

УСИЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К 5-ФТОРУРАЦИЛУ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНДОЛ-3-ПРОПИОНОВОЙ КИСЛОТЫ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

**Филиппова С. Ю. ORCID ID 0000-0002-4558-5896,
Тимофеева С. В. ORCID ID 0000-0002-5945-5961, Лысенко Д. А.,
Колесников В. Е. ORCID ID 0000-0002-9979-5961,
Сагакянц А. Б. ORCID ID 0000-0003-0874-5261,
Златник Е. Ю. ORCID ID 0000-0002-1410-122X**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация, e-mail: Filsv@yandex.ru

Целью исследования было изучение влияния индол-3-пропионовой кислоты на чувствительность клеток колоректального рака к 5-фторурацилу на фоне блокирования сигнализации рецепторов AhR и PXR. В исследовании использовали клеточные линии колоректальной карциномы мыши CT26 и человека HT-29, Caco-2 и HCT 116. Клетки высаживали по 7×10^3 клеток на лунку 96-луночного планшета в полной питательной среде DMEM. Далее проводили измерение цитостатического действия: 1) индол-3-пропионовая кислота в серии двукратных разведений от 500 до 0,5 мкМ в самостоятельном применении и на фоне 5 мкМ кетоконазола или 5 мкМ ресвератрола; 2) 5-фторурацил в серии двукратных разведений от 1000 до 1 мкМ; 3) 5-фторурацил в дозе, близкой к IC₅₀, в сравнении с эффектом от совместного применения с индол-3-пропионовой кислотой в концентрациях 0,5, 4, 32 и 250 мкМ в самостоятельном варианте и на фоне 5 мкМ кетоконазола или 5 мкМ ресвератрола. По истечении 24 или 72 ч проводили МТТ-тест. Индол-3-пропионовая кислота привела к усилению метаболической активности всех культур колоректального рака при 24 ч экспозиции. После 72 ч при максимальной концентрации индол-3-пропионовой кислоты наблюдалось снижение жизнеспособности на 10-20%. Наблюдаемые эффекты не зависели от кетоконазола и ресвератрола. При совместном применении индол-3-пропионовой кислоты и 5-фторурацила наблюдалось снижение цитостатической активности 5-фторурацила в культурах HT-29 и HCT 116 при добавлении 250 мкМ и 72 ч экспозиции. Наблюдаемый эффект блокировался применением кетоконазола, но не ресвератрола. Индол-3-пропионовая кислота в высоких концентрациях способна вызвать устойчивость к 5-фторурацилу в некоторых культурах колоректального рака. Эта активность, вероятно, связана с экспрессией ядерного рецептора PXR, но не AhR.

Ключевые слова: вторичные метаболиты; индол-3-пропионовая кислота; колоректальный рак, 5-фторурацил, лекарственная устойчивость.

ENHANCEMENT OF 5-FLUOROURACIL RESISTANCE BY INDOLE-3-PROPIONIC ACID IN COLORECTAL CANCER CELL CULTURES

**Filippova S. Yu. ORCID ID 0000-0002-4558-5896,
Timofeeva S. V. ORCID ID 0000-0002-5945-5961, Lysenko D. A.,
Kolesnikov V. E. ORCID ID 0000-0002-9979-5961,
Sagakyants A. B. ORCID ID 0000-0003-0874-5261,
Zlatnik E. Yu. ORCID ID 0000-0002-1410-122X**

Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russian Federation, e-mail: Filsv@yandex.ru

The aim of the study was to investigate the effect of indole-3-propionic acid on the sensitivity of colorectal cancer cells to 5-fluorouracil in the presence of AhR and PXR receptor signaling blockade. The study included the murine colorectal carcinoma cell line CT26 and the human colorectal cancer cell lines HT-29, Caco-2, and HCT 116. Cells were seeded at a density of 7×10^3 cells per well in 96-well plates containing complete DMEM. Cytostatic activity was assessed under the following conditions: (1) indole-3-propionic acid applied alone at twofold serial dilutions ranging from 500 to 0.5 μ M or in combination with 5 μ M ketoconazole or 5 μ M resveratrol; (2) 5-fluorouracil applied at twofold serial dilutions ranging from 1,000 to 1 μ M; and (3) 5-fluorouracil at a concentration close to its IC₅₀, applied alone or in combination with indole-3-propionic acid at concentrations of 0.5, 4, 32, and 250 μ M, with or without 5 μ M ketoconazole or 5 μ M resveratrol. Cell viability was assessed using

the MTT assay after 24 or 72 h of exposure. Indole-3-propionic acid increased the metabolic activity of all colorectal cancer cell cultures after 24 h of exposure. After 72 h, the highest concentration of indole-3-propionic acid reduced cell viability by 10–20%. These effects were not affected by ketoconazole or resveratrol. Combined treatment with indole-3-propionic acid and 5-fluorouracil reduced the cytostatic activity of 5-fluorouracil in HT-29 and HCT 116 cells after 72 h of exposure to 250 μ M indole-3-propionic acid. This effect was blocked by ketoconazole but not by resveratrol. At high concentrations, indole-3-propionic acid may increase resistance to 5-fluorouracil in certain colorectal cancer cell lines. This effect is likely associated with PXR signaling rather than AhR signaling.

