/fmb.11.31.
257. Venugopal AA, Szpunar S, Johnson LB. Risk and prognostic factors among patients with bacteremia due to

- Eggerthella lenta. Anaerobe. 2012 Aug;18(4):475–8. doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.05.005.
258. Miranda-Bautista J, Padilla-Suárez C, Bouza E, Muñoz P, Menchén L, Marín-Jiménez I. Listeria monocytogenes infection in inflammatory bowel disease patients: case series and review of the literature. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2014 Nov;26(11):1247–52. doi: 10.1097/MEG.0000000000000188.
259. Gardiner BJ, Tai AY, Kotsanas D, Francis MJ, Roberts SA, Ballard SA, Junckerstorff RK, Korman TM. Clinical and microbiological characteristics of Eggerthella lenta bacteremia. J Clin Microbiol. 2015 Feb;53(2):626–35. doi: 10.1128/JCM.02926–14.
260. Woerther PL, Antoun S, Chachaty E, Merad M. Eggerthella lenta bacteremia in solid tumor cancer patients: Pathogen or witness of frailty? Anaerobe. 2017 Apr 22;47:70–72. doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.04.010.
261. McMillan A, Rulisa S, Sumarah M, Macklaim JM, Renaud J, Bisanz JE, Gloor GB, Reid G. A multi-platform metabolomics approach identifies highly specific biomarkers of bacterial diversity in the vagina of pregnant and non-pregnant women. Sci Rep. 2015 Sep 21;5:14174. doi: 10.1038/srep14174.
262. Zhu H, Li YR. Oxidative stress and redox signaling mechanisms of inflammatory bowel disease: updated experimental and clinical evidence. Exp Biol Med (Maywood). 2012 May;237(5):474–80. doi: 10.1258/ebm.2011.011358.
263. Piechota-Polanczyk A, Fichna J. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol. 2014 Jul;387(7):605–20. doi: 10.1007/s00210-014-0985-1.
264. Zhang Y, Lin L, Xu Y, Lin Y, Jin Y, Zheng C. ¹H NMR-based spectroscopy detects metabolic alterations in serum of patients with early-stage ulcerative colitis. Biochem Biophys Res Commun. 2013 Apr 19;433(4):547–51. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.03.012.
265. De Palma G, Nadal I, Medina M, Donat E, Ribes-Koninx C, Calabuig M, Sanz Y. Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children. BMC Microbiol. 2010 Feb 24;10:63. doi: 10.1186/1471-2180-10-63.
266. Hedberg ME, Israelsson A, Moore ER, Svensson-Stadler L, Wai SN, Pietz G, Sandström O, Hernell O, Hammarström ML, Hammarström S. Prevotella jejuni sp. nov., isolated from the small intestine of a child with coeliac disease. Int J Syst Evol Microbiol. 2013 Nov;63(Pt 11):4218–23. doi: 10.1099/ijs.0.052647-0.
267. Sjöberg V, Sandström O, Hedberg M, Hammarström S, Hernell O, Hammarström ML. Intestinal T-cell responses in celiac disease – impact of celiac disease associated bacteria. PLoS One. 2013;8(1): e53414. doi: 10.1371/journal.pone.0053414.
268. Krebs HA. The history of the tricarboxylic acid cycle. Perspect Biol Med. 1970 Autumn;14(1):154–70.
269. Brière JJ, Favier J, Gimenez-Roqueplo AP, Rustin P. Tricarboxylic acid cycle dysfunction as a cause of human diseases and tumor formation. Am J Physiol Cell Physiol. 2006 Dec;291(6): C1114–20. doi: 10.1152/ajp-cell.00216.2006.
270. Watford M. The urea cycle: Teaching intermediary metabolism in a physiological setting. Biochem Mol Biol Educ. 2003;31:289–97. doi:10.1002/bmb.2003.494031050249.
271. Robert C, Chassard C, Lawson PA, Bernalier-Donadille A. Bacteroides cellulosilyticus sp. nov., a cellulolytic bacterium from the human gut microbial community. Int J Syst Evol Microbiol. 2007 Jul;57(Pt 7):1516–20. doi: 10.1099/ijs.0.64998–0.
272. Shah HN, Olsen I, Bernard K, Finegold SM, Gharbia S, Gupta RS. Approaches to the study of the systematics of anaerobic, gram-negative, non-sporeforming rods: current status and perspectives. Anaerobe. 2009 Oct;15(5):179–94. doi: 10.1016/j.anaerobe.2009.08.003.
273. Morotomi M, Nagai F, Sakon H, Tanaka R. Paraprevotella clara gen. nov., sp. nov. and Paraprevotella xylaniphila sp. nov., members of the family 'Prevotellaceae' isolated from human faeces. Int J Syst Evol Microbiol. 2009 Aug;59(Pt 8):1895–900. doi: 10.1099/ijs.0.008169–0.
274. Rey FE, Faith JJ, Bain J, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Newgard CB, Gordon JL. Dissecting the in vivo metabolic potential of two human gut acetogens. J Biol Chem. 2010 Jul 16;285(29):22082–90. doi: 10.1074/jbc.M110.117713.
275. Chassard C, Delmas E, Robert C, Lawson PA, Bernalier-Donadille A. Ruminococcus champanellensis sp. nov., a cellulose-degrading bacterium from human gut microbiota. Int J Syst Evol Microbiol. 2012 Jan;62(Pt 1):138–43. doi: 10.1099/ijs.0.027375–0.
276. Milstien S, Goldman P. Role of intestinal microflora in the metabolism of guanidinosuccinic acid. J Bacteriol. 1973 May;114(2):641–4.
