

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE
MOLEKULĀRĀS BIOLOĢIJAS KATEDRA

**CILVĒKU ZARNU TRAKTA MIKROBIOMA RĀDĪTĀJU ASOCIĀCIJA
AR UZTURA PARADUMIEM ATKARĪBĀ NO TO ATBILSTĪBAS
UZTURA REKOMENDĀCIJĀM**

MAGISTRA DARBS

Autors: Nikita Fomins

Stud. apl. Nr. nf20005

Darba vadītājs: Dr. biol. Dita Gudrā

RĪGA 2024

“Nothing in biology makes sense except in the light of evolution.”

Theodosius Dobzhansky 1973

KOPSAVILKUMS

Uzturam ir būtiska ietekme uz zarnu mikrobiomu, tomēr uztura analīzes pieejām ir vairāki būtiski trūkumi. Šī pētījuma mērķis bija uzlabot indivīdu uztura definēšanas metodes, validēt izstrādāto dizainu izmantojot LMP dalībnieku sniegto informāciju uztura dienasgrāmatā, un, izmantojot mikrobioma datus paredzēt indivīdu uztura paradumus. Pētījumā iekļautie dalībnieki tika iedalīti divās grupās balstoties uz uztura paradumu atbilstību rekomendācijām un tika savstarpēji salīdzināti izmantojot dažādus mikrobioma rādītājus. Lai gan netika konstatētas būtiskas atšķirības alfa daudzveidības indeksos, iegūtie rezultāti norāda uz atšķirībām mikrobioma sastāvā un to tīklojuma rādītājos starp uztura grupām. Mikrobiālo centrmezglu relatīvā izplatība nav piemērots rādītājs indivīdu stratificēšanai pēc to uztura paradumu atbilstības rekomendācijām.

Atslēgvārdi: uztura dienasgrāmata, pārtikas produktu grupas, uztura paradumi, diferenciālā tīklu analīze, fēču mikrobioma daudzveidība, mašīnmācīšanās

SUMMARY

Nutrition is a major factor affecting the gut microbiome. However, current approaches to analyse the dietary data face several issues. This study aimed to improve methods for defining individual diets, validate the developed design using dietary information from participants of the Latvian Microbiome Project, and predict dietary habits of individuals using microbiome data. Study participants were divided into two groups based on their adherence to dietary guidelines, with further comparison based on different gut microbiome markers. Although no differences were observed in alpha-diversity indices, results indicated differences in gut microbiome composition and microbial network centrality measures between groups. The relative abundance of identified microbial hubs was a poor indicator for predicting the dietary patterns of participants.

Keywords: food records, dietary product groups, dietary patterns, differential network analysis, faecal microbiome diversity, machine learning

APZĪMĒJUMU UN SAĪSINĀJUMU SARAKSTS

a posteriori – izrietošs no pieredzes (no latīņu val.)

a priori – izrietošs no loģikas (no latīņu val.)

ARI – koriģētais Randa indekss

AUC – laukums zem līknes (no angļu val. – *area under curve*)

BML – bazālais metabolisma līmenis

CAZ – ogļhidrātu aktīvie enzīmi (no angļu val. – *carbohydrate active enzymes*)

CI – ticamības intervāls (no angļu val. – *confidence interval*)

clr – centrētā logaritmiskas attiecības transformācija (no angļu val. – *centered log ratio*)

de novo – bioloģisks process vai vienība, kas ir sākusies no jauna (no latīņu val.)

EFSA – Eiropas Pārtikas Drošības Aģentūra

FAO – Pārtikas un Lauksaimniecības Organizācija

GIFT – Globālais Individuālais Pārtikas Patēriņš (no angļu val. – *FAO/WHO Global Individual Food Consumption*)

HGT – horizontālā gēnu pārnese (no angļu val. – *horizontal gene transfer*)

IKD – ieteicamais kaloriju daudzums

in silico – pētījuma veikšana izmantojot datorsimulāciju vai datormodelēšanu

in vitro – pētījuma veikšana laboratorijas apstākļos testsistēmās, piemēram, šūnu vai audu kultūrās (no latīņu val.)

in vivo – pētījuma veikšana dzīvā organismā (no latīņu val.)

IQR – starpkvartiļu amplitūda (no angļu val. – *interquartile range*)

Jacc – Džakarda indekss

kcal – kilokalorijas

KZT – kuņģa-zarnu trakts

ķMI – ķermeņa masas indekss

LASSO – mazākā absolūtā sarukuma un atlasē operators (no angļu val. – *least absolute shrinkage and selection operator*)

LMP – Latvijas Mikrobioma Projekts

MAG – no metagenoma datiem asamblēts genoms (no angļu val. – *metagenome assembled genome*)

mclr – modificēta centrētā logaritmiskās attiecības transformācija (no angļu val. – *modified centered log ratio*)

PCA – galveno komponentu analīze

PCoA – galveno koordinātu analīze

PUL – polisaharīdu utilizācijas lokuss (no angļu val. – *polysaccharide utilization loci*)

rclr – koriģēta centrētā logaritmiskās attiecības transformācija (no angļu val. – *robust centered log ratio*)

SRS – mērogošana ar ranžēto apakšizlasi

TSE – *TreeSummarizedExperiment* objekts

UD – uztura dienasgrāmata

UHGG – Vienota Cilvēka Gastrointestinālā Genoma kolekcija (no angļu val. – *Unified Human Gastrointestinal Genome*)

WHO – Pasaules Veselības Organizācija

SATURA RĀDĪTĀJS

1.	LITERATŪRAS APSKATS	8
1.1.	Uzturs	8
1.2.	Mikrobioms	11
1.3.	Uzturs un zarnu mikrobioms	17
1.4.	Personalizēts uzturs	21
2.	METODES	25
2.1.	Pētījuma norise un dizains	25
2.2.	Ar uzturu saistīto datu apstrāde	26
2.3.	Metagenoma bibliotēku sagatavošana un sekvenčēšana	30
2.4.	Bioinformātiskā analīze	31
2.5.	Iegūto datu priekšapstrāde	32
2.6.	Indivīdu grupēšana balstoties uz uztura datiem.....	33
2.7.	Taksonomisko datu analīze.....	33
2.8.	Datu statistiskā analīze	34
3.	REZULTĀTI.....	36
3.1.	Ieteicamo produkta grupu porciju daudzuma validācija.....	36
3.2.	Dalībnieku grupēšana pēc uztura datiem un to raksturojums.....	36
3.3.	Mikrobiālo kopienu daudzveidības analīze	39
3.4.	Mikrobiālo kopienu atšķirības	41
3.5.	Diferenciālā tīklu analīze.....	43
3.6.	Indivīdu grupas paredzēšana balstoties uz bakteriālajiem centrmezgliem	45
4.	DISKUSIJA	47
4.1.	Motivācija.....	47
4.2.	Darba mērķi un uzdevumi	48
4.3.	Dizaina validācija praksē.....	51
4.4.	Izvēlēta dizaina trūkumi	55
4.5.	Turpmākas perspektīvas	55
5.	SECINĀJUMI	56
6.	IZMANTOTĀ LITERATŪRA.....	58

IEVADS

Cilvēka zarnu trakta mikrobioms ir mikroorganismu kopiena, kura organismā piedalās homeostāzes uzturēšanā. Zarnu mikrobioma struktūra un funkcijas ir cieši saistītas ar dažādiem faktoriem, un par vienu no būtiskākajiem tiek uzskatīti cilvēka uztura paradumi, bet to ietekme uz zarnu trakta mikrobiomu vēljoprojām nav pietiekami izpētīta.

Viens no iemesliem, kādēļ ir problemātiski vispārināt uztura paradumu ietekmi uz zarnu trakta mikrobiomu ir pašlaik uztura datu analīzes metodiskie trūkumi – redukcionistiskā pieeja fokusējas uz individuālām uztura komponentēm, zaudējot uztura paradumu komplicēto “kopējo ainu”, savukārt, holistiskā pieeja galvenokārt fokusējas uz kvalitatīviem, nevis kvantitatīviem rādītājiem, tādejādi ir grūti interpretējama un reproducējama. Cits būtisks iemesls – uztura saistība ar mikrobioma rādītājiem reti tiek apskatīta aktuālo uztura rekomendāciju kontekstā, tādejādi iegūtos rezultātus padarot grūti ieviešamus praksē.

Līdz ar to, maģistra darba mērķis bija, izmantojot mašīnmācīšanās algoritmu, iedalīt Latvijas Mikrobioma projekta (LMP) pētījuma dalībniekus divās grupās pēc to uztura paradumu atbilstības aktuālākajām uztura rekomendācijām, balstoties uz informāciju, kuru projekta dalībnieki sniedza uztura dienasgrāmatās. Sekundārais darba mērķis bija veikt dažādu mikrobioma rādītāju salīdzināšanu starp pētījuma grupām, kā arī noteikt mikrobiālos centrmezglus un tos mēģināt izmantot dalībnieku uztura paradumu paredzēšanai, pielietojot uzraudzītu mašīnmācīšanās algoritmu.

Mērķa sasniegšanai tika izvirzīti sekojoši darba uzdevumi:

1. Uztura dienasgrāmatas izstrādāšana, tajā iekļautās informācijas apstrāde un turpmāka interpretācija;
2. Uztura datubāzes izveidošana atbilstoši Globālā Individuālā Pārtikas Patēriņa (GIFT) metodoloģiskā dokumenta rekomendācijām;
3. Apkopot dažādu starptautisku institūciju izstrādātās uztura rekomendācijas un validēt tās uz iepriekš izveidotās uztura datubāzes;
4. Iedalīt pētījuma dalībniekus divās grupās balstoties uz to uztura paradumu atbilstību aktuālajām rekomendācijām;
5. Veikt mikrobioma raksturojošo parametru salīdzināšanu starp dalībnieku grupām, izmantojot divus dažādus biežāk izmantotos mikrobioma datu taksonomiskās klasifikācijas rīkus.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Uzturs

1.1.1. Uztura izmaiņas cilvēka evolūcijas gaitā

Uzturs ir plašs jēdziens, kas apzīmē “visus procesus, kuri dzīvo organismu apgādā ar molekulām, kuras nepieciešamas bioloģisko procesu nodrošināšanai”. Uzturvielas, uzņemtas kopā ar augu un dzīvnieku izcelsmes produktiem, spēlē galveno lomu indivīda metabolismā, kalpojot kā strukturālie, enerģētiskie un signālceļu substrāti. Evolūcijas gaitā cilvēku uztura paradumos ir notikušas ievērojamas izmaiņas, ko pārsvarā ir sekmējuši mainīgie vides apstākļi. Pleistocēna periodā, kurš sākās pirms 2.6 miljoniem gadu, cilvēku priekštečiem bija raksturīgs mednieku-vācēju dzīvesveids un izmantotā pārtika sastāvēja galvenokārt no augu izcelsmes produktiem (līdz ~80%), un atlikušo daļu veidoja savvaļas dzīvnieki un zivis, ik pa laikam piedzīvojot īslaicīgus bada periodus. Paleolīta periodā, kurš ir garākais cilvēka evolūcijas periods, izdzīvošana galvenokārt bija atkarīga no medniecības dēļ šim periodam raksturīgajām straujajām klimata izmaiņām. Kopš neolīta perioda, kas sākās aptuveni 8 000 gadus atpakaļ līdz ar ledus laikmeta beigām Eiropā, cilvēki sāka nodarboties ar lauksaimniecību un ievērojamu uztura sastāvdaļu sāka veidot graudaugi (Alt et al., 2022). Sasniegumi lauksaimniecības jomā un pārtikas tirdzniecības tīklu attīstība, kas notika post-industriālajā periodā, atrisināja potenciālo pārtikas trūkuma problēmu visā pasaulē, bet atnesa arī citas, ar industrializāciju saistītas problēmas (Kaczynski, 1995). Līdz ar pārtikas rūpniecības nozares ekonomisku attīstību, konkurence noveda pie ražošanas izdevumu samazināšanās un rezultātā arī pie pārtikas kvalitātes krituma (Pelto and Pelto, 1983).