Keywords: secondary metabolites, indole-3-propionic acid, colorectal cancer, 5-fluorouracil, drug resistance.

Введение

В настоящее время в научной литературе всё большее внимание уделяется изучению возможностей использования различных вторичных метаболитов растений, грибов и микроорганизмов для профилактики и лечения онкологических заболеваний [1; 2]. Среди них особое место занимает индол-3-пропионовая кислота (ИПК) - вторичный метаболит, который синтезируется бактериями кишечника человека в результате ферментации аминокислоты триптофана [3]. Противоопухолевое действие ИПК реализуется на нескольких уровнях: она способна модулировать клеточные сигнальные пути, а также повышать общую устойчивость организма к воздействию патогенов и неблагоприятных факторов внешней среды [4]. Так, известно, что ИПК способствует снижению пролиферативной активности клеток рака молочной железы, сокращению содержания опухолевых стволовых клеток и маркеров эпителиально-мезенхимального перехода *in vitro*, а также и сокращению количества митозов в опухолях рака молочной железы и уменьшению метастазирования *in vivo* [5]. Кроме того, было показано, что ИПК, наряду с другими микробными метаболитами, может улучшать результаты лечения блокаторами контрольных точек иммунитета [6].

На данный момент о роли ИПК в патогенезе колоректального рака (КРР) известно относительно немного. Так, с одной стороны, ИПК известна своей способностью уменьшать воспаление в кишечнике и восстанавливать барьерную функцию эпителия кишечника – факторы, известные своим стимулирующим действием при развитии КРР [7]. С другой стороны, высокий уровень данного метаболита ассоциирован с развитием КРР [8]. Вероятно, данное противоречие связано с непрямым действием ИПК на клетки микроокружения опухоли, в частности макрофаги. Известно, что ИПК способствует индукции M2 поляризации макрофагов, что приводит к усилению подвижности, пролиферации и инвазии клеток КРР [9].

Из литературных источников известно, что наблюдаемая биологическая активность производных триптофана, к которым относится и ИПК, реализуется через взаимодействие с ядерными рецепторами - арилуглеводородным рецептором (AhR) и рецептором прегнана X (PXR) [10]. Данные рецепторы управляют множеством клеточных сигнальных путей, поэтому конечный результат их активации зависит как от типа клетки, так и от молекулярного строения лиганда. В частности, одним из последствий их активации является усиленная экспрессия

молекул, способствующих детоксикации, а значит и, потенциально, сокращению эффективности противоопухолевой лекарственной терапии [11].

Цель исследования. Исследовать цитостатическую активность индол-3-пропионата и его комбинаций с 5-фторурацилом в отношении культур клеток колоректального рака и её связь с активностью рецепторов AhR и PXR.

Материал и методы исследования

Клеточные культуры. В работе использовали культуры клеточных линий колоректальной карциномы мыши CT26 и колоректальной аденокарциномы человека HT-29, Caco-2 и HCT 116. Клетки культивировали в полной питательной среде DMEM (ServiceBio, Китай) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки («Биолот», РФ), 1% глутамина («Биолот», РФ), 1% пенициллина-стрептомицина («Биолот», РФ).

Исследование цитостатической активности. Для построения кривой «доза - ответ» клетки исследуемых культур высаживали в 96-луночные планшеты по 7×10^3 клетки на лунку. После адгезии клеток ко дну лунок среду культивирования заменяли на среду, содержащую индол-3-пропионовую кислоту (ИПК) (Sigma-Aldrich, США) в серии двукратных разведений от 500,0 до 0,5 мкМ, а также контроль без добавления ИПК по 8 технических повторов для каждого опыта. Далее культивирование проводили 24 или 72 ч. Эксперимент повторили также в присутствии 5,0 мкМ кетоконазола (KET) (Sigma-Aldrich, США) или 5,0 мкМ ресвератрола (PEC) (Sigma-Aldrich, США).

Половинную ингибирующую концентрацию (IC_{50}) для 5-фторурацила (5-ФУ) (ООО «Компания Деко», РФ) определяли путём построения кривых «доза - ответ», для чего в среду культивирования вносили 5-ФУ в серии двукратных разведений от 1000,0 до 1,0 мкМ, а также контроль без добавления 5-ФУ, по 8 технических повторов для каждого опыта. Далее планшеты культивировали 24 или 72 ч. Эксперимент повторили в трёх биологических повторах.