277. Ryu HW, Kang KH, Pan JG, Chang HN. Characteristics and glycerol metabolism of fumarate-reducing Enterococcus faecalis RKY 1. Biotechnol Bioeng. 2001 Jan 5;72(1):119–24.
278. Watanabe Y, Nagai F, Morotomi M. Characterization of Phascolarctobacterium succinatutens sp. nov., an asaccharolytic, succinate-utilizing bacterium isolated from human feces. Appl Environ Microbiol. 2012 Jan;78(2):511–8. doi: 10.1128/AEM.06035–11.
279. Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, Gevers D, Devaney KL, Ward DV, Reyes JA, Shah SA, LeLeiko N, Snapper SB, Bousvaros A, Korzenik J, Sands BE, Xavier RJ, Huttenhower C. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. Genome Biol. 2012 Apr 16;13(9): R79. doi: 10.1186/gb-2012-13-9-r79.
280. Hopkins MJ, Macfarlane GT. Nondigestible oligosaccharides enhance bacterial colonization resistance against Clostridium difficile in vitro. Appl Environ Microbiol. 2003 Apr;69(4):1920–7.
281. Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. Gut Microbes. 2012 Jul-Aug;3(4):289–306. doi: 10.4161/gmic.19897.
282. Reichardt N, Duncan SH, Young P, Belenguer A, McWilliam Leitch C, Scott KP, Flint HJ, Louis P. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. ISME J. 2014 Jun;8(6):1323–35. doi: 10.1038/ismej.2014.14.
283. Ladirat SE, Schoterman MH, Rahaoui H, Mars M, Schuren FH, Gruppen H, Nauta A, Schols HA. Exploring the effects of galacto-oligosaccharides on the gut microbiota of healthy adults receiving amoxicillin treatment. Br J Nutr. 2014 Aug 28;112(4):536–46. doi: 10.1017/S0007114514001135.
284. Ferreyra JA, Wu KJ, Hryckowian AJ, Bouley DM, Weimer BC, Sonnenburg JL. Gut microbiota-produced succinate promotes C. difficile infection after antibiotic treatment or motility disturbance. Cell Host Microbe. 2014 Dec 10;16(6):770–7. doi: 10.1016/j.chom.2014.11.003.
285. Vogt SL, Peña-Díaz J, Finlay BB. Chemical communication in the gut: Effects of microbiota-generated metabolites on gastrointestinal bacterial pathogens. Anaerobe. 2015 Aug;34:106–15. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.05.002.

286. Rotstein OD, Nasmith PE, Grinstein S. The Bacteroides by-product succinic acid inhibits neutrophil respiratory burst by reducing intracellular pH. *Infect Immun*. 1987 Apr;55(4):864–70.
287. Abdul-Majid KB, Kenny PA, Finlay-Jones JJ. The effect of the bacterial product, succinic acid, on neutrophil bactericidal activity. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1997 Feb;17(2):79–86.
288. Fukui S, Shimoyama T, Tamura K, Yamamura M, Satomi M. Mucosal blood flow and generation of superoxide in rat experimental colitis induced by succinic acid. *J Gastroenterol*. 1997 Aug;32(4):464–71.
289. Ariake K, Ohkusa T, Sakurazawa T, Kumagai J, Eishi Y, Hoshi S, Yajima T. Roles of mucosal bacteria and succinic acid in colitis caused by dextran sulfate sodium in mice. *J Med Dent Sci*. 2000 Dec;47(4):233–41.
290. Shiomi Y, Nishiumi S, Ooi M, Hatano N, Shinohara M, Yoshie T, Kondo Y, Furumatsu K, Shiomi H, Kutsumi H, Azuma T, Yoshida M. GCMS-based metabolomic study in mice with colitis induced by dextran sulfate sodium. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Nov;17(11):2261–74. doi: 10.1002/ibd.21616.
291. Nagao-Kitamoto H, Kamada N. Host-microbial Cross-talk in Inflammatory Bowel Disease. *Immune Netw*. 2017 Feb;17(1):1–12. doi: 10.4110/in.2017.17.1.1.
292. Tannahill GM, Curtis AM, Adamik J, Palsson-McDermott EM, McGettrick AF, Goel G, Frezza C, Bernard NJ, Kelly B, Foley NH, Zheng L, Gardet A, Tong Z, Jany SS, Corr SC, Haneklaus M, Caffrey BE, Pierce K, Walmsley S, Beasley FC, Cummins E, Nizet V, Whyte M, Taylor CT, Lin H, Masters SL, Gottlieb E, Kelly VP, Clish C, Auron PE, Xavier RJ, O'Neill LA. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . *Nature*. 2013 Apr 11;496(7444):238–42. doi: 10.1038/nature11986.
293. Mills E, O'Neill LA. Succinate: a metabolic signal in inflammation. *Trends Cell Biol*. 2014 May;24(5):313–20. doi: 10.1016/j.tcb.2013.11.008.
294. Curtis MM, Hu Z, Klimko C, Narayanan S, Deberardinis R, Sperandio V. The Gut Commensal Bacteroides thetaiotaomicron Exacerbates Enteric Infection through Modification of the Metabolic Landscape. *Cell Host Microbe*. 2014 Dec 10;16(6):759–69. doi: 10.1016/j.chom.2014.11.005.
295. Deen PM, Robben JH. Succinate receptors in the kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2011 Aug;22(8):1416–22. doi: 10.1681/ASN.2010050481.
296. Ariza AC, Deen PM, Robben JH. The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related conditions. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012 Feb 16;3:22. doi: 10.3389/fendo.2012.00022.