Evolūcijas gaitā ar uzturu saistītās izmaiņas veicināja cilvēka anatomisku un fizioloģisku pielāgošanos jauniem pārtikas veidiem, piemēram, pieaugot ogļhidrātu daudzumam uzturā ir notikusi smadzeņu tilpuma palielināšanās (Hardy et al., 2015), savukārt palielinoties gaļas patēriņam ir notikušas izmaiņas zarnu garumā (Milton, 1999) un ir samazinājies košļāšanas aparāts (Zink and Lieberman, 2016). Tāpat, cilvēka organismā ir pakāpeniski notikušas dažādas bioķīmiskas adaptācijas kā atbildes reakcija uz uztura izmaiņām (Carrigan et al., 2015), kas mūsdienīgu cilvēkam ļauj organisma enerģētiskās vajadzības, parasti izteiktas kilokalorijās (kcal), nosegt pieturoties pie ļoti dažādām diētām, kurām organisms ne vienmēr ir pielāgots (Patikorn et al., 2023).

1.1.2. Uztura rekomendācijas

Neskatoties uz to, ka saistība starp uzturu un veselību, iespējams, bija zināma jau kopš Senās Grieķijas laikiem, spriežot pēc slavenā sengrieķu filozofa un ārsta Hipokrāta teiciena – “Tavs uzturs lai ir Tavas zāles, un Tavas zāles lai ir Tavs uzturs”, mūsdienās tiek novērota augsta

hronisko slimību prevalence, par kuru cēloni tiek uzskatīts mūsdienīgu dzīvesveids un jo īpaši neatbilstoši uztura paradumi (Branca et al., 2020).

Uztura paradumu izveidošanās sākas jau bērnības un pusaudžu periodā, tāpēc liela ietekme šajā procesā ir ģimenei un ar to saistītiem faktoriem (Ambrosini et al., 2009). Uztura paradumi attīstās līdz pieaugušam vecumam (Mahmood et al., 2021; Movassagh et al., 2017), kur tie parasti nostabilizējas dēļ dzīvesveida un indivīda nevelēšanās uzturā ieviest vai izmēģināt jaunus pārtikas produktus (Heiman and Greenway, 2016). Lai sekmētu izpratni par uztura nozīmi populācijā, 20. gadsimta beigās Pasaules Veselības Organizācija (WHO, no angļu val. – *World Health Organization*) un Pārtikas un Lauksaimniecības Organizācija (FAO, no angļu val. – *Food and Agriculture Organization*) savstarpēji vienojās par pirmo uztura vadlīniju izveidošanu, nosakot, ka “tām būtu jābūt pieejamām katrā pasaules valstī” (FAO/WHO, 1992). Pirmās uztura vadlīnijas Eiropas Savienībā 2008. gadā ieviesa Eiropas Pārtikas Drošības Aģentūra (EFSA, no angļu val. – *The European Food Safety Authority*) (Bechthold et al., 2018). Šī vadlīnija nosaka, ka ikdienā ieteicamo kaloriju daudzumu (IKD), kuru var aprēķināt izmantojot dažādas formulas (Harris and Benedict, 1919), tiek rekomendēts dalīt pamatuzturvielās, no kurām 45-60% ir jāuzņem ar ogļhidrātiem, 20-35% ar taukiem, savukārt ikdienā ieteicamā olbaltumvielu daudzuma aprēķināšanai tiek rekomendēts izmantot slāpekļa bilanci (EFSA, 2017a), kas ir aptuveni 1-1.6 g/kg olbaltumvielu ikdienā (Wu, 2016). Vispārīgi, rekomendētais ikdienas patēriņa šķiedrvielu daudzums ir 25 g (EFSA, 2017a), tomēr biežāk par pamatu tiek ņemtas rekomendācijas, kas pamatojoties uz indivīda vecumu un dzimumu, iesaka uzturā lietot līdz pat 38 g šķiedrvielu (Trumbo et al., 2002).

Aktuālās uztura rekomendācijas galvenokārt balstās uz uzņemtajiem pārtikas produktiem un to uzturvielu kompozīciju, bet mazāks akcents tiek likts uz šo uzturvielu gremošanu un uzsūkšanos. Neskatoties uz to, ka kuņģa-zarnu trakta (KZT) fizioloģija kopumā ir labi aprakstīta (Norton et al., 2014), ir atsevišķi faktori, kas var ietekmēt uzņemto uzturvielu biopieejamību, piemēram, polimēro uzturvielu strukturālās atšķirības starp dažādām (Grossmann and McClements, 2022) un pat tām pašām pārtikas produktu grupām (Lacroix et al., 2006), kā arī tādi faktori, kā termiskā pirmapstrāde un dažādu uzturvielu savstarpēja sinerģija, kas uzturvielu biopieejamību var ietekmēt gan pozitīvi (Zucker et al., 1985), gan negatīvi (Hanhineva et al., 2010), padarot gremošanu par vienu no vismazāk izprastajiem, ar uzturu saistītiem procesiem (Boland, 2016).

1.1.3. Uztura novērtēšanas metodes

Uztura novērtējums ir process, kura ietvaros tiek ievākta informācija par noteiktā laika posmā patērētiem pārtikas produktiem un dzērieniem, ar mērķi izvērtēt indivīda uztura

paradumus. Viena no uztura novērtēšanas metodēm ir pārtikas produktu patēriņa biežuma anketa, kura tiek izmantota, lai ar standartizētu anketu palīdzību retrospektīvi iegūtu informāciju par uzturā lietotiem produktiem noteiktā laika periodā. Savukārt, diennakts jeb 24-stundu anketa ir atvērta un strukturēta jautājumu sērija, kurus intervijas veidā apmācīts speciālists uzdod indivīdam par ēdieniem un dzērieniem, kuri ir patērēti pēdējās diennakts laikā. Tāpat tiek izmantota uztura dienasgrāmata (UD) – pārtikas uzskaites metode, kas paredz uzturā lietoto produktu reģistrēšanu UD produkta uzņemšanas brīdī – noteiktu laika periodu, parasti no trim līdz septiņām dienām. Apēstā daudzuma noteikšanai var tikt izmantoti galda svāri, kas tiek uzskatīti par zelta standartu, vai izmantojot “rokas” metodi, vadoties pēc tam paredzētiem fotoattēliem (Dao et al., 2019). Visām iepriekšminētajām metodēm tiek novērota tendence nepietiekami novērtēt uzņemto pārtikas daudzumu (Burrows et al., 2019), tomēr ar UD ievāktai informācijai kopumā ir vislielākā precizitāte, salīdzinot ar citām metodēm, un informācija, kura tiek ievākta trīs dienu garumā izmantojot UD, kopumā pietiekami labi atspoguļo indivīda uztura paradumus (Yang et al., 2010).

Kopumā UD tiek uzskatīta par visinformatīvāko metodi uztura novērtēšanai, tomēr tā ir laikietilpīga gan pašiem dalībniekiem (Yang et al., 2010), gan arī novērtētājiem, kā arī prasa papildus resursus, piemēram, aktuālās uztura sastāva datubāzes izmantošanu, kuras ne vienmēr ir pieejamas un parasti nav arī standartizētas. Šī problēma daļēji tika risināta ar EFSA izstrādāto pārtikas produktu klasifikāciju 19 produktu grupās, plašāk zināma kā FoodEx2 sistēma (EFSA, 2011a), kas vēlāk tika attīstīta kā metodoloģiskais dokuments GIFT (no angļu val. – *Global Individual Food Consumption*) (FAO/WHO, 2017). Tiek attīstītas arī citas pārtikas produktu klasifikācijas metodes, kuras balstās uz molekulāriem marķieriem (Galimberti et al., 2019).

1.1.4. Uztura analīzes metodoloģiskās pieejas

Mūsdienās uztura datu analīzē pielietotās metodes ir ļoti daudzveidīgas (Zhao et al., 2021), tomēr kopumā var izšķirt divas pieejas – redukcionistisko (*a posteriori*) un holistisko (*a priori*). Redukcionistiskā pieeja fokusējas uz atsevišķiem kvantitatīviem faktoriem – pārtikas produktiem vai to sastāvā esošām komponentēm, ar mērķi noteikt to saistību ar citu mainīgo, piemēram, veselības rādītājiem. Šī pieeja dominēja 20. gadsimta uzturzinātnes pētījumos un bija noderīga, piemēram, saistības noteikšanai starp vitamīnu un minerālvielu deficītu un dažādām bioķīmiskām reakcijām. Pēdējos gados populārāka ir kļuvusi holistiskā (*a priori*) pieeja, kura uztura paradumu novērtēšanai izmanto kvalitātes indeksus, tos salīdzinot ar aktuālām atziņām par uzturu (Burggraf et al., 2018). Uztura veselīguma indekss ir pētījumos visbiežāk izmantotais indekss, kurš kopējo uztura kvalitāti nosaka neatkarīgi no tā daudzuma

(Shams-White et al., 2023), kā arī ir vairāki citi indeksi, kuri norāda uz uztura paradumu līdzību vai atbilstību, piemēram, Vidusjūras vai Ziemeļvalstu uztura modeļiem (Mirmiran et al., 2023).