Провели оценку жизнеспособности с использованием МТТ-теста по стандартной методике [12]. Для каждого варианта опыта определяли жизнеспособность как отношение оптической плотности при 570 нм в опытных лунках к значению этого показателя в контрольных лунках, выраженное в процентах. Далее определяли IC_{50} с помощью онлайн-инструмента IC50 Calculator [13] с использованием 3-параметрической модели и нормализации на максимальный ответ.

Для исследования сочетанного цитостатического действия ИПК и 5-ФУ для каждой культуры было заложено: 1) контроль без добавления тестируемых соединений; 2) IC_{50} 5-ФУ; 3) 0,5 мкМ ИПК + IC_{50} 5-ФУ; 4) 4 мкМ ИПК + IC_{50} 5-ФУ; 5) 32,0 мкМ ИПК + IC_{50} 5-ФУ; 6) 250,0 мкМ ИПК + IC_{50} 5-ФУ. Эксперимент повторили также в присутствии 5,0 мкМ KET или

5,0 мкМ РЕС. Всего было заложено по 8 технических повторов для каждого варианта опыта. Далее планшеты культивировали 24 или 72 ч, после чего проводили МТТ-тест по стандартной методике и определяли жизнеспособность по формуле, указанной выше. Эксперимент повторили в трёх биологических повторах.

Статистическая обработка результатов. Каждый эксперимент ставили трижды, и конечное значение жизнеспособности, а также IC_{50} определяли как среднее из трёх полученных независимых результатов $\pm$ стандартное отклонение. Сравнение средних значений проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Размер эффекта определяли с помощью коэффициента d Коэна. Для учёта поправки на множественное сравнение использовали метод Холма.

Результаты исследования и их обсуждение

Построение кривой «доза - ответ» для ИПК провели в диапазоне концентраций от 0,5 до 500,0 мкМ. Данные значения были подобраны на основании литературного поиска и охватывают естественные уровни ИПК в крови в норме и после приема внутрь высоких доз ИПК. Известно, что физиологический уровень ИПК в крови человека в среднем колеблется в пределах 0,5-4 мкМ в зависимости от состояния здоровья [14]. Так как авторам не удалось найти данные фармакологических исследований ИПК на человеке, то за ориентир были взяты данные, полученные в эксперименте на крысах, где было показано, что уровень ИПК в крови резко (до 51 раза) возрастает в первые 90 минут по сравнению с базовым уровнем 6,4 мкМ после перорального приёма 200 мг/кг [15] (рис. 1).