297. Inagaki A, Ichikawa H, Sakata T. Inhibitory effect of succinic acid on epithelial cell proliferation of colonic mucosa in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2007 Aug;53(4):377–9. doi: 10.3177/jnsv.53.377.
298. Tamura K, Yamamura M, Satomi M. Effect of butyrate on colonic mucosa. *JJPEN Jpn J Parenter Enteral Nutr*. 1995;17:481–4.
299. Kanauchi O, Mitsuyama K, Andoh A, Iwanaga T. Modulation of intestinal environment by prebiotic germinated barley foodstuff prevents chemo-induced colonic carcinogenesis in rats. *Oncol Rep*. 2008 Oct;20(4):793–801. doi: 10.3892/or_00000076.
300. Komiyama Y, Mitsuyama K, Masuda J, Yamasaki H, Takedatsu H, Andoh A, Tsuruta O, Fukuda M, Kanauchi O. Prebiotic treatment in experimental colitis reduces the risk of colitic cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 Aug;26(8):1298–308. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06690.x.
301. Kanauchi O, Mitsuyama K, Homma T, Takahama K, Fujiyama Y, Andoh A, Araki Y, Suga T, Hibi T, Naganuma M, Asakura H, Nakano H, Shimoyama T, Hida N, Haruma K, Koga H, Sata M, Tomiyasu N, Toyonaga A, Fukuda M, Kojima A, Bamba T. Treatment of ulcerative colitis patients by long-term administration of germinated barley foodstuff: multi-center open trial. *Int J Mol Med*. 2003 Nov;12(5):701–4. doi: 10.3892/ijmm.12.5.701.
302. Hanai H, Kanauchi O, Mitsuyama K, Andoh A, Takeuchi K, Takayuki I, Araki Y, Fujiyama Y, Toyonaga A, Sata M, Kojima A, Fukuda M, Bamba T. Germinated barley foodstuff prolongs remission in patients with ulcerative colitis. *Int J Mol Med*. 2004 May;13(5):643–7. doi: 10.3892/ijmm.13.5.643.
303. Jakobsdottir G, Xu J, Molin G, Ahrné S, Nyman M. High-fat diet reduces the formation of butyrate, but increases succinate, inflammation, liver fat and cholesterol in rats, while dietary fibre counteracts these effects. *PLoS One*. 2013 Nov 13;8(11):e80476. doi: 10.1371/journal.pone.0080476.
304. Zhu J, Djukovic D, Deng L, Gu H, Himmati F, Abu Zaid M, Chiorean EG, Raftery D. Targeted serum metabolite profiling and sequential metabolite ratio analysis for colorectal cancer progression monitoring. *Anal Bioanal Chem*. 2015 Oct;407(26):7857–63. doi: 10.1007/s00216-015-8984-8.
305. Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, Kinoshita T, Saito N, Ochiai A, Tomita M, Esumi H, Soga T. Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Res*. 2009 Jun 1;69(11):4918–25. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4806.
306. Qiu Y, Cai G, Su M, Chen T, Liu Y, Xu Y, Ni Y, Zhao A, Cai S, Xu LX, Jia W. Urinary metabonomic study on colorectal cancer. *J Proteome Res*. 2010 Mar 5;9(3):1627–34. doi: 10.1021/pr901081y.
307. Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, Aksentijević D, Sundier SY, Robb EL, Logan A, Nadtochiy SM, Ord EN, Smith AC, Eyassu F, Shirley R, Hu CH, Dare AJ, James AM, Rogatti S, Hartley RC, Eaton S, Costa AS, Brookes PS, Davidson SM, Duchon MR, Saeb-Parsy K, Shattock MJ, Robinson AJ, Work LM, Frezza C, Krieg T, Murphy MP. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature*. 2014 Nov 20;515(7527):431–5. doi: 10.1038/nature13909.
308. O'Neill LA. Biochemistry: succinate strikes. *Nature*. 2014 Nov 20;515(7527):350–1. doi: 10.1038/nature13941.
309. Bar-Or D, Carrick MM, Mains CW, Rael LT, Slone D, Brody EN. Sepsis, oxidative stress, and hypoxia: Are there clues to better treatment? *Redox Rep*. 2015 Sep;20(5):193–7. doi: 10.1179/1351000215Y.0000000005.
310. Fischbach MA, Sonnenburg JL. Eating for two: how metabolism establishes interspecies interactions in the gut. *Cell Host Microbe*. 2011 Oct 20;10(4):336–47. doi: 10.1016/j.chom.2011.10.002.
311. Steinsiek S, Frixel S, Stagge S, SUMO, Bettenbrock K. Characterization of E. coli MG1655 and frdA and sdhC mutants at various aerobiosis levels. *J Biotechnol*. 2011 Jun 10;154(1):35–45. doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.03.015.
312. Chan EC, Koh PK, Mal M, Cheah PY, Eu KW, Backshall A, Cavill R, Nicholson JK, Keun HC. Metabolic profiling of human colorectal cancer using high-resolution magic angle spinning nuclear magnetic resonance (HR-MAS NMR) spectroscopy and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS). *J Proteome Res*. 2009 Jan;8(1):352–61. doi: 10.1021/pr8006232.
313. Lampropoulou V, Sergushichev A, Bambouskova M, Nair S, Vincent EE, Loginicheva E, Cervantes-Barragan

- L, Ma X, Huang SC, Griss T, Weinheimer CJ, Khader S, Randolph GJ, Pearce EJ, Jones RG, Diwan A, Diamond MS, Artyomov MN. Itaconate Links Inhibition of Succinate Dehydrogenase with Macrophage Metabolic Remodeling and Regulation of Inflammation. *Cell Metab*. 2016 Jul 12;24(1):158–66. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.004.