Abām pieejām ir savi trūkumi – redukcionistiskā pieeja tiek kritizēta par tās “linearitāti”, meklējot uzturā balstītas cēloņsakarības ar veselības rādītājiem, jo atsevišķas uztura komponentes neatspoguļo uztura “daudz-dimensionalitāti” (Fardet and Rock, 2022; Kwon, 2019). Papildus tam, *a posteriori* dizains nozīmē, ka pieeja netiek balstīta uz aktuālām zināšanām, un līdz ar to rezultāti parasti nav reproducējami (Burggraf et al., 2018). Holistiskai metodei, kura balstās uz uztura kvalitāti, arī ir savi trūkumi, pat neskatoties uz to, ka tā nesen tika izmantota, lai definētu “Uztura vadlīnijas Amerikāņiem” (Fardet and Rock, 2022; Kwon, 2019). Uztura kvalitātes indeksi, kuri tiek izmantoti katrā individuālā gadījumā ir subjektīvi (Burggraf et al., 2018), piemēram, pašlaik ir vienprātības trūkums par Vidusjūras diētas definīciju, jo atkarībā no kritērijiem, kuri tiek izmantoti to definēšanai, iegūtie dati rezultējas vairākos, savstarpēji atšķirīgos Vidusjūras diētas indeksos (Milà-Villarroya et al., 2011). Turklāt, fokusējoties tikai uz atsevišķiem kritērijiem, var tikt pazaudētas atsevišķas komponentes, kas pētījumos iegūtos rezultātus neļauj analizēt padziļināti (Moeller et al., 2007).

1.2. Mikrobioms

1.2.1. Mikrobioma vispārējs raksturojums

Jaunākie sasniegumi nākamās paaudzes sekvenčēšanas jomā, izmantojot metagenoma analīzes pieeju, ļauj pētīt mikroorganismu kopienas dažādās vidēs, ko vispārīgi dēvē par mikrobiomu. Pēdējā laikā īpaši populāri ir kļuvuši pētījumi par KZT mītošiem mikroorganismiem, kas ir veicinājis izpratni par to nozīmi cilvēka organisma fizioloģisko procesu uzturēšanā (Ley et al., 2008). Zarnu mikrobioms ir vispārāzīts par visblīvāko kopienu pasaulē, kuras iekšienē norisinās cieša fiziska un metaboliska mijiedarbība starp mikroorganismiem ģenētiski daudzveidīgā vidē (Tierney et al., 2019). Mikrobioma sastāvā esošie gēni pēc to nozīmes var tikt iedalīti divās daļās – pamatgēnos, kuri ir atrodami gandrīz visos konkrētās vides bakteriālajos genomos un tāpēc ir uzskatāmi par vitāli svarīgiem šūnas eksistencei; un papildgēnos, kuri sastopami tikai atsevišķās baktērijās vai baktēriju grupās, un nodrošina papildu funkcijas (Park et al., 2019). Horizontālā gēnu pārnese (HGT, no angļu val. – *horizontal gene transfer*) ir process, kuras ietvaros starp dažādu mikroorganismu genomiem tiek pārnesti papildgēni, visbiežāk mobilu ģenētisku elementu formā (Emamalipour et al., 2020), kā rezultātā saņēmējšūna iegūst jaunu īpašību, piemēram, rezistenci pret kādu no antibiotiku vielām. Procesa rezultātā vienas sugas pārstāvji pēc to veicamām funkcijām var stipri atšķirties (Anderson and Bisanz, 2023). HGT process parasti ir novērojams starp filoģenētiski cieši saistītām baktēriju sugām (Bolotin and Hershberg, 2017), it īpaši tām, kuras

ir sastopamas cilvēka organismā (Jeong et al., 2019; Smillie et al., 2011), tādēļ tiek uzskatīts, ka baktērijas izmanto gēnu pārnesi, lai adaptētos nestabilās vidēs (Groussin et al., 2021). HGT process biežāk tiek novērots starp sugām, kuras parasti kopā apdzīvo noteiktu vietni, kā arī relatīvi plaši izplatītām sugām (Dmitrijeva et al., 2024); tomēr mehānismi, kas ir saistīti ar HGT regulāciju, lielākoties nav pietiekami izprasti.

Mikrobiomā ietilpstošie mikroorganismi aktīvi mijiedarbojas, un šī mijiedarbība var būt pozitīva, negatīva vai asimetriska (Coyte and Rakoff-Nahoum, 2019). KZT mikrobioma ietvaros mijiedarbība galvenokārt ir negatīva – mikroorganismu starpā norisinās konkurence un eksploatācija cīnoties par barības vielām (Coyte and Rakoff-Nahoum, 2019). Pozitīvas mijiedarbības rezultātā abas sugas gūst savstarpēju labumu (+/+) un, lai gan tā ir atkarīga no vides apstākļiem, zarnu mikrobiomā tā nav bieži novērojama (Lindemann, 2020). Ilgāku laiku tika uzskatīts, ka pozitīva mijiedarbība starp dažādiem mikroorganismiem notiek tiem sadarbojoties (Simonet and McNally, 2021), tomēr nesen ierosinātajā Melnās Karalienes hipotēzē (BQH, no angļu val. – *Black Queen Hypothesis*) tiek izvirzīta ideja, ka krusteniskā barošana – process, kas bieži novērojams KZT mikrobiomā, kad atsevišķi mikrobioma pārstāvji pārproducē kādu substrātu, ko patērē citi mikroorganismi (Culp and Goodman, 2023); noved pie situācijas, kad dabiskās selekcijas procesā spēja ražot šo substrātu tiek zaudēta un tā rezultātā “patērētāji” paliek atkarīgi no “ražotājiem” (Morris et al., 2012) (Mas et al., 2016). Tomēr līdz šim eksperimentālie pētījumi par BQH dinamiku ir veikti vidēs, kurās barības vielu daudzums bija limitēts (Hesse, 2024).

1.2.2. Fizioloģiskie apstākļi kuņģa-zarnu traktā

Anatomiski KZT cilvēkiem ir iedalāms trīs segmentos – kuņģī, tievajās un resnajās zarnās, kur katrā no šiem reģioniem norisinās unikāli un dinamiski fizioloģiskie procesi, kas atspoguļojas arī mikrobioma sastāvā. Visā KZT garumā tiek uzturēta zema līdz pat bezskābekļa vide, daļēji pateicoties zarnu mikrobioma pārstāvjiem (Singhal and Shah, 2020), kas ir nepieciešams optimālai zarnu epitēlija šūnu funkcionēšanai, kā arī anaeroba vide papildus kalpo kā barjera pret aerobām patogēnām baktērijām (Rivera-Chávez et al., 2017). Visā KZT garumā ir novērojams mainīgs pH līmenis – kuņģī pH ir ļoti zems sālsskābes sekrēcijas dēļ (pH=1.5-2.0), kas kalpo kā antimikrobiālā barjera, tādējādi ievērojami samazinot to mikroorganismu daudzumu, kas ir spējīgi nonākt tievajās zarnās (Imhann et al., 2016). Potenciāli vienīgā baktērija, kura ir spējīga dzīvot šajā vidē ir *Helicobacter pylori* – Gram negatīva baktērija, ar kuru ir inficēta aptuveni puse no pasaules populācijas (Chen et al., 2024). Tievajās zarnās sārmainā aizkuņģa dziedzerā sula neitralizē skābo kuņģa sulu, kas ir nepieciešams gremošanas sistēmas enzīmu darbībai. Veseliem indivīdiem rezultējošais pH šajā reģionā ir robežās no vāji

skābam (Aburub et al., 2018) līdz vāji sārmainam (Wang et al., 2015), un tas nostabilizējas tuvu pie neitrāla resnajā zarnā (Wang et al., 2015). Gan tievo, gan resno zarnu epitēlija ārpusi sedz gļotādas slānis, kas sastāv no glikoproteīniem – tievajās zarnās viens šūnu slānis, kas nepārtraukti atjaunojas; savukārt resnajās zarnās – divu šūnu slānis, kur iekšējais slānis pie normāliem fizioloģiskiem apstākļiem mikroorganismiem nav sasniedzams, bet ārējo slāni kolonizē mikroorganismi un izmanto to kā substrātu (Luis and Hansson, 2023).

Visu zarnu traktu sedz gludā muskulatūra, kura tievajās zarnās veido divus slāņus un ir atbildīga par intensīvām un koordinētām kustībām – peristaltiku, kura sekmē uzņemtās pārtikas samaisīšanu ar gremošanas enzīmiem, tādējādi veicinot uzturvielu uzsūkšanos, kas rezultējas relatīvi ātrā tranzīta laikā – vidēji 4.5 stundās, turpretī, resnajā zarnā, kur gludā muskulatūra sastāv no viena šūnu slāņa, kontrakcijas nav tik intensīvas, un nesagremotās pārtikas tranzīts aizņem aptuveni vienu dienu (Wang et al., 2015), kas ļauj zarnu mikrobioma pārstāvjiem kolonizēt nesagremoto uzturu, un rezultātā zarnu trakta mikrobioms ir viena no visblīvākajām mikroorganismu kopienām (Tottey et al., 2017).

1.2.3. Zarnu mikrobioma sastāvs un tā funkcijas

No aptuveni 140 pašlaik aprakstītām zarnu mikrobioma sugām (Chaumeil et al., 2020), tās kompozīcijā dominē četras baktēriju dzimtas – *Bacteroidota* (jeb *Bacteroidetes*) un *Bacillota* (jeb *Firmicutes*), un mazākā apmērā *Proteobacteria* un *Actinobacteria* (Rinninella et al., 2019). Šī iemesla dēļ zarnu mikrobioms dzimtas līmenī netiek uzskatīts par daudzveidīgu, savukārt, sugu līmenī paveras cita aina – tā daudzveidība mēdz būt raksturīga indivīdam, tāpēc nereti tiek pielīdzināts pirksta nospiedumam (Chen et al., 2021). Laika gaitā zarnu trakta mikrobioma kompozīcija var mainīties, jo to sastāvā esošie mikroorganismi ir pakļauti dažādu faktoru ietekmei (Tap et al., 2023), tomēr “veselīgu” zarnu mikrobiomu raksturo tieši tā stabilitāte (Fassarella et al., 2021), kas daļēji var tikt nodrošināta pateicoties augstam HGT līmenim (Zhu et al., 2024). Neskatoties uz to, ka sugu līmenī indivīdu zarnu mikrobiomi ir ļoti daudzveidīgi, funkcionāli tie ir līdzīgi, pateicoties tam, ka filoģenētiski neradniecīgas sugas spēj veikt identiskas funkcijas, tādējādi vienai otru savstarpēji aizvietojo (Tian et al., 2020).