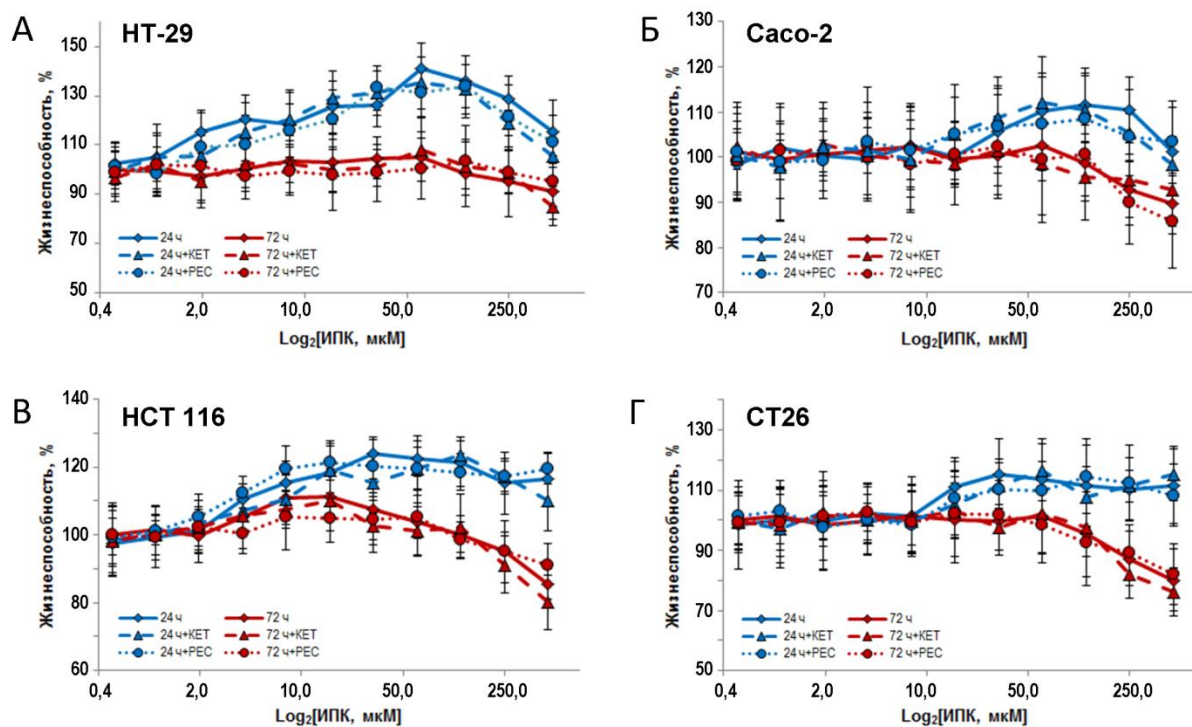


Рис. 1. Цитостатическое действие ИПК в клеточных культурах КРР: А - культура НТ-29; Б - культура Сасо-2; В - культура НСТ 116; Г - культура СТ26. Концентрация КЕТ 5,0 мкМ, концентрация РЕС 5,0 мкМ (составлено авторами)

Во всех четырёх культурах наблюдалось значительное усиление жизнеспособности при экспозиции 24 ч. При этом в культурах НТ-29 и НСТ 116 увеличение оптической плотности по сравнению с контролем без добавления ИПК происходило уже при 20,0 мкМ, достигая своего пика при 500,0 мкМ. Отметим, что в культуре НТ-29 максимальная разница с контролем составила более 40%, а в культуре НСТ 116 разница была меньше и лежала в пределах 20-30%. Известно, что ИПК способна усиливать клеточное дыхание. Ранее этот эффект был обнаружен в лимфоцитах периферической крови мышей при пероральном приёме ИПК в дозе 200 мг/кг [16] и кардиомиоцитах мышей *in vitro* в диапазоне концентраций ИПК от 5 до 1000 мкМ [17; 18]. Вероятно, то же самое явление авторы зафиксировали и в эксперименте на культурах злокачественных клеток при экспозиции 24 ч, так как МТТ-тест, примененный для непрямого определения количества живых клеток, измеряет продукцию восстановленного НАДФ в митохондриях и прямо связан с уровнем энергетического метаболизма.

По истечении 72 ч экспозиции наблюдалось появление цитостатического эффекта во всех четырёх культурах при высоких концентрациях ИПК. При этом наибольшую чувствительность продемонстрировала культура СТ26, в которой значение жизнеспособности при 500,0 мкМ ИПК составило $80,12 \pm 10,2\%$, а наименьшую – культура НТ-29, в которой данный показатель составил $91,23 \pm 11,3\%$. Применение КЕТ и РЕС не оказало существенного влияния на наблюдаемые показатели жизнеспособности. Таким образом, полученных данных оказалось недостаточно для построения сигмовидной кривой и получения значения IC_{50} . Данные концентрации превышают физиологический уровень ИПК в крови человека [14] и сопоставимы, вероятно, с фармакологическим уровнем, который, как показывают исследования на животных, может многократно превышать нормальный уровень после перорального приёма высоких доз ИПК [15].

Для исследования взаимодействия 5-ФУ и ИПК далее определили половинную ингибирующую концентрацию 5-ФУ для каждой клеточной линии и экспозиций 24 и 72 ч путём построения кривых «доза - ответ» (графики не приведены). Во всех культурах удалось получить типичные сигмовидные кривые и вычислить значение IC_{50} , результаты представлены в таблице.

Половинная ингибирующая концентрация 5-фторурацила в культурах
колоректального рака (мкМ)

№	Клеточная линия	Половинная ингибирующая концентрация 5-ФУ, мкМ	
		24 ч	72 ч
1	СТ26	35,7±7,4	5,9±1,5
2	НТ-29	25,1±8,1	3,2±1,6
3	НСТ 116	54,4±10,1	12,5±4,1
4	Сасо-2	78,5±9,2	44,1±9,5

Примечание. Составлено авторами по результатам исследования.

По результатам исследования, наиболее чувствительными к действию 5-ФУ оказались культуры СТ26 и НТ-29, а Сасо-2 и НСТ 116 продемонстрировали меньшую чувствительность.

Далее проводили исследование совместного действия 5-ФУ и ИПК путём сравнения жизнеспособности исследуемых культур в присутствии каждого соединения по отдельности и при совместном применении. Опыт проводили без дополнительных воздействий и в присутствии КЕТ (5,0 мкМ) или РЕС (5,0 мкМ). Подобрали концентрации 5-ФУ близкие к IC_{50} для каждой культуры и времени экспозиции. Так, для культуры СТ26 тестируемые дозы 5-ФУ составили 35,0 мкМ (24 ч) и 6,0 мкМ (72 ч), для НТ-29 – 25,0 и 3,0 мкМ, для НСТ 116 – 54,0 и 13,0 мкМ и для Сасо-2 – 78,0 и 44,0 мкМ соответственно. Концентрации ИПК в данном эксперименте составили 0,5, 4,0, 32,0 и 250,0 мкМ.