314. Mills EL, Kelly B, Logan A, Costa AS, Varma M, Bryant CE, Tourlomousis P, Däbritz JH, Gottlieb E, Latorre I, Corr SC, McManus G, Ryan D, Jacobs HT, Szibor M, Xavier RJ, Braun T, Frezza C, Murphy MP, O'Neill LA. Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages. *Cell*. 2016 Oct 6;167(2):457–470.e13. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.064.
315. Dong F, Zhang L, Hao F, Tang H, Wang Y. Systemic responses of mice to dextran sulfate sodium-induced acute ulcerative colitis using 1H NMR spectroscopy. *J Proteome Res*. 2013 Jun 7;12(6):2958–66. doi: 10.1021/pr4002383.
316. Sharma U, Upadhyay D, Mewar S, Mishra A, Das P, Gupta SD, Dwivedi SN, Makharia GK, Jagannathan NR. Metabolic abnormalities of gastrointestinal mucosa in celiac disease: An in vitro proton nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2015 Oct;30(10):1492–8. doi: 10.1111/jgh.12979.
317. Raimundo N, Baysal BE, Shadel GS. Revisiting the TCA cycle: signaling to tumor formation. *Trends Mol Med*. 2011 Nov;17(11):641–9. doi: 10.1016/j.molmed.2011.06.001.
318. Cardaci S, Ciriolo MR. TCA Cycle Defects and Cancer: When Metabolism Tunes Redox State. *Int J Cell Biol*. 2012;2012:161837. doi: 10.1155/2012/161837.
319. Wu W, Zhao S. Metabolic changes in cancer: beyond the Warburg effect. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2013 Jan;45(1):18–26. doi: 10.1093/abbs/gms104.
320. Yang M, Soga T, Pollard PJ. Oncometabolites: linking altered metabolism with cancer. *J Clin Invest*. 2013 Sep 3;123(9):3652–8. doi: 10.1172/JCI67228.
321. Laurenti G, Tennant DA. Isocitrate dehydrogenase (IDH), succinate dehydrogenase (SDH), fumarate hydratase (FH): three players for one phenotype in cancer? *Biochem Soc Trans*. 2016 Aug 15;44(4):1111–6. doi: 10.1042/BST20160099.
322. Smith EA, Macfarlane GT. Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism. *J Appl Bacteriol*. 1996 Sep;81(3):288–302.
323. Smith EA, Macfarlane GT. Formation of phenolic and indolic compounds by anaerobic bacteria in the human large intestine. *Microb Ecol*. 1997 Apr;33(3):180–8.
324. Elsdén SR, Hilton MG. Amino acid utilization patterns in clostridial taxonomy. *Arch Microbiol*. 1979 Nov;123(2):137–41.
325. Mayrand D, Bourgeois G. Production of phenylacetic acid by anaerobes. *J Clin Microbiol*. 1982 Oct;16(4):747–50.
326. Russell WR, Duncan SH, Scobbie L, Duncan G, Cantlay L, Calder AG, Anderson SE, Flint HJ. Major phenylpropanoid-derived metabolites in the human gut can arise from microbial fermentation of protein. *Mol Nutr Food Res*. 2013 Mar;57(3):523–35. doi: 10.1002/mnfr.201200594.
327. Mao LF, Chu C, Schulz H. Hepatic beta-oxidation of 3-phenylpropionic acid and the stereospecific dehydration of (R)- and (S)-3-hydroxy-3-phenylpropionyl-CoA by different enoyl-CoA hydratases. *Biochemistry*. 1994 Mar 22;33(11):3320–6.
328. Gonthier MP, Remesy C, Scalbert A, Cheynier V, Souquet JM, Poutanen K, Aura AM. Microbial metabolism of caffeic acid and its esters chlorogenic and caftaric acids by human faecal microbiota in vitro. *Biomed Pharmacother*. 2006 Nov;60(9):536–40. doi: 10.1016/j.biopha.2006.07.084.
329. Lennerz BS, Vafai SB, Delaney NF, Clish CB, Deik AA, Pierce KA, Ludwig DS, Mootha VK. Effects of sodium benzoate, a widely used food preservative, on glucose homeostasis and metabolic profiles in humans. *Mol Genet Metab*. 2015 Jan;114(1):73–9. doi: 10.1016/j.ymgme.2014.11.010.
330. van Assche PF. Differentiation of *Bacteroides fragilis* species by gas chromatographic detection of phenylacetic acid. *J Clin Microbiol*. 1978 Nov;8(5):614–5.
331. Lambert MA, Moss CW. Production of p-hydroxyhydrocinnamic acid from tyrosine by *Peptostreptococcus anaerobius*. *J Clin Microbiol*. 1980 Aug;12(2):291–3.
332. Burlingame R, Chapman PJ. Catabolism of phenylpropionic acid and its 3-hydroxy derivative by *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1983 Jul;155(1):113–21.
333. Hill GB, Ayers OM, Kohan AP. Characteristics and sites of infection of *Eubacterium nodatum*, *Eubacterium timidum*, *Eubacterium brachy*, and other asaccharolytic eubacteria. *J Clin Microbiol*. 1987 Aug;25(8):1540–5.