Vairumam proteīnu kodējošo gēnu, kuri atrodami zarnu mikrobiomā, to funkcijas nav zināmas (Heintz-Buschart and Wilmes, 2018), tomēr bioenerģētiskie metabolisma ceļi, kuri ir iesaistīti monosaharīdu un aminoskābju metabolismā, tiek uzskatīti par zarnu mikrobioma pamatfunkciju (Zou et al., 2019). Monosaharīdi tiek uzņemti vai nu brīvā veidā no vides, vai arī glikānu gremošanas rezultātā izmantojot ogļhidrātu aktīvos enzīmus (CAZ, no angļu val. - *carbohydrate active enzymes*) (Wardman et al., 2022). Iepriekš veiktos pētījumos tiek ziņots, ka zarnu mikrobiomā ir plaši izplatītas ļoti daudzveidīgas substrātu specifiskas CAZ-kodējošo

gēnu saimes, kuras tiek novērotas tieši dominējošo baktēriju dzimtu genomos (Onyango et al., 2021). *Bacteroidota* dzimtai šie gēni tiek organizēti unikālos klasteros, kurus dēvē par polisaharīdu utilizācijas lokusiem (PUL) (Grondin et al., 2017). Katrs PUL ir strukturēts tā, lai tas spētu efektīvi iesaistīties kāda konkrēta polisaharīda degradācijā (Lapébie et al., 2019). Uz šo brīdi, ar *in silico* rīkiem tiek prognozētas vairāk nekā 68 000 PUL strukturālās organizācijas (Terrapon et al., 2018), un šī daudzveidība saskan ar priekšstatu par polisaharīdu molekulārās struktūras sarežģītību un to daudzveidību (X. Yang et al., 2020). *Bacteroidota* dzimtas pārstāvjiem CAZ-kodējošie gēni tiek novēroti lielākā daudzumā, salīdzinot ar citu dzimtu pārstāvjiem, tomēr tiem trūkst gēnu, kuri ir atbildīgi par palīgfunkcijām, kuras norisinās tandēmā ar CAZ (Drula et al., 2022), bet palīgfunkciju gēni, savukārt, lielā daudzumā ir novērojami *Firmicutes* dzimtai (Onyango et al., 2021), norādot uz to, ka *Firmicutes* un *Bacteroidetes* pārstāvji sadarbojas, lai degradētu polisaharīdus.

Atbilstoši MEROPS datubāzē pieejamai informācijai, zarnu mikrobiomā ir identificēts plašs klāsts ar dažādiem nespecifiskiem proteolītisku enzīmu kodējošiem gēniem (Rawlings et al., 2016), norādot uz mikroorganismu augstu adaptētību dažādu olbaltumvielu šķelšanai, kas, iespējams, ir nepieciešams bakteriālās biomasas uzturēšanai (Reese et al., 2018), kur olbaltumvielas sastāda 50% - 83% no sausnes masas (Sillman et al., 2019). Tomēr zinātniskajā literatūrā šis process parasti tiek apskatīts kā pārmērīga proteolīze, kas ir viens no būtiskākajiem KZT slimību patogēnēzē iesaistītajiem faktoriem (Caminero et al., 2023).

1.2.4. Zarnu mikrobiomu ietekmējošie faktori

Zarnu mikrobioma struktūra laika gaitā var tikt ietekmēta dažādu faktoru iespaidā, kas ir iedalāmi iekšējos, jeb ar cilvēka organismu saistītos, un, ārējos, jeb ar vidi saistītos faktoros (Tap et al., 2023). Papildus jau iepriekš aprakstītajiem fizioloģiskajiem faktoriem, zarnu trakta mikroorganismu sastāvs ir atkarīgs no saimniekorganisma vecuma (Odamaki et al., 2016), ķermeņa masas indeksa (KMI) (Pinart et al., 2022), pārtikas tranzīta laika (Tottey et al., 2017), un ar to cieši saistīto fēču konsistenci (Vandeputte et al., 2016). Savukārt, saimniekorganisma potenciāla ģenētiskā ietekme uz zarnu mikrobioma struktūru ir apskatīta dvīņu pētījumos, secinot, ka kopumā tai ir neliela nozīme (Cahana and Iraqi, 2020). Tomēr vairākos pētījumos ir parādīta uzturvielu metabolismā iesaistītu atsevišķu gēnu variantu asociācija ar mikrobioma sastāvu, piemēram, ir identificēta saistība mikrobioma kompozīcijai ar siekalu amilāzes *AMY* gēnu kopiju skaitu (Poole et al., 2019), laktāzi kodējošā *LAC* gēna variantiem (Cahana and Iraqi, 2020), un N-acetilglikozamīna sintēzi kodējošiem *ABO* un *FUT2* gēnu variantiem (Zhernakova et al., 2024).

Zarnu mikrobiomu spēcīgi ietekmē vides faktori, no kuriem uzturs un medikamentu lietošana ir visnozīmīgākie no mainīgajiem faktoriem, kuri ietekmē zarnu mikrobioma sastāvu (Falony et al., 2016; Zhernakova et al., 2016), kas var notikt gan tiešā veidā, piemēram lietojot antibiotikas (Tap et al., 2023), gan netiešā, piemēram, lietojot protona sūkņu inhibitorus, tādējādi paaugstinot pH kuņģa vidē, un ļaujot lielākam ar pārtiku uzņemtam mikroorganismu skaitam nokļūt tālākos zarnu trakta nodalījumos (Imhann et al., 2016).

1.2.5. Mikrobioma raksturošanas metodes

Alfa, jeb parauga individuālo mikroorganismu daudzveidību raksturo ar šādiem galvenajiem parametriem – bagātību, jeb kopējo unikālo baktēriju skaitu dotajā taksonomiskajā līmenī, un vienmērīgumu, jeb mikroorganismu izplatības sadalījumu (Kers and Saccenti, 2022). Kā atsevišķi rādītāji tie parasti netiek ziņoti, bet tiek izmantoti alfa-daudzveidības indeksu aprēķināšanai, no kuriem visbiežāk izmantotais ir Šenona indekss, kurš atspoguļo parauga taksonomisko bagātību, un, Simpsona indekss, kurš norāda uz taksonu sadalījuma vienmērīgumu (Kers and Saccenti, 2022). Relatīvi augstāka alfa-daudzveidība bieži tiek ziņota pētījumu grupās ar relatīvi augstu šķiedrvielu patēriņu (Menni et al., 2017) kā arī pie normāla svara, salīdzinot ar indivīdiem, kuriem tiek novērota aptaukošanās (Pinart et al., 2022). Papildus tam, daudzveidīgākas mikroorganismu kopienas ir arī stabilākas (Chen et al., 2021). Alfa-daudzveidība kā mikrobioma radītājs ir ļoti mainīgs un tiešā mērā atkarīgs no tādiem faktoriem kā sekvencēšanas dziļuma (Zaheer et al., 2018) vai nolasiņumu klasifikācijai izmantotā rīka kopā ar references datubāzēm (Ye et al., 2019).

Gamma daudzveidība ir parametrs, kas norāda uz mikroorganismu bagātību, kura ir novērojama visos paraugos specifiskā vidē. Iepriekš tika ziņots par 3 594 no metagenoma datiem asamblētu genomu (MAG, no angļu val. – *metagenome assembled genome*) rekonstrukciju, izmantojot zarnu trakta mikrobioma paraugus Izraēlas kohortā (Leviatan et al., 2022). Savukārt, 4 644 MAG, kuri identificēti zarnu mikrobiomā ir iekļauti “*Unified Human Gastrointestinal Genome*” (UHGG) datu kopā (Almeida et al., 2020), bet 4 930 MAG, kuri identificēti dažādu ķermeņa daļu mikrobiomos ir iekļauti Trento Universitātes datu kopā (Pasolli et al., 2019). Augstais genomu īpatsvars mikrobiomu paraugos norāda uz vairāk nekā 3 000 sugām, kuras ir atrodamas cilvēku zarnu traktā, no kurām bakteriālā kopa ir pārstāvēta ar 150-200 sugām (J. Yang et al., 2020)

Beta-daudzveidības analīze var tikt izmantota lai konstatētu līdzības starp paraugiem balstoties uz mikroorganismu sastāvu izmantojot dažādas ordinācijas analīzes, piemēram, galveno komponentu analīzi (PCA, no angļu val. – *Principal Component Analysis*) vai galveno koordinātu analīzi (PCoA, no angļu val. – *Principal Coordinate Analysis*). PCA izmantošanai

ir dažas priekšrocības salīdzinot ar PCoA, tāpēc tā tiek uzskatīta par reproducējamāku (Gloor et al., 2017). PCoA parasti tiek izmantota starp-paraugu Breja-Kērtisa nevienlīdzības distanču vizualizācijai, kas balstās uz atšķirībām biežāk sastopamo baktēriju sastāvā, savukārt PCA tiek ekskluzīvi izmantota starp-paraugu Eiklīda distanču vizualizācijai (Gloor et al., 2017). Eiklīda distances var tikt transformētas – visbiežāk tiek pielietota centrētā logaritmiskās attiecības (clr) transformācija (Aitchison, 1982), kur “problemātiskās” nulles tiek aizvietotas ar pseidoskaitļiem (Quinn et al., 2019), tomēr šī metode var radīt kļūdainus rezultātus (Costea et al., 2014). Nesen piedāvātā Eiklīda distanču koriģētā clr (rclr) transformācija (Martino et al., 2019), kā arī modificētā clr (mclr) transformācija (Yoon et al., 2019) tika demonstrētas kā reproducējamākas alternatīvas (Ullmann et al., 2023). Atšķirību noteikšanai mikrobioma sastāvā starp grupām var tikt izmantotas vairākas uz līdzībām balstītas permutācijas analīzes, no kurām PERMANOVA ir visjaudīgākā (Anderson and Walsh, 2013). Šī analīze balstās uz pieņēmumu, ka izkliedes atšķirības starp grupām ir homogēnas, tāpēc šīs analīzes statistikas rezultātus ir rekomendējams papildināt ar PERMDISP testa rezultātiem (Anderson et al., 2006).