Было показано, что при 24 ч экспозиции не наблюдалось статистически значимых различий в жизнеспособности исследуемых культур между 5-ФУ в самостоятельном применении и в сочетании с ИПК (данные не приведены). Однако при 72 ч экспозиции ИПК было обнаружено снижение цитостатической активности 5-ФУ в культурах НТ-29 и НСТ 116, в которых наблюдалось увеличение жизнеспособности при добавлении в среду культивирования 250,0 мкМ ИПК (рис. 2). Тем не менее, несмотря на большой эффект ($d_{НТ29} = 2,7$; $d_{НСТ116} = 3,6$), после применения поправки на множественное сравнение Холма - Бонферрони разница между средними значениями оказалась недостоверной при пороге допустимой ошибки $\alpha=0,05$. При этом наблюдаемый эффект полностью блокировался применением блокатора PXR кетоконазола, но не блокатора AhR ресвератрола.

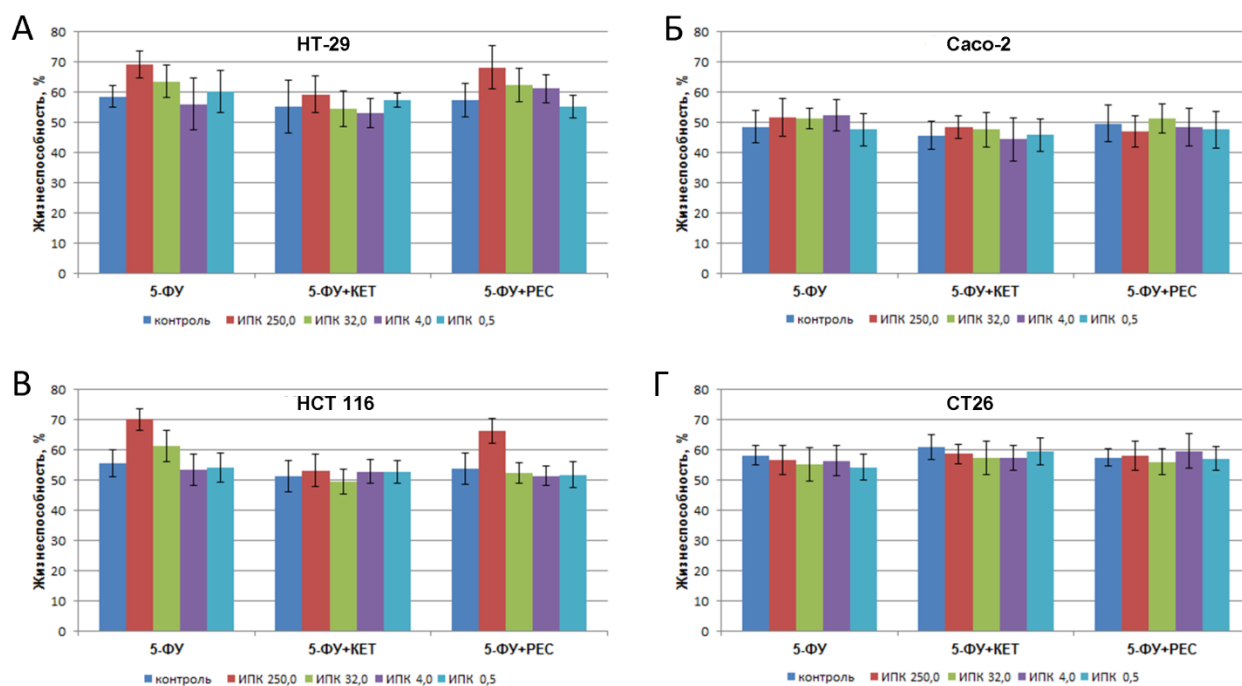


Рис. 2. Цитостатическое действие 5-ФУ в сочетании с ИПК на культуры клеточных линий КРР: А - культура HT-29; Б - культура Caco-2; В - культура HCT 116; Г - культура CT26. Экспозиция 72 ч. Концентрации ИПК приведены в мкМ. Концентрации 5-ФУ см. в тексте. Концентрация KET 5,0 мкМ, концентрация PEC 5,0 мкМ (составлено авторами)

Значение индекса HSA для сочетаний 5-ФУ и 250 мкМ ИПК составило в культуре HT-29 1,35 без применения ингибиторов, 1,1 при применении KET и 1,34 при применении PEC. Для культуры HCT 116 значение индекса составило 1,48 без применения ингибиторов, 1,04 при применении KET и 1,38 при применении PEC. Данные значения индекса HSA свидетельствуют о наличии антагонизма между двумя исследованными соединениями при данных концентрациях [19].