334. Nakazawa F, Poco SE Jr, Sato M, Ikeda T, Kalfas S, Sundqvist G, Hoshino E. Taxonomic characterization of *Mogibacterium diversum* sp. nov. and *Mogibacterium neglectum* sp. nov., isolated from human oral cavities. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2002 Jan;52(Pt 1):115–22. doi: 10.1099/00207713-52-1-115.
335. Nakazawa F, Sato M, Poco SE, Hashimura T, Ikeda T, Kalfas S, Sundqvist G, Hoshino E. Description of *Mogibacterium pumilum* gen. nov., sp. nov. and *Mogibacterium vescum* gen. nov., sp. nov., and reclassification of *Eubacterium timidum* (Holdeman et al. 1980) as *Mogibacterium timidum* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2000 Mar;50 Pt 2:679–88. doi: 10.1099/00207713-50-2-679.
336. Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *PLoS One*. 2012;7(6):e39743. doi: 10.1371/journal.pone.0039743.
337. Candela M, Turrone S, Biagi E, Carbonero F, Rampelli S, Fiorentini C, Brigidi P. Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. *World J Gastroenterol*. 2014 Jan 28;20(4):908–22. doi: 10.3748/wjg.v20.i4.908.
338. Jackson HT, Mongodin EF, Davenport KP, Fraser CM, Sandler AD, Zeichner SL. Culture-independent evaluation of the appendix and rectum microbiomes in children with and without appendicitis. *PLoS One*. 2014 Apr 23;9(4):e95414. doi: 10.1371/journal.pone.0095414.
339. Song YL, Liu CX, McTeague M, Summanen P, Finegold SM. *Clostridium bartlettii* sp. nov., isolated from human faeces. *Anaerobe*. 2004 Jun;10(3):179–84. doi: 10.1016/j.anaerobe.2004.04.004.
340. Nordlund E, Aura AM, Mattila I, Kossö T, Rouau X, Poutanen K. Formation of phenolic microbial metabolites and short-chain fatty acids from rye, wheat, and oat bran and their fractions in the metabolic in vitro colon model. *J Agric Food Chem*. 2012 Aug 22;60(33):8134–45. doi: 10.1021/jf3008037.
341. Duncan SH, Russell WR, Quartieri A, Rossi M, Parkhill J, Walker AW, Flint HJ. Wheat bran promotes enrichment within the human colonic microbiota of butyrate-producing bacteria that release ferulic acid. *Environ Microbiol*. 2016 Jul;18(7):2214–25. doi: 10.1111/1462-2920.13158.

342. Белобородова Н. В., Архипова А. С., Белобородов Д. М., Бойко Н. Б., Мелько А. И., Оленин А. Ю. Хромато-масс-спектрометрическое определение низкомолекулярных ароматических соединений микробного происхождения в сыворотке крови больных сепсисом // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 2. – С. 3–6.
343. Белобородова Н. В., Мороз В. В., Осипов А. А., Бедова А. Ю., Оленин А. Ю., Гецина М. Л., Карпова О. В., Оленина Е. Г. Нормальный уровень сепсис-ассоциированных фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови человека // Биохимия. – 2015. – Том 80, вып. 3. – С. 449–455.
344. Karoum F, Potkin S, Chuang LW, Murphy DL, Liebowitz MR, Wyatt RJ. Phenylacetic acid excretion in schizophrenia and depression: the origins of PAA in man. *Biol Psychiatry*. 1984 Feb;19(2):165–78.
345. Белобородова Н. В., Мороз В. В., Бедова А. Ю., Осипов А. А., Саршиор Ю. Н., Черневская Е. А. Участие ароматических микробных метаболитов в развитии тяжелой инфекции и сепсиса // Анестезиология и реаниматология. – 2016. – Том 61, № 3. – С. 202–208.
346. Jankowski J, van der Giet M, Jankowski V, Schmidt S, Hemeier M, Mahn B, Giebing G, Tolle M, Luftmann H, Schluter H, Zidek W, Tepel M. Increased plasma phenylacetic acid in patients with end-stage renal failure inhibits iNOS expression. *J Clin Invest*. 2003 Jul;112(2):256–64. doi: 10.1172/JCI15524.
347. Kopple JD. Phenylalanine and tyrosine metabolism in chronic kidney failure. *J Nutr*. 2007 Jun;137(6 Suppl 1):1586S-1590S; discussion 1597S-1598S.
348. Mutsaers HA, van den Heuvel LP, Ringens LH, Dankers AC, Russel FG, Wetzels JF, Hoenderop JG, Masereeuw R. Uremic toxins inhibit transport by breast cancer resistance protein and multidrug resistance protein 4 at clinically relevant concentrations. *PLoS One*. 2011 Apr 4;6(4):e18438. doi: 10.1371/journal.pone.0018438.
349. Schmidt S, Westhoff TH, Krauser P, Ignatius R, Jankowski J, Jankowski V, Zidek W, van der Giet M. The uraemic toxin phenylacetic acid impairs macrophage function. *Nephrol Dial Transplant*. 2008 Nov;23(11):3485–93. doi: 10.1093/ndt/gfn266.
350. Qi Y, Li P, Zhang Y, Cui L, Guo Z, Xie G, Su M, Li X, Zheng X, Qiu Y, Liu Y, Zhao A, Jia W, Jia W. Urinary metabolite markers of precocious puberty. *Mol Cell Proteomics*. 2012 Jan;11(1):M111.011072. doi: 10.1074/mcp.M111.011072.