Diferenciālās izplatības analīze tiek izmantota, lai noteiktu atsevišķu baktēriju relatīvā sastopamības biežuma atšķirības starp paraugiem. Uz šo brīdi ir pieejami vairāki rīki, kuri savstarpēji atšķiras ar analīzes pamatā izmantotajiem algoritmiem, *p*-vērtību korekcijai izmantotajām metodēm, un iespējām pielāgot modeļa hiper-parametrus pēc to spējas iegūtos rezultātus koriģēt izmantojot fiksētus un nejaušus efektus. Tas bieži vien noved pie atšķirīgiem rezultātiem starp dažādiem rīkiem (Nearing et al., 2022). Papildus tam, diferenciālās izplatības analīze bieži tiek uzskatīta par pārāk konservatīvu pieeju, jo neievēro mikrobioma komplekso struktūru, kurā baktērijas savstarpēji mijiedarbojas (Quinn et al., 2021). Iepriekš minētā problēma tiek risināta analīzē izmantojot diferenciālo tīklu analīzi, kas ļauj pētīt mikrobiomu kā veselu kopieni (Matchado et al., 2021) izmantojot metodes no grafu teorijas (Koutrouli et al., 2020), kur par grafa virsotnēm kalpo baktērijas, bet par šķautnēm – divu baktēriju līdzās pastāvēšana paraugos, kuru var noteikt izmantojot, piemēram, Pīrsona vai Spīrmena korelācijas koeficientus (Yoon et al., 2019). Atsevišķu baktēriju nozīmi tīklojumā var noteikt ar tīklu centralitātes rādītājiem, kas var tikt izmantoti lai noteiktu t.s. centrmezglus, kuriem tīklojumā var būt kāda īpaša loma, tomēr katrā konkrētā gadījumā tas ir atkarīgs no pētījuma konteksta (Newman, 2018; Peschel et al., 2021).

1.2.6. Mikrobioma pētniecības izaicinājumi

Kā jau jauna nozare, mikrobioma pētniecība saskaras ar dažādām problēmām, galvenokārt tādēļ, ka metodes, kuras tiek izmantotas visos metagenomikas posmos – sākot no paraugu ievākšanas (Mehta et al., 2018) un bibliotēkas gatavošanas (Bowers et al., 2015), līdz

sekvencēšanai (Clooney et al., 2016) un iegūto datu tālākai analīzei, nepārtraukti atrodas attīstības stadijā un pārsvarā paliek nestandartizētas, tādejādi būtiski ietekmējot iegūtos rezultātus (Szóstak et al., 2022). Papildus tam, KZT kontekstā analizējamie paraugi bieži tiek pasniegti kā “zarnu trakta” paraugi, tomēr praksē, ar retiem izņēmumiem, metagenoma sekvencēšanas analīzē tiek izmantoti fēču paraugi. Tas ir praktiski un neinvazīvi iegūstams paraugs, kas ļauj relatīvi viegli pētīt ar zarnu traktu saistīto mikrobiomu, tomēr fēču mikrobioma sastāvs ir ievērojami atšķirīgs no tievās zarnas mikrobioma sastāva (Ahn et al., 2023), kurā arī norit svarīgākie fizioloģiskie procesi. Citas problēmas, kuras ir raksturīgas visiem nākamās-paaudzes sekvencēšanas datiem ir to kompozicionalitāte jeb relatīvā struktūra, kas padara daudzas no pašlaik izmantotajām metodēm nederīgas (Gloor et al., 2017), savukārt pie problēmām, kuras ir raksturīgas tieši mikrobioma datiem, ir to relatīvi augstā variabilitāte, kas bieži neļauj izšķirt īstas izmaiņas no kļūdām, kuras rodas jebkurā no datu sagatavošanas posmiem (Gorzalak et al., 2015).

Mūsdienās mikrobioma sastāva noteikšanai paraugā pārsvarā tiek izmantotas uz referenci balstītas metodes, kuras metagenoma nolasījumu klasifikācijai izmanto datubāzes ar mikrobiāliem marķierģēniem vai pilnajiem genomiem. Tomēr, klasifikācijas procesa rezultātā liela proporcija no metagenoma nolasījumiem paliek neraksturota (Cena et al., 2021) dažādu iemeslu dēļ, kā piemēram, sarežģītas mikrobiālās kopienas dēļ (Gardiner et al., 2021), klasifikācijā pielietotās references datubāzes dēļ, kura var nebūt atbilstoša parauga izcelsmei (Smith et al., 2022), kā arī izmantotā rīka precizitātes dēļ (Ye et al., 2019). Neklasificētie nolasījumi parasti tiek izslēgti no turpmākas analīzes (Lu et al., 2017), tādejādi ietekmējot kopējos rezultātus. Papildus tam, klasifikācijas procesā tiek novērotas kļūdaini klasificētas baktēriju sugas (Ye et al., 2019), tomēr šī problēma var tikt relatīvi viegli atrisināta pielietojot reto sugu filtrēšanu (Cao et al., 2021).

Salīdzinoši nesen ir sākusies aktīva no references neatkarīgu klasifikācijas rīku izstrāde, lai risinātu iepriekšminētās problēmas. Šie rīki balstās uz MAG jeb *de novo* rekonstruētiem bakteriālajiem genomiem no metagenoma nolasījumiem (Yue et al., 2020). Neskatoties uz to, ka metodei ir savi trūkumi (Nelson et al., 2020), tā kopumā var tikt uzskatīta par atbilstošāku metodi metagenoma datu analīzei (Ye et al., 2019), kā arī tā tiek izmantota, lai uzlabotu references datubāzes (Blanco-Míguez et al., 2023).

1.3. Uzturs un zarnu mikrobioms

1.3.1. Uzturs kā mikrobioma struktūru ietekmējošs faktors

Ilgtermiņa uztura paradumi, kas nosaka uzņemto uzturvielu sastāvu un daudzumu, rezultātā ietekmējot arī uzturvielu daudzumu, kas sasniedz resno zarnu (Rose et al., 2015), tiek

uzskatīti par galveno faktoru, kas cilvēka organismā nosaka arī zarnu mikrobioma sastāvu (Kovatcheva-Datchary et al., 2015) un funkcijas (Mitchell et al., 2019). Nodaļā 1.2.3. tika aprakstīts, ka zarnu mikrobioma pārstāvji ir ģenētiski labi adaptēti polisaharīdu (Wardman et al., 2022) un olbaltumvielu utilizācijai (Rawlings et al., 2016), bet papildus šīm vielām, tie aktīvi iesaistās arī citu uzturvielu – lipīdu (Hitch et al., 2020), etanola (Martino et al., 2022) un polifenolu (McGivern et al., 2023) metabolismā. Līdz šim daudz resursu veltīts, lai noteiktu saistību starp zarnu mikrobioma struktūru un cilvēka uztura paradumiem – atbilstoši zinātniskās literatūras meklēšanas rīkam *Semantic Scholar* (Fricke, 2018), katru gadu publicēto zinātnisko rakstu skaits pēc atslēgvārdiem “*gut microbiome*” un “*nutrition*”, kas mūsdienās ir apvienoti atsevišķā “nutri-metagenomikas” pētījuma nozarē, joprojām turpina augt, kur eksperimenti veikti izmantojot ne tikai *in vivo* un *in vitro*, bet arī *in silico* modeļus. Tomēr mehānismi, kas nosaka uztura ietekmi uz zarnu trakta mikrobiomu joprojām ir neskaidri (Johnson et al., 2020).

1.3.2. Nutri-metagenomikas pētījumi *in vivo*

Līdzīgi kā uzturzinātnes jomā, sākotnējos nutri-metagenomikas pētījumos uztura datu analīzei pārsvarā tika pielietota redukcionistiskā pieeja. Nozares attīstības sākumā īpaši populāri bija kontrolētie pētījumi par uzņemtā šķiedrvielu daudzuma ietekmi uz zarnu mikrobiomu, kuru rezultāti nesen apkopoti divos apskata rakstos (Cronin et al., 2021; Fu et al., 2022). Tajos tika secināts, ka novērotie efekti bija atšķirīgi atkarībā no eksperimentos izmantotā polisaharīda veida un tā daudzuma, kā arī intervences ilguma. Attīstoties izpratnei par polisaharīdu utilizācijas mehānismiem (Wardman et al., 2022), turpmākajos pētījumos šķiedrvielu efekts pamatā tika apskatīts fokusējoties jau uz atsevišķām baktēriju sugām un tajās esošo *CAZ* gēnu sastāvu (Gálvez et al., 2020), vai ņemot vērā dažādu sugu savstarpējo konkurenci par konkrētu substrātu (Patnode et al., 2019). Nesen tika arī secināts, ka šādu pētījumu rezultātus var ievērojami ietekmēt arī tādi faktori kā sākotnējā konkurējošo baktēriju proporcija (Cantu-Jungles and Hamaker, 2023) un KZT esošo fizioloģisko procesu spiediens (Li et al., 2021). Pateicoties līdz šim uzkrātam zināšanu līmenim, tiek īstenoti pirmie mēģinājumi izmantot polisaharīdus klīniskajā praksē, piemēram, malnutrīcijas novēršanai bērnu vidū, polisaharīdu saturošu uzturu personalizēti pielāgojot zarnu mikrobiomā sastopamajiem *CAZ* gēniem (Hibberd et al., 2023).

Pētījumu sērijā, kur pielietojot līdzīgu dizainu tika noteikta savstarpējā saistība starp paaugstinātu olbaltumvielu uzņemšanu un zarnu mikrobiomu, kas ir divi būtiskākie kolorektālā vēža attīstībā iesaistītie faktori (Mitchell et al., 2019), iegūtie rezultāti nebija viennozīmīgi. Dzīvnieku modelī, ieviešot diētu ar olbaltumvielu saturu, kas sastāda gandrīz pusi no uzņemtā kkal daudzuma, šāda diēta sekmēja izmaiņas atsevišķu baktēriju ģinšu relatīvajā sastopamībā,

salīdzinot ar diētu, kur olbaltumvielas sastādīja tikai piektdaļu no uzņemtā kkal daudzuma (Mu et al., 2016). Kontrolētajos pētījumos, kas tika veikti iesaistot cilvēkus, uzņemto olbaltumvielu daudzuma pieaugums līdz 150 g/dienā trīs nedēļu garumā būtiski neietekmēja baktēriju sastāvu, bet gan izraisīja izmaiņas producēto metabolītu profilā, salīdzinot ar divreiz zemāku olbaltumvielu patēriņu kontroles grupā (Beaumont et al., 2017). Citos pētījumos diēta ar samazinātu kaloriju daudzumu, kur trešdaļa no kkal tika uzņemta ar olbaltumvielām, pozitīvi tika saistīta ar mikrobioma daudzveidību (Dong et al., 2020), savukārt, pie diētas ar 1.6 gramiem olbaltumvielu uz ķermeņa svaru kilogramos tika novērots paaugstināts aminoskābju metabolisma starpproduktu īpatsvars (Mitchell et al., 2019). Citā, vēl nepublicētā pētījumā tiek ziņots arī par atšķirīgu ietekmi uz zarnu mikrobiomu atkarībā no olbaltumvielu avota (Blakeley-Ruiz et al., 2024). Tauku ietekme uz zarnu mikrobiomu kopš viena no pirmajiem rakstiem par šo tēmu (Hildebrandt et al., 2009) līdz šim brīdim pārsvarā tiek apskatīta tikai dzīvnieku modeļos. Piemēram, meta-analīzē kurā tika iekļauti 25 pētījumu rezultāti tika secināts, ka vienīgais reproducējamais rādītājs bija paaugstināta *Firmicutes/Bacteroidetes* dzimtu attiecība (Bisanz et al., 2019) – zarnu mikrobioma marķieris, kurš atsevišķos pētījumos tiek asociēts ar aptaukošanos (Stojanov et al., 2020). Atšķirīgi bija arī novērotie efekti intervencēs ar augsta satura polifenolu produktiem (Alves-Santos et al., 2020). Neskatoties uz to, ka vienas intervences ietvaros, kur būtiski tika izmainīts uzņemto uzturvielu sastāvs un to daudzums, relatīvi īsā laika periodā varēja novērot arī būtiskas izmaiņas zarnu mikrobioma radītājos (David et al., 2014), līdz ar to tiek uzskatīts, ka dominējošā loma tomēr ir ilgtermiņa uztura paradumiem (Bolte et al., 2021).