Наблюдаемое предполагаемое увеличение резистентности к 5-ФУ при действии высоких доз ИПК и длительной экспозиции, вероятно, связано с индукцией экспрессии генов-детоксикантов, например MDR1, которая проявляется при длительном инкубировании в присутствии ИПК и его воздействии на ядерные рецепторы, в частности PXR [20]. Возможная связь с сигнализацией PXR подтверждается тем фактом, что эффект усиления устойчивости к 5-ФУ блокировался применением блокатора PXR кетоконазола. При этом разная реакция исследуемых культур КРР на применение ИПК может быть связана с различиями в уровне экспрессии PXR. В частности, по литературным данным известно, что экспрессия данного рецептора снижена в культуре Caco-2, по сравнению с другими линиями КРР, что может

приводить к менее выраженной реакции клеток на активацию этого рецептора [21]. Так как в своей работе авторы не исследовали уровень экспрессии ядерных рецепторов, то установить эту связь однозначно не можем. Несмотря на то, что полученные данные демонстрируют способность ИПК снижать цитостатический эффект 5-фторурацила в культурах колоректального рака, следует с осторожностью интерпретировать эти результаты в клиническом контексте. Модель *in vitro* не учитывает влияние опухолевого микроокружения, системного метаболизма препаратов и иммунного ответа пациента. В клинической практике эффективность полихимиотерапии является результатом сложного взаимодействия прямых и опосредованных механизмов регуляции [22].

Известно, что AhR прямо или косвенно контролирует экспрессию широкого спектра генов, участвующих в нескольких метаболических путях, таких как синтез липидов и холестерина, энергетический метаболизм, метаболизм ксенобиотиков и многочисленные транспортеры. Тем не менее из-за большого разнообразия механизмов связывания с практически неограниченным кругом лигандов конечный эффект от их взаимодействия с рецептором может варьировать в широких пределах, которое в итоге может либо способствовать канцерогенезу, либо ингибировать его [23]. Хотя известно, что ИПК относится к лигандам AhR, данное соединение всё же довольно слабо взаимодействует с рецептором даже при 1000,0 мкМ по сравнению со многими другими микробными метаболитами [24]. Таким образом, вероятно, наблюдаемое отсутствие интерференции ресвератрола с усилением устойчивости исследуемых культур к 5-ФУ под действием ИПК может быть связано как с низкой экспрессией AhR, так и со слишком слабой стимуляцией данного рецептора при протестированных концентрациях ИПК и длительности экспозиции в данных клеточных культурах.

Ограничения исследования. Данное исследование является разведочным. Несмотря на отмеченный заметный эффект ослабления действия 5-ФУ под действием высоких доз ИПК в двух из четырёх исследованных культур KPR, авторам не удалось продемонстрировать статистическую значимость полученных результатов из-за ограничения выборки (всего по три элемента в каждой выборке, соответствующих биологическим повторам) и большого количества попарных сравнений. Для преодоления данного ограничения будущее подтверждающее исследование будет проведено с большим количеством независимых повторов для культур и сочетаний, показавших наибольший эффект.

Заключение

Индол-3-пропионовая кислота при 250,0 мкМ и 72 ч экспозиции ассоциирована с умеренным снижением МТТ-регистрируемого цитостатического эффекта 5-ФУ в НТ-29 и НСТ 116. Предположительно, эта активность опосредована через сигнальный путь ядерного

рецептора PXR, но не AhR. Кроме того, наблюдаемое усиление метаболической активности опухолевых клеток под действием ИПК может теоретически способствовать их выживаемости и пролиферации за счёт поддержания высокого уровня продукции АТФ и НАДФ+Н, что требует дальнейшего изучения в контексте комбинированной терапии.