351. Koike S, Bundo M, Iwamoto K, Suga M, Kuwabara H, Ohashi Y, Shinoda K, Takano Y, Iwashiro N, Satomura Y, Nagai T, Natsubori T, Tada M, Yamasue H, Kasai K. A snapshot of plasma metabolites in first-episode schizophrenia: a capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry study. *Transl Psychiatry*. 2014 Apr 8;4: e379. doi: 10.1038/tp.2014.19.
352. Jansson J, Willing B, Lucio M, Fekete A, Dicksved J, Halfvarson J, Tysk C, Schmitt-Kopplin P. Metabolomics reveals metabolic biomarkers of Crohn's disease. *PLoS One*. 2009 Jul 28;4(7):e6386. doi: 10.1371/journal.pone.0006386.
353. Uchiyama K, Yagi N, Mizushima K, Higashimura Y, Hirai Y, Okayama T, Yoshida N, Katada K, Kamada K, Handa O, Ishikawa T, Takagi T, Konishi H, Kuriu Y, Nakanishi M, Otsuji E, Itoh Y, Naito Y. Serum metabolomics analysis for early detection of colorectal cancer. *J Gastroenterol*. 2017 Jun;52(6):677–694. doi: 10.1007/s00535-016-1261-6.
354. van der Heiden C, Wauters EA, Duran M, Wadman SK, Ketting D. Gas chromatographic analysis of urinary tyrosine and phenylalanine metabolites in patients with gastrointestinal disorders. *Clin Chim Acta*. 1971 Sep;34(2):289–96.
355. Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: Friend of foe? *World J Gastroenterol*. 2011 Feb 7;17(5):557–66. doi: 10.3748/wjg.v17.i5.557.
356. De Cruz P, Prideaux L, Wagner J, Ng SC, McSweeney C, Kirkwood C, Morrison M, Kamm MA. Characterization of the gastrointestinal microbiota in health and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012 Feb;18(2):372–90. doi: 10.1002/ibd.21751.
357. Rubio-Tapia A, Barton SH, Rosenblatt JE, Murray JA. Prevalence of small intestine bacterial overgrowth diagnosed by quantitative culture of intestinal aspirate in celiac disease. *J Clin Gastroenterol*. 2009 Feb;43(2):157–61. doi: 10.1097/MCG.0b013e3181557e67.
358. Nistal E, Caminero A, Vivas S, Ruiz de Morales JM, Sáenz de Miera LE, Rodríguez-Aparicio LB, Casqueiro J. Differences in faecal bacteria populations and faecal bacteria metabolism in healthy adults and celiac disease patients. *Biochimie*. 2012 Aug;94(8):1724–9. doi: 10.1016/j.biochi.2012.03.025.
359. Selmer T, Andrei PI. p-Hydroxyphenylacetate decarboxylase from *Clostridium difficile*. A novel glycyl radical enzyme catalysing the formation of p-cresol. *Eur J Biochem*. 2001 Mar;268(5):1363–72.
360. Walk ST, Young VB. Emerging Insights into Antibiotic-Associated Diarrhea and *Clostridium difficile* Infection through the Lens of Microbial Ecology. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2008;2008:125081. doi: 10.1155/2008/125081.
361. Navaneethan U, Venkatesh PG, Shen B. *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease: understanding the evolving relationship. *World J Gastroenterol*. 2010 Oct 21;16(39):4892–904. doi: 10.3748/wjg.v16.i39.4892.
362. Surawicz CM. The microbiota and infectious diarrhea. Le microbiote dans les diarrhées infectieuses. *Gastroenterol Clin Biol*. 2010 Sep;34 Suppl 1: S 29–36. doi: 10.1016/S0399-8320(10)70018-X.
363. Berg AM, Kelly CP, Farraye FA. *Clostridium difficile* infection in the inflammatory bowel disease patient. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Jan;19(1):194–204. doi: 10.1002/ibd.22964.
364. Bien J, Palagani V, Bozko P. The intestinal microbiota dysbiosis and *Clostridium difficile* infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therap Adv Gastroenterol*. 2013 Jan;6(1):53–68. doi: 10.1177/1756283X12454590.
365. Negrón ME, Barkema HW, Rioux K, De Buck J, Checkley S, Proulx MC, Frolkis A, Beck PL, Dieleman LA, Panaccione R, Ghosh S, Kaplan GG. *Clostridium difficile* infection worsens the prognosis of ulcerative colitis. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jul-Aug;28(7):373–80.
366. Симонян А. В. Активность производных коричневых кислот и новые методы их синтеза // Химико-фармацевтический журнал. – 1993. – Том 27, № 2. – С. 21–23.
367. Konishi Y, Kobayashi S. Microbial metabolites of ingested caffeic acid are absorbed by the monocarboxylic acid transporter (MCT) in intestinal Caco-2 cell monolayers. *J Agric Food Chem*. 2004 Oct 20;52(21):6418–24. doi: 10.1021/jf049560y.
368. Gómez-Ruiz JA, Leake DS, Ames JM. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *J Agric Food Chem*. 2007 Aug 22;55(17):6962–9. doi: 10.1021/jf0710985.
369. Tomas-Barberan F, García-Villalba R, Quartieri A, Raimondi S, Amaretti A, Leonardi A, Rossi M. In vitro transformation of chlorogenic acid by human gut

- microbiota. *Mol Nutr Food Res*. 2014 May;58(5):1122–31. doi: 10.1002/mnfr.201300441.
370. Raimondi S, Anighoro A, Quartieri A, Amaretti A, Tomás-Barberán FA, Rastelli G, Rossi M. Role of bifidobacteria in the hydrolysis of chlorogenic acid. *Microbiologyopen*. 2015 Feb;4(1):41–52. doi: 10.1002/mbo3.219.