Pētījumos, kur uztura datu analīzei tiek pielietota holistiskā pieeja, mūsdienās Rietumnieciskam dzīvesveidam raksturīgā diēta ar augstu tauku, sāls un cukura daudzumu bieži tiek kritizēta. Par iemeslu tam ir šādu uztura paradumu asociācija ar dažādu hronisko slimību paaugstinātu attīstības risku un arī ar zemu mikrobioma daudzveidību (Vangay et al., 2018). Pretstatā Rietumu diētai bieži tiek aplūkotas lauku apvidu diētas, piemēram, Tanzānijas mednieku-vācēju uztura paradumi, kuru uzturam ir raksturīgs ļoti augsts šķiedrvielu patēriņš, kas rezultējas ar īpaši daudzveidīgu mikrobiomu (Schnorr et al., 2014), kuru sastāda unikālas baktērijas (Carter et al., 2023). Savukārt urbanizācija, kas arvien biežāk skar arī mazattīstītas valstis, nesen tika saistīta ar pieaugošu kolorektālā vēža incidenci Dienvidāfrikas reģionā, kurā iepriekš dominēja lauku apvidus diēta. Kā viens no iemesliem pieaugošai vēža incidencei tiek minēts uztura paradumu ietekmē notiekošās zarnu mikrobioma izmaiņas (Ramaboli et al., 2024). Veselīgs uzturs, kas tiek raksturots kā daudzveidīgs, ar pilngraudu produktiem bagāts uzturs, kur pusi veido dārzeņi un tiek ierobežots gaļas patēriņš, tiek pozitīvi saistīts ar dažādiem mikrobioma marķieriem (Armet et al., 2022). Savukārt, rezultāti no 15 uztura intervences

pētījumiem, kas tika apkopoti vienotā pētījumā lika secināt, ka īslaicīga pieturēšanās pie apdomīga uztura paradumiem nesekmēja atšķirības mikrobioma alfa daudzveidībā (Willis and Slavin, 2020), un uztura kvalitātei pozitīva ietekme uz zarnu mikrobioma rādītājiem ir tikai ilgtermiņā (Yu et al., 2021). Šāds secinājums izriet arī citā pētījumā, kur uztura kvalitātes izmaiņas tika novērotas vairāku dekāžu garumā (Ma et al., 2022).

Nutri-metagenomikas pētījumi *in vitro* un *in silico*

Neskatoties uz ievērojamiem sasniegumiem kulturomikas jomā (Lagier et al., 2018; Zou et al., 2019), zarnu mikrobioma pārstāvji pārsvarā ir obligāti anaerobi, kas apgrūtina to pētīšanu *in vitro* apstākļos, līdz ar to, ievērojama daļa no tiem, visticamāk, arī paliks nekultivēti (Bellali et al., 2021). Netieši par zarnu mikrobioma pārstāvjiem var spriest balstoties uz rezultātiem, kuri iegūti pētījumos par barotnēs kultivēto mikroorganismu mijiedarbību atkarībā no šķiedrvielu struktūras sarežģītības (Deng and Wang, 2016), tomēr visbiežāk mūsdienās šim mērķim tiek izmantotas mākslīgās zarnas (Pérez-Burillo et al., 2021), parasti lai pētītu atsevišķu pārtikas produktu vai uzturvielu saistību ar zarnu mikrobioma pārstāvjiem (Calatayud et al., 2021). Pēdējā laikā aktīvi tiek attīstīta arī “orgāns-uz-čipa” metode, kura mikrofluīdikas vidē imitē procesus, kuri ir novērojami cilvēku KZT, tādējādi ļaujot padziļināti pētīt arī uztura saistību ar zarnu mikrobiomu (Garcia-Gutierrez and Cotter, 2022).

Mikroorganismu mijiedarbība mūsdienās arvien biežāk tiek pētīta izmantojot matemātisko modelēšanu (Saa et al., 2022). No tiem *Lotka-Volterra* plēsoņas-upura modelis var tikt izmantots, lai pētītu mikroorganismu konkurenci par substrātiem, izmantojot longitudinālus novērojumus taksonomiskā sastāva izmaiņās (Guittar et al., 2021), savukārt genoma mēroga vielmaiņas modeļi reprezentē mikroorganismu funkcionālo kapacitāti, un nesen tika demonstrēta kā metode, kas var tikt izmantota, lai paredzētu krustenisko barošanos starp zarnu mikrobioma pārstāvjiem (Goyal et al., 2021).

1.3.3. Nutri-metagenomikas nozares izaicinājumi

Izaicinājumus nutri-metagenomikas nozarē veido kombinācija no aktuālām problēmām (a) uzturzinātnes nozarē – vienprātības trūkums par uztura datu ievākšanu un to turpmāko analīzi (Johnson et al., 2020); un (b) nestandartizētām metodēm metagenomikā (Costea et al., 2017), kas rezultējas daudzveidīgu dizaina pētījumos un nereti noved pie nereproducējamiem vai pat konfliktējošiem rezultātiem (Baker and Penny, 2016). Uztura ietekme uz zarnu mikrobiomu bieži tiek apskatīta grauzēju modeļos, kuriem mikrobioms ievērojami atšķiras no cilvēka mikrobioma, tāpēc pastāv jautājums par iegūto rezultātu pielietojamību praksē (Hugenholtz and de Vos, 2018; Nguyen et al., 2015; Silley, 2009). Aktuāla paliek arī problēma

ar kontrolētajos pētījumos atšķirīgi definētām izmantotajām kontroles diētām, kuras var ievērojami atšķirties, potenciāli ietekmējot iegūtos rezultātus un padarot tos grūti salīdzināmus (Bisanz et al., 2019), kā arī diētas, kuras šāda tipa pētījumos tiek izmantotas kā kontroles, var kalpot kā jaucējfaktors (Pellizzon and Ricci, 2018). Ņemot vērā, ka zarnu mikrobioma struktūru var ietekmēt praktiski neierobežots skaits dažādu faktoru, tad, lai noteiktu individuālas izmaiņas, nutri-metagenomikas pētījumos tiek rekomendēts veikt ilgtermiņa mikrobioma novērošanu, vai arī, ir jāiekļauj pietiekami liels dalībnieku skaits, lai novērotu globālus efektus (Johnson et al., 2020).

1.4. Personalizēts uzturs

1.4.1. Personalizēta uztura koncepts

Uztura vadlīnijas sākotnēji tika izveidotas jau 20. gadsimta beigās (FAO/WHO, 1992) ar mērķi uzlabot uztura paradumus sabiedrībā un cīnītos ar jau tajā brīdī augsto hronisko slimību prevalenci (Parikh et al., 2007). Tomēr mūsdienās pieaugušo aptaukošanās gadījumu skaits turpina pieaugt (WHO, 2022), kas tiek saistīts ar to, ka vispārējās uztura rekomendācijas ir salīdzinoši neefektīvas (Jinnette et al., 2021), un tām jābūt personalizētām, jeb jābalstās uz individuāliem rādītājiem, kas, salīdzinot ar vispārējām uztura rekomendācijām, ļautu sniegt atbilstošākas rekomendācijas, tādējādi sasniedzot labāku rezultātu. Uz šādas prakses ieviešanu mūsdienās jau tiek likts akcents, piemēram, iekļaujot šādas individualizētas uztura shēmas izstrādī Amerikas Nacionālā Veselības Institūta stratēģiskajos plānos (Nicastro et al., 2023).

Tehnoloģiskie sasniegumi sekvecēšanas jomā šī gadsimta sākumā ļāva izveidot cilvēka genoma referenci, kas šodien personalizētas medicīnas koncepta ietvaros plaši tiek izmantota, lai meklētu saistību starp dažādiem veselības aspektiem un individuālām ģenētiskām pazīmēm. Arvien biežāk kļūst skaidrs, ka ģenētika ir būtisks faktors, kas nosaka arī individualizētā uztura ietekmi uz organismu (Donohoe and Bultman, 2012; Haro et al., 2019), kas mūsdienās tiek pētīts nutri-genomikas nozares ietvaros, kur par galveno mērķi izvirza saistību meklēšanu starp uzņemtām uzturvielām un individuāliem genotipiem, lai būtu iespējams sniegt efektīvas personalizētas uztura rekomendācijas (Kwon, 2019). Uz doto brīdi, metabolisma atšķirības starp indivīdiem jau tika demonstrētas tādām uzturvielām kā, piemēram, kofeīns (Palatini et al., 2009) un etanols (Li et al., 2016), jo procesā ir iesaistīts neliels gēnu skaits un līdz ar to šāda sakarība ir relatīvi viegli pētāma. Savukārt, daudz grūtāk ir pētīt vitāli svarīgās uzturvielas, piemēram, ogļhidrātus, kuru metabolismā ir iesaistīti simtiem dažādu gēnu (Zhang et al., 2018).