Список литературы

1. Филиппова С. Ю., Шамова Т. В., Тимофеева С. В., Ситковская А. О., Межевова И. В., Гненная Н. В., Новикова И. А., Енин Я. С., Буров О. Н., Златник Е. Ю., Мезенцев С. С., Черникова Е. Н., Пандова О. В., Позднякова В. В., Ежова М. О., Бакулина С. М., Хохлова О. В. Влияние некоторых метаболитов из растений рода *Petasites* sp. на подвижность опухолевых клеток *in vitro* // Гены и Клетки. 2022. Т. 17. С. 60-63. DOI: 10.23868/202209009.
2. Филиппова С. Ю., Тимофеева С. В., Ситковская А. О., Межевова И. В., Енин Я. С., Буров О. Н., Позднякова В. В., Хохлова О. В., Мезезенцев С. С., Пандова О. В. Влияние берберины на энергетический фенотип клеток линий рака молочной железы // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2021. Т. 10. С. 42-46. URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=13290> (дата обращения: 21.06.2026).
3. Konopelski P., Mogilnicka I. Biological Effects of Indole-3-Propionic Acid, a Gut Microbiota-Derived Metabolite, and Its Precursor Tryptophan in Mammals' Health and Disease // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23 (3). P. 1222. DOI: 10.3390/ijms23031222.
4. Shestakova K. M., Moskaleva N. E., Boldin A. A., Rezvanov P. M., Shestopalov A. V., Rumyantsev S. A., Zlatnik E. Yu., Novikova I. A., Sagakyants A. B., Timofeeva S. V., Simonov Y., Baskhanova S. N., Tobolkina E., Rudaz S., Appolonova S.A. Targeted metabolomic profiling as a tool for diagnostics of patients with non-small-cell lung cancer // Scientific Reports. 2023. Vol. 13. P. 11072. DOI: 10.1038/s41598-023-38140-7.
5. Sári Z., Mikó E., Kovács T., Jankó L., Csonka T., Lente G., Sebő É., Tóth J., Tóth D., Árkosy P., Boratkó A., Ujlaki G., Török M., Kovács I., Szabó J., Kiss B., Méhes G., Goedert J. J., Bai P. Indolepropionic acid, a metabolite of the microbiome, has cytostatic properties in breast cancer by activating AHR and PXR receptors and inducing oxidative stress // Cancers (Basel). 2020. Vol. 12. P. 2411. DOI: 10.3390/cancers12092411.
6. Shestopalov A. V., Kit O. I., Zabolotneva A. A., Zlatnik E. Y., Maksimov A. Yu., Novikova I. A., Sagakyants A. B., Timofeeva S. V., Goncharova A. S., Galina A. V., Appolonova S. A., Markin P. A., Makarov V. V., Yudin S. M., Keskinov A. A., Roumiantsev S. A., Meshkov O. I. Alkylresorcinols as a new type of gut microbiota regulators influencing immune

therapy efficiency in lung cancer treatment // Advanced Gut & Microbiome Research. 2023. Vol. 2023. P. 2333767. DOI: 10.1155/2023/2333767.

7. Liu Y., Pei Z., Pan T., Wang H., Chen W., Lu W. Indole metabolites and colorectal cancer: Gut microbial tryptophan metabolism, host gut microbiome biomarkers, and potential intervention mechanisms // Microbiol Res. 2023. Vol. 272. P. 127392. DOI: 10.1016/j.micres.2023.127392.

8. Gumpenberger T., Brezina S., Keski-Rahkonen P., Baierl A., Robinot N., Leeb G., Habermann N., Kok D. E. G., Scalbert A., Ueland P. M., Ulrich C. M., Gsur A. Untargeted metabolomics reveals major differences in the plasma metabolome between colorectal cancer and colorectal adenomas // Metabolites. 2021. Vol. 11. P. 119. DOI: 10.3390/metabo11020119.

9. Song Q., Jin Z., Zhang H., Hong K., Zhu B., Yin H., Yu B. Fusobacterium nucleatum-derived 3-indolepropionic acid promotes colorectal cancer progression via aryl hydrocarbon receptor activation in macrophages // Chem Biol Interact. 2025. Vol. 414. P. 111495. DOI: 10.1016/j.cbi.2025.111495.

10. Jalili C., Hosseinkhani F., Dayer D., Tabandeh M. R., Abbasi A., Zamir Nasta T. Indole-3-propionic acid function through PXR and AhR, molecular signaling pathways, and antitoxic role in underlying diseases // J. Steroid Biochem Mol Biol. 2026. Vol. 255. P. 106877. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2025.106877.

11. Niu X., Wu T., Li G., Gu X., Tian Y., Cui H. Insights into the critical role of the PXR in preventing carcinogenesis and chemotherapeutic drug resistance // Int J Biol Sci. 2022. Vol. 18. P. 742-759. DOI: 10.7150/ijbs.68724.

12. van Meerloo J., Kaspers G. J. L., Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay // Methods Mol. Biol. 2011. Vol. 731. P. 237–245. DOI: 10.1007/978-1-61779-080-5_20.

13. Quest Graph™ IC50 Calculator / AAT Bioquest, Inc.: Sunnyvale, CA, USA, 2021-2025. URL: <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator> (дата обращения 15.06.2026).