371. Li L, Huang L, Lemos HP, Mautino M, Mellor AL. Altered tryptophan metabolism as a paradigm for good and bad aspects of immune privilege in chronic inflammatory diseases. *Front Immunol*. 2012 May 11;3:109. doi: 10.3389/fimmu.2012.00109.
372. Kline EL, Brown CS, Bankaitis V, Montefiori DC, Craig K. Metabolite gene regulation of the L-arabinose operon in *Escherichia coli* with indoleacetic acid and other indole derivatives. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980 Apr;77(4):1768–72.
373. Marklová E, Hak J, Parížek J, Morávek P. Urinary excretion of some metabolites of tryptophan in malignant diseases. *Sb Ved Pr Lek Fak Karlovy Univerzity Hradci Kralove*. 1992;35(3):275–9.
374. Vanholder R, Schepers E, Pletinck A, Neirynck N, Glorieux G. An update on protein-bound uremic retention solutes. *J Ren Nutr*. 2012 Jan;22(1):90–4. doi: 10.1053/j.jrn.2011.10.026.
375. Rossiter S, Folkes LK, Wardman P. Halogenated indole-3-acetic acids as oxidatively activated prodrugs with potential for targeted cancer therapy. *Bioorg Med Chem Lett*. 2002 Sep 16;12(18):2523–6.
376. De Melo MP, Pithon-Curi TC, Curi R. Indole-3-acetic acid increases glutamine utilization by high peroxidase activity-presenting leukocytes. *Life Sci*. 2004 Aug 20;75(14):1713–25. doi: 10.1016/j.lfs.2004.03.021.
377. Jeong YM, Oh MH, Kim SY, Li H, Yun HY, Baek KJ, Kwon NS, Kim WY, Kim DS. Indole-3-acetic acid/horseradish peroxidase induces apoptosis in TCCSUP human urinary bladder carcinoma cells. *Pharmazie*. 2010 Feb;65(2):122–6.
378. Hubbard TD, Murray IA, Bisson WH, Lahoti TS, Gowda K, Amin SG, Patterson AD, Perdew GH. Adaptation of the human aryl hydrocarbon receptor to sense microbiota-derived indoles. *Sci Rep*. 2015 Aug 3;5:12689. doi: 10.1038/srep12689.
379. Dou L, Sallée M, Cerini C, Poitevin S, Gondouin B, Jourde-Chiche N, Fallague K, Brunet P, Calaf R, Dussol B, Mallet B, Dignat-George F, Burtsey S. The cardiovascular effect of the uremic solute indole-3 acetic acid. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Apr;26(4):876–87. doi: 10.1681/ASN.2013121283.
380. Yokoyama MT, Carlson JR. Microbial metabolites of tryptophan in the intestinal tract with special reference to skatole. *Am J Clin Nutr*. 1979 Jan;32(1):173–8.
381. Chung KT, Anderson GM, Fulk GE. Formation of indoleacetic acid by intestinal anaerobes. *J Bacteriol*. 1975 Oct;124(1):573–5.
382. Chyan YJ, Poeggeler B, Omar RA, Chain DG, Frangione B, Ghiso J, Pappolla MA. Potent neuroprotective properties against the Alzheimer beta-amyloid by an endogenous melatonin-related indole structure, indole-3-propionic acid. *J Biol Chem*. 1999 Jul 30;274(31):21937–42.
383. Bendheim PE, Poeggeler B, Neria E, Ziv V, Pappolla MA, Chain DG. Development of indole-3-propionic acid (OXIGON) for Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*. 2002 Aug-Oct;19(1–2):213–7.
384. Cheng X, van Breemen RB. Mass spectrometry-based screening for inhibitors of beta-amyloid protein aggregation. *Anal Chem*. 2005 Nov 1;77(21):7012–5. doi: 10.1021/ac050556a.
385. Karbownik M, Stasiak M, Zasada K, Zygmunt A, Lewinski A. Comparison of potential protective effects of melatonin, indole-3-propionic acid, and propylthiouracil against lipid peroxidation caused by potassium bromate in the thyroid gland. *J Cell Biochem*. 2005 May 1;95(1):131–8. doi: 10.1002/jcb.20404.
386. Karbownik M, Stasiak M, Zygmunt A, Zasada K, Lewiński A. Protective effects of melatonin and indole-3-propionic acid against lipid peroxidation, caused by potassium bromate in the rat kidney. *Cell Biochem Funct*. 2006 Nov-Dec;24(6):483–9. doi: 10.1002/cbf.1321.
387. Hwang IK, Yoo KY, Li H, Park OK, Lee CH, Choi JH, Jeong YG, Lee YL, Kim YM, Kwon YG, Won MH. Indole-3-propionic acid attenuates neuronal damage and oxidative stress in the ischemic hippocampus. *J Neurosci Res*. 2009 Jul;87(9):2126–37. doi: 10.1002/jnr.22030.
388. Mandelbaum-Shavit F, Barak V, Saheb-Tamimi K, Groszowicz N. Susceptibility of *Legionella pneumophila* grown extracellularly and in human monocytes to indole-3-propionic acid. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991 Dec;35(12):2526–30.
389. Rothhammer V, Mascanfroni ID, Bunse L, Takenaka MC, Kenison JE, Mayo L, Chao CC, Patel B, Yan R, Blain M, Alvarez JI, Kébir H, Anandasabapathy N, Izquierdo G, Jung S, Obholzer N, Pochet N, Clish CB, Prinz M, Prat A, Antel J, Quintana FJ. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med*. 2016 Jun;22(6):586–97. doi: 10.1038/nm.4106.