1.4.2. Personalizēto rekomendāciju pamatprincipi

Mūsdienās personalizēto rekomendāciju nozare balstās uz mašīnmācīšanās, jeb matemātisko modeļu algoritmiem, kuri tiek pielietoti ar mērķi lielajos datu masīvos identificēt

kādus būtiskus faktoros, kas kopistiski ļautu spriest par konkrētā indivīda piederību kādai grupai. Šāda pieeja arvien biežāk tiek pielietota arī klīniskajā praksē, kur informāciju par pacienta biomarkšiem jau tiek izmantota lai sniegtu, piemēram, individuālas uztura rekomendācijas, balstoties uz genotipēšanas (Gardner et al., 2018) vai nepārtrauktās glikozes monitorēšanas datiem (Hall et al., 2018). Mašīnmācīšanās algoritmi pēc savas būtības ir iedalāmi divās kategorijās – uzraudzītajos un neuzraudzītajos. Uzraudzītie algoritmi balstās uz datu iedalījumu treniņa un testa kopās, kur sākotnēji kopīgo iezīmju meklēšana tiek veikta katrā no marķētām jeb definētām treniņa kopas grupām, kam tālāk seko validācija, lai noteiktu šo iezīmju spēju paredzēt konkrētu grupu, izmantojot testa kopu. Kā piemērs uzraudzītajam mašīnmācīšanās algoritmam ir LASSO algoritms, kurš var tikt izmantots, lai analizētu datu kopas ar lielu nulļu skaitu, kas ir īpaši raksturīgi mikrobioma datiem, un pielietojot regularizācijas parametru λ , veikt mazsvarīgu faktoru izslēgšanu (Tibshirani, 1996). Savukārt, neuzraudzītie mašīnmācīšanās algoritmi tiek izmantoti, lai veiktu nemarķēto, jeb savstarpēji nesaistīto novērojumu iedalījumu grupās jeb klasteros pēc to raksturojošiem rādītājiem. Viens no populārākajiem neuzraudzītas mašīnmācīšanās algoritmiem ir k -vidējo klasterizācija, un to izmantojot, novērojumus var iedalīt konkrētā, iepriekš definētā grupu skaitā (Hartigan and Wong, 1979).

Lai novērtētu mašīnmācīšanās modeļu precizitāti var tikt izmantoti vairāki rādītāji, no tiem visintuitīvākais ir akurātums, kurš tiek aprēķināts kā patiesi pozitīvo un patiesi negatīvo rezultātu attiecība, kura tiek dalīta ar kopējo paraugu skaitu. Kā alternatīva parasti tiek izmantots laukums zem līknes (AUC, no angļu val. – *area under curve*) rādītājs, kas sniedz plašāku priekšstatu par modeļa veikspēju, kas īpaši plaši tiek lietots nesabalansētās datu kopās. AUC vērtība vienāda vai mazāka par 0.5 norāda uz sliktu precizitāti jeb grupas nejaušu minēšanu (Kirk et al., 2022).

Kā jebkura statistikas metode, arī mašīnmācīšanās modeļi ir jutīgi pret izmantotajām mērvienībām, tāpēc, lai iegūtie rezultāti būtu reproducējami, vispārēji tiek rekomendēts veikt izmantoto datu mērogošanu, tādējādi nodrošinot to, ka katra iekļautā faktora ieguldījums ir vienlīdz nozīmīgs, tajā pašā laikā atvieglot arī mašīnmācīšanās algoritma trenēšanas procesu. Divas populārākās metodes ir *min-max* normalizācija, kad vērtības tiek mērogotas, un, saglabājot datu struktūru, sadalītas robežās starp nulli un viens; savukārt, z -novērtējuma normalizācija jeb standartizācija parasti tiek pielietota, lai kvantitatīva faktora vidējo vērtību pārvērstu par nulli, un pārējās vērtības strukturētu tā, lai analizējamie dati atbilstu normālā sadalījuma izkļedei. Tomēr lēmumu par konkrētās normalizācijas metodes piemērošanu ir jāpieņem individuāli, balstoties uz datu struktūru (Singh and Singh, 2020).

1.4.3. Zarnu mikrobioms personalizētajā uzturā

Sākotnēji individuālas uzturvielu metabolisma īpatnības tika apskatītas ekskluzīvi cilvēka ģenētiskās variācijas kontekstā, tomēr attīstoties metagenomikas jomai, arvien biežāk kā būtisks faktors tiek pieminēts arī zarnu mikrobioms. Dēļ tā, ka to pārstāvošo baktēriju sastāvs laika gaitā var piedzīvot kompozicionālas izmaiņas, kas rezultātā var ietekmēt ar gremošanu saistītus procesus, to sāka apsvērt kā faktoru, uz kuru var fokusēties runājot par uztura rekomendāciju personalizāciju (Nogal et al., 2021). Līdz šim brīdim vienā no veiksmīgākajiem pētījumiem, kurā, balstoties uz informāciju par analizē iesaistīto dalībnieku fēču mikrobioma sastāvu un šo dalībnieku post-prandiālo glikēmijas līmeni, ar augstu precizitāti bija iespējams paredzēt pēcmaltītes cukura līmeni kā atbildes reakciju uz citiem pārtikas produktiem, secinot, ka mikrobioma dati var tikt izmantoti, lai veiksmīgāk kontrolētu glikozes līmeni asinīs (Zeevi et al., 2015). Nākamajā pētījumā tika secināts, ka pielietojot šo modeli praksē, glikēmijas rādītājus 2. tipa cukura diabēta pacientiem bija iespējams kontrolēt daudz labāk nekā pieturoties pie Vidusjūras diētas paradumiem (Rein et al., 2022). Bet jau citos pētījumos fēču mikrobioma kompozīcija ģints līmenī tika demonstrēta ka vājš indikators, mēģinot to izmantot, lai paredzētu kādu no četriem dažādiem ēšanas paradumiem, tomēr to apvienojot ar citiem dzīvesveida rādītājiem, to pašu grupu paredzēšanas precizitāte sasniedza 91% (Šik Novak et al., 2023). Šī pētījuma rezultāti sasaucas ar citu pētījumu, kurā paredzot atsevišķu pārtikas produktu uzņemšanu tika sasniegta pat 70–85% AUC, kā faktoru izmantojot informāciju par 20 visizplatītāko baktēriju ģinšu relatīvo sastopamību (Shinn et al., 2021). Visbeidzot, citā pētījumā, kurā tika ievākti ilgtermiņa uztura paradumi izmantojot pārtikas biežuma aptaujas, kopā ar citiem dzīvesveida rādītājiem, izveidotais modelis bija spējīgs paredzēt dalībnieka iedalījumu kādā no četrām enterotipu grupām ar AUC 78-83% (Si et al., 2022).

1.4.4. Izaicinājumi personalizētā uztura jomā

Apskata rakstos par aktuāliem sasniegumiem šajā nozarē vispārīgi tiek secināts, ka rezultāti kopumā paliek neviennozīmīgi, norādot uz to, ka ir nepieciešamas lielākas datu kopas (Biesiekierski et al., 2019; Hernández-Calderón et al., 2022). Daļēji tas tiek saistīts ar vienu no raksturīgākajām problēmām mašīnmācīšanās nozarē – t.s. “ $p > n$ ” problēmu, kur p ir faktoru skaits, kas tiek izmantots modeļa trenēšanai, un n ir novērojumu skaits. It īpaši šī problēma var būt raksturīga personalizētā uztura jomā, kad izmantojot pārtikas biežuma novērtējuma anketas, p jeb unikālo produktu skaits var pārsniegt intervencē iekļauto dalībnieku skaitu n (Ferrario and Gedrich, 2023).

Neskatoties uz to, ka atsevišķu ģenētisko variantu noteikšana ar mērķi sniegt personalizētas uztura rekomendācijas jau ir pieejama kā komercpakalpojums, to izmantošanai

nav nekāda pamatojuma (Loos, 2019), un pašlaik nozarē kopumā trūkst objektīvu biomarķieru, uz kuru rezultātiem būtu iespējams balstīt šādas rekomendācijas (Ferrario and Gedrich, 2023). Pastāv arī uzskats, ka sniegt patiesi personalizētas uztura rekomendācijas nekad nebūs iespējams, tādējādi jāfokusējas uz precīzijas uzturu, to pielāgojot cilvēku grupām pēc to kopīgi raksturojošiem kritērijiem (Zeisel, 2020).

2. METODES

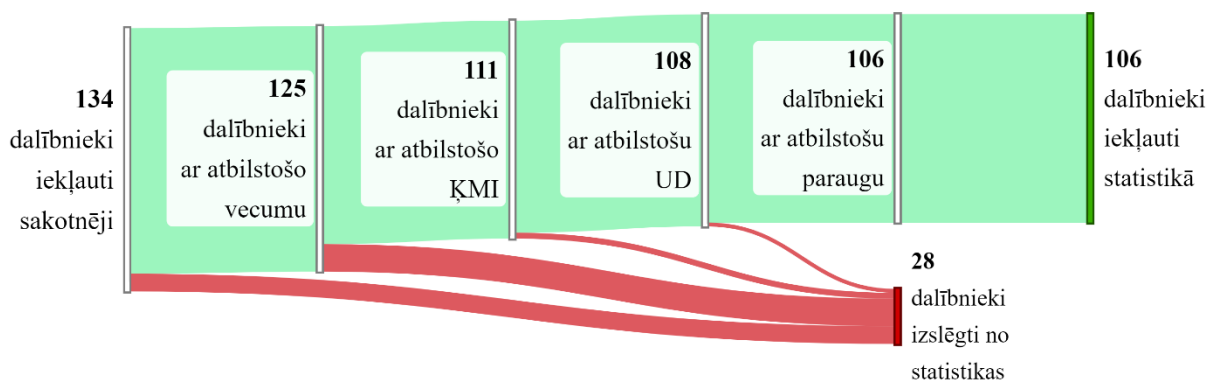
2.1. Pētījuma norise un dizains

2.1.1. Latvijas Mikrobioma Projekts

Darbā izmantotie dati tika ievākti LMP – sabiedriskās zinātnes iniciatīvas ietvaros, kas notika laika periodā no 2020. līdz 2022. gadam. Šajā projektā tika iesaistīti 1 000 brīvprātīgo Latvijas iedzīvotāju un uz tiem netika attiecināti nekādi iekļaušanas kritēriji. Projekta mērķis bija noteikt asociāciju starp Latvijas iedzīvotāju dzīvesveidu un tā mikrobioma rādītājiem. Projekta dizains netika kontrolēts – projekta ietvaros dalībnieki tika lūgti, neko nemainot savos ikdienas paradumos, trīs dienu garumā ziņot savu uzturu tam paredzētā UD un ceturtajā dienā veikt fēču parauga ievākšanu, kas tika izmantots metagenoma bibliotēkas gatavošanai. Darbā analizētie dati tika iegūti “Dinamiska cilvēka mikrobioma datu platforma un interpretācijas rīks personalizētām veselības rekomendācijām” projekta ietvaros, kurš ir saņēmis Centrālās medicīnas ētikas komitejas atļauju pētījuma veikšanai (Nr. 01-29.1.2/1668, Nr.E 1.1-2/61).

2.1.2. Dalībnieku iekļaušanas kritēriji pētījumā

Pašreizējā pētījuma sākumā datu analīzē tika iekļauti 134 dalībnieku dati, kuriem uz darba rakstīšanas brīdi bija: a) pārkodēta un aprēķināta UD sniegtā informācija; b) aizpildīta VIGDB anketa; un c) nosekvencēts metagenoma paraugs. No šīs paraugkopas tālāk tika a) izslēgti deviņi dalībnieki, kas bija jaunāki par 18 vai vecāki par 64 gadiem; b) 11 dalībnieki ar aptaukošanos un trīs dalībnieki ar nepietiekamu svaru; c) trīs dalībnieki tika izslēgti dēļ nepilnīgi aizpildītas UD; d) viens dalībnieks kuram bioinformātikas analīzes laikā kvalitātes kontroles etapā metagenoma paraugs bija neatbilstošas kvalitātes; un e) viens dalībnieks, kuram pēc taksonomiskās klasifikācijas klasificēto nolasījumu skaits bija zemāks par 13 000 000 izmantojot Metaphlan4 programmu un/vai 6 500 000 ar Kraken2 programmu. Rezultātā datu analīzē tika iekļauti 106 dalībnieki (1. attēls).



1. attēls. Izslēgšanas kritēriju pielietošana.

Figure 1. Application of exclusion criteria.

2.2. Ar uzturu saistīto datu apstrāde

2.2.1. Uztura datu ievākšana

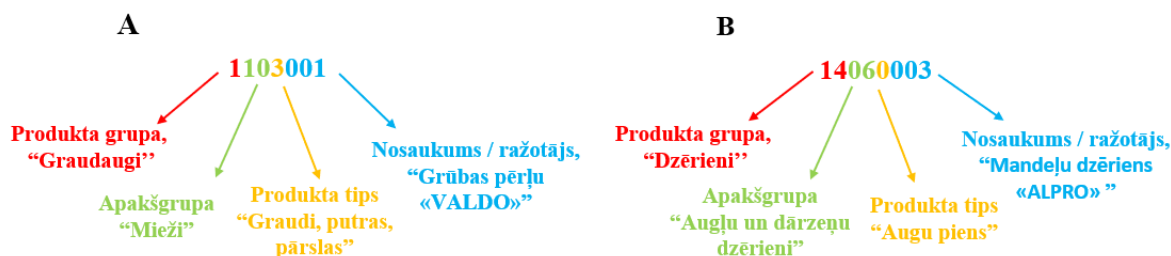
UD tika izmantota, lai ievāktu informāciju par dalībnieku uztura paradumiem, kā arī par tiem produktiem, kuri tiek izslēgti no uztura saistībā ar alerģiju, medikamentu un uztura bagātinātāju nepanesamību. Papildus tika ievākta informācija par antropometriskiem rādītājiem, dzimumu, vecumu un ikdienas vidējo fizisko slodzi – pamata vielmaiņas un arī IKD noteikšanai. Lai paaugstinātu sniedzamās informācijas kvalitāti, UD tika iekļauti trīs piemēri patērēto produktu ziņošanai (1. - A pielikums). No tiem divi tika klasificēti kā “labas” ziņošanas metodes, kas ietvēra uzturā lietoto produktu un ēdienu ziņošanu izmantojot personīgus galda svarus – t.s. “svērtā uztura dienasgrāmata”; vai ziņošanu izmantojot UD iekļautos attēlus ar t.s. “rokas metodi” (1. - B pielikums). Trešais tika klasificēts kā “sliktas” ziņošanas piemērs un tas tika iekļauts, lai motivētu dalībniekus pieturēties pie “labiem” piemēriem. Sniedzot informāciju par uzturā lietotajiem ēdieniem, dalībnieki tika lūgti tos pieminēt kā atsevišķus produktus, kā arī sniegt detalizētu informāciju par produkta nosaukumu un ražotāju.

2.2.2. Uztura datubāze

Lai veiktu UD minēto produktu kodēšanu, tika izveidota uztura datubāze, kurā tika iekļauta informācija par pārtikas produktu uzturvielu – kopējo ogļhidrātu, cukuru, olbaltumvielu, kopējo tauku, piesātināto taukskābju un šķiedrvielu sastāvu uz 100 gramiem pārtikas produkta. Uz doto brīdi, šī datubāze satur informāciju par vairāk nekā 1 000 vietēji pieejamiem pārtikas produktiem. Informācija par produktu sastāvu tika iegūta no produktu marķējumiem, savukārt informācija par augļiem un dārzeņiem tika iegūta no *Finelli* uztura datubāzes.

Datubāzē pārtikas produkti tika iedalīti 19 pārtikas produktu grupās atbilstoši EFSA rekomendācijām, kuri ir apkopoti standartizētā produktu klasifikācijas sistēmā FoodEx2 (EFSA, 2011b), kura tālāk tika pilnveidota GIFT metodoloģiskajā dokumentā (FAO/WHO, 2017), un tajā produkti tiek iedalīti sekojošās grupās: graudaugi – “1”; sakņaugi – “2”; rieksti, sēklas, pākšaugi – “3”; piens un piena produkti – “4”; olas – “5”; zivis – “6”; gaļa un gaļas produkti – “7”; ēdamie kukaiņi – “8”; dārzeņi – “9”; augļi – “10”; tauki (sviests, eļļas) – “11”; saldumi – “12”; garšaugi – “13”; dzērieni – “14”; produkti īpašām uztura vajadzībām – “15”; uztura bagātinātāji – “16”; pārtikas piedevas – “17”; saliktie (gatavie) ēdieni – “18” un uzkodas – “19” grupā. Pētījuma ietvaros, katram datubāzē iekļautam produktam tika piešķirts unikālais identifikators, kas sastāv no septiņu ciparu koda pārtikas produktiem no pirmās līdz devītajai grupai (2. - A attēls) un astoņu ciparu koda produktu grupām no 10 līdz 19 grupai (2. - B attēls).

Kodējums ietvēra informāciju par produkta grupu, produkta apakšgrupu, produkta tipu un produkta nosaukumu un/vai ražotāju (2. attēls).



2. attēls. Uztura datubāzē iekļauto pārtikas produktu klasifikācija. Sarkanā krāsa (viens vai divi cipari) norāda uz produkta grupu; zaļā krāsa (divi cipari) - uz produkta apakšgrupu; dzeltenā krāsa (viens cipars) - uz produkta tipu; un zilā krāsa (trīs cipari) - norāda uz produkta nosaukumu un/vai ražotāju.

Figure 2. The principle of dietary food product classification in the dietary database. Red (one or two digits) indicates the product group; green (two digits) - to a sub-group of the product; yellow (single digit) - product type; and blue (three digits) - indicates the name and/or manufacturer of the product.

2.2.3. Uztura novērtēšana

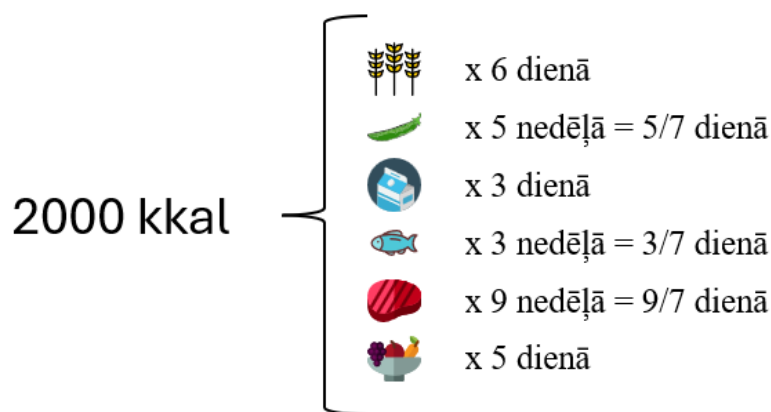
UD sniegtā informācija tika pārkodēta elektroniskā formātā tā, lai varētu pēc iespējas sīkāk to fragmentēt atsevišķās produktu grupās. Gadījumā, ja UD tika ziņots gatavais ēdiens, tas tika sadalīts atsevišķos pārtikas produktos, proporcionāli šī ēdiena receptē minētajam sastāvam. Maltīšu recepšu meklēšana tika veikta, izmantojot Google meklētājprogrammas tikai pirmajā meklēšanas lapā atrastos rezultātus, kas atbilstoši meklētājprogrammā implementētajam *PageRank* algoritmam, norāda uz šo resursu popularitāti un apmeklētību (Grind et al., 2019), tādejādi imitējot maltīšu recepšu meklēšanas procesu reālajā dzīvē. Ja gatavus ēdienus fragmentēt nebija iespējams, tie tika kodēti 18. produktu grupā – “saliktie ēdieni”. Katram produktam/ēdienam pārkodētam no UD tika piešķirts astoņu vai deviņu-ciparu kods un sastāvs atbilstoši šī produkta kodam un sastāvam uztura datubāzē, vai atsevišķos gadījumos, kad konkrētā produkta sastāvu nebija iespējams atrast, tika piešķirts līdzīga pārtikas produkta kods un sastāvs.

Informācija tika analizēta par katru no trim dienām, katra produkta/ēdiena uzturvielu sastāvu pareizino ar šī produkta/ēdiena patērēto daudzumu, rezultātā iegūstot informāciju par trīs dienu garumā vidēji uzņemto sešu uzturvielu daudzumu, kurš ir iedalīts 19 GIFT produktu grupās (kopā 114 uzturvielu pozīcijās).

2.2.4. Darbā izmantotās uztura references definēšana

Dalībnieku esošie uztura paradumi tika salīdzināti ar aktuālām rekomendācijām no dažādām uztura vadlīnijām. Par pamatu tika ņemtas EFSA uztura rekomendācijas par

individuālo IKD sadalījumu ogļhidrātos, olbaltumvielās un taukos, atbilstoši to makroerģiskai vērtībai pēc principa 55% / 15% / 30%. Tomēr, ņemot vērā uzturvielu fizikāli-ķīmiskās atšķirības starp dažādām, un pat to pašu pārtikas produktu grupu ietvaros, EFSA rekomendācijas tika apvienotas ar rekomendācijām no Malaizijas uztura vadlīnijām, kurā par pamatu tiek ņemtas sešas dažādas produktu grupas – (1) graudaugu; (2) riekstu, sēklu un pākšaugu; (3) piena un piena produktu; (4) gaļas un olu; (5) jūras produktu; un (6) augļu un dārzeņu, – kur katrai grupai ir definēts konkrēts rekomendējamais porciju skaits uz 2 000 kkal – sešas porcijas dienā graudaugiem; piecas porcijas