14. Cussotto S., Delgado I., Anesi A., Dexpert S., Aubert A., Beau C., Forestier D., Ledaguenel P., Magne E., Mattivi F., Capuron L. Tryptophan metabolic pathways are altered in obesity and are associated with systemic inflammation // Front Immunol. 2020. Vol. 11. P. 557. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00557.

15. Sathyaikumar K. V., Blanco-Ayala T., Zheng Y., Schwieler L., Erhardt S., Tufvesson-Alm M., Poeggeler B., Schwarcz R. The tryptophan metabolite indole-3-propionic acid raises kynurenic acid levels in the rat brain *in vivo* // International Journal of Tryptophan Research. 2024. Vol. 17. DOI: 10.1177/11786469241262876.

16. Li Q., de Oliveira Formiga R., Puchois V., Creusot L., Ahmad A. H., Amouyal S., Campos-Ribeiro M. A., Zhao Y., Harris D. M. M., Lasserre F., Ellero-Simatos S., Guillou H., Huang Z., Brot L., Hu Y., Chollet L., Danne C., Scandola C., Ledent T., Chevreux G., Argüello R. J., De

- Carvalho Bittencourt M., Bettinger J., D'Aveni-Piney M., Moulin D., Schreiber S., Aden K., Rolhion N., Michel M. L., Wai T., Sokol H. Microbial metabolite indole-3-propionic acid drives mitochondrial respiration in CD4⁺ T cells to confer protection against intestinal inflammation // *Nat Metab.* 2025. Vol. 7. P. 2510–2530. DOI: 10.1038/s42255-025-01396-6.
17. Konopelski P., Chabowski D., Aleksandrowicz M., Kozniewska E., Podsadni P., Szczepanska A., Ufnal M. Indole-3-propionic acid, a tryptophan-derived bacterial metabolite, increases blood pressure via cardiac and vascular mechanisms in rats // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* 2021. Vol. 321. №. 6. P. R969-R981. DOI: 10.1152/ajpregu.00142.2021.
18. Gesper M., Nonnast A. B. H., Kumowski N., Stoeher R., Schuett K., Marx N., Kappel B. A. Gut-derived metabolite indole-3-propionic acid modulates mitochondrial function in cardiomyocytes and alters cardiac function // *Front. Med.* 2021. Vol. 8. P. 648259. DOI: 10.3389/fmed.2021.648259.
19. Duarte D., Vale N. Evaluation of synergism in drug combinations and reference models for future orientations in oncology // *Curr Res Pharmacol Drug Discov.* 2022. Vol. 3. P. 100110. DOI: 10.1016/j.crphar.2022.100110.
20. Illés P., Krasulová K., Vyhlídalová B., Poulíková, K., Marcalíková, A., Pečínková, P., Sirotová, N., Vrzal, R., Mani, S., Dvořák, Z. Indole microbial intestinal metabolites expand the repertoire of ligands and agonists of the human pregnane X receptor // *Toxicol Lett.* 2020. Vol. 334. P. 87-93. DOI: 10.1016/j.toxlet.2020.09.015.
21. Pfrunder A., Gutmann H., Beglinger C., Drewe J. Gene expression of CYP3A4, ABC-transporters (MDR1 and MRP1-MRP5) and hPXR in three different human colon carcinoma cell lines // *J Pharm Pharmacol.* 2003. Vol. 55. P. 59-66. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2003.tb02434.x.
22. Lim S. A. Metabolic reprogramming of the tumor microenvironment to enhance immunotherapy // *BMB Rep.* 2024. Vol. 57 (9). P. 388-399. DOI: 10.5483/BMBRep.2024-0031.
23. Opitz C. A., Holfelder P., Prentzell M. T., Trump S. The complex biology of aryl hydrocarbon receptor activation in cancer and beyond // *Biochem Pharmacol.* 2023. Vol. 216. P. 115798. DOI: 10.1016/j.bcp.2023.115798.
24. Modoux M., Rolhion N., Lefevre J. H., Oeuvray C., Nádvorník P., Illes P., Emond P., Parc Y., Mani S., Dvorak Z., Sokol H. Butyrate acts through HDAC inhibition to enhance aryl hydrocarbon receptor activation by gut microbiota-derived ligands // *Gut Microbes.* 2022. Vol. 14. P. 2105637. DOI: 10.1080/19490976.2022.2105637.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Исследование проводилось с использованием оборудования Центра коллективного пользования Национального медицинского научно-исследовательского центра онкологии (НМИЦ) Министерства здравоохранения Российской Федерации (регистрационный номер 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

Financing: The study was conducted using equipment from the Center for Collective Use of the National Medical Research Institute of Oncology (NMITs) of the Ministry of Health of the Russian Federation (registration No. 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).