390. Venkatesh M., Mukherjee S, Wang H, Li H, Sun K, Benechet AP, Qiu Z, Maher L, Redinbo MR, Phillips RS, Fleet JC, Kortagere S, Mukherjee P, Fasano A, Le Ven J, Nicholson JK, Dumas ME, Khanna KM, Mani S. Symbiotic Bacterial Metabolites Regulate Gastrointestinal Barrier Function via the Xenobiotic Sensor PXR and Toll-like Receptor 4. *Immunity*. 2014 Aug 21;41(2):296–310. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.014.
391. Ranhotra HS, Flannigan KL, Brave M, Mukherjee S, Lukin DJ, Hirota SA, Mani S. Xenobiotic Receptor-Mediated Regulation of Intestinal Barrier Function and Innate Immunity. *Nucl Receptor Res*. 2016;3. pii: 101199. doi: 10.11131/2016/101199.
392. Elsden SR, Hilton MG, Waller JM. The end products of the metabolism of aromatic amino acids by Clostridia. *Arch Microbiol*. 1976 Apr 1;107(3):283–8.
393. Jellet JJ, Forrest TP, Macdonald IA, Marrie TJ, Holdeman LV. Production of indole-3-propanoic acid and 3-(p-hydroxyphenyl)propanoic acid by *Clostridium sporogenes*: a convenient thin-layer chromatography detection system. *Can J Microbiol*. 1980 Apr;26(4):448–53.
394. Wikoff WR, Anfora AT, Liu J, Schultz PG, Lesley SA, Peters EC, Siuzdak G. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 10;106(10):3698–703. doi: 10.1073/pnas.0812874106.
395. Young SN, Anderson GM, Gauthier S, Purdy WC. The origin of indoleacetic acid and indolepropionic acid in rat and human cerebrospinal fluid. *J Neurochem*. 1980 May;34(5):1087–92.
396. Danaceau JP, Anderson GM, McMahon WM, Crouch DJ. A liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the analysis of serotonin and related indoles in human whole blood. *J Anal Toxicol*. 2003 Oct;27(7):440–4.
397. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Moschen AR, Kaser A, Obrist P, Fuchs D, Brandacher G, Winkler C, Geboes K, Rutgeerts P, Tilg H. Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human inflammatory bowel disease. *Clin Immunol*. 2004 Oct;113(1):47–55. doi: 10.1016/j.clim.2004.05.004.

398. Torres MI, López-Casado MA, Lorite P, Ríos A. Tryptophan metabolism and indoleamine 2,3-dioxygenase expression in coeliac disease. *Clin Exp Immunol.* 2007 Jun;148(3):419–24. doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03365.x.
399. Etienne-Mesmin L, Chassaing B, Gewirtz AT. Tryptophan: A gut microbiota-derived metabolites regulating inflammation. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2017 Feb 6;8(1):7–9. doi: 10.4292/wjgpt.v8.i1.7.
400. Lustgarten MS, Fielding RA. Metabolites Associated With Circulating Interleukin-6 in Older Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2017 Sep 1;72(9):1277–83. doi: 10.1093/gerona/glw039.
401. Lamas B, Richard ML, Leducq V, Pham HP, Michel ML, Da Costa G, Bridonneau C, Jegou S, Hoffmann TW, Natividad JM, Brot L, Taleb S, Couturier-Maillard A, Nion-Larmurier I, Merabte F, Seksik P, Bourrier A, Cosnes J, Ryffel B, Beaugerie L, Launay JM, Langella P, Xavier RJ, Sokol H. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands. *Nat Med.* 2016 Jun;22(6):598–605. doi: 10.1038/nm.4102.
402. Martin FP, Su MM, Xie GX, Guiraud SP, Kussmann M, Godin JP, Jia W, Nydegger A. Urinary metabolic insights into host-gut microbial interactions in healthy and IBD children. *World J Gastroenterol.* 2017 May 28;23(20):3643–3654. doi: 10.3748/wjg.v23.i20.3643.
403. Qu D, Shen L, Liu S, Li H, Ma Y, Zhang R, Wu K, Yao L, Li J, Zhang J. Chronic inflammation confers to the metabolic reprogramming associated with tumorigenesis of colorectal cancer. *Cancer Biol Ther.* 2017 Apr 3;18(4):237–244. doi: 10.1080/15384047.2017.1294292.
404. Maccaferri S, Vitali B, Klinder A, Kolida S, Ndagijimana M, Laghi L, Calanni F, Brigidi P, Gibson GR, Costabile A. Rifaximin modulates the colonic microbiota of patients with Crohn's disease: an in vitro approach using a continuous culture colonic model system. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Dec;65(12):2556–65. doi: 10.1093/jac/dkq345.
405. Ардатская М.Д. Пробиотики, пребиотики и метаболиты в коррекции микробиологических нарушений кишечника // Медицинский совет. – 2015. – № 13. – С. 94–99.
406. Ip WKE, Hoshi N, Shouval DS, Snapper S, Medzhitov R. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science.* 2017 May 5;356(6337):513–519. doi: 10.1126/science.aal3535.
407. Shenderov BA. Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *Microb Ecol Health Dis.* 2013 Apr 12;24. doi: 10.3402/mehd.v24i0.20399.
408. de Sousa Moraes LF, Grzeskowiak LM, de Sales Teixeira TF, Gouveia Peluzio Mdo C. Intestinal microbiota and probiotics in celiac disease. *Clin Microbiol Rev.* 2014 Jul;27(3):482–9. doi: 10.1128/CMR.00106–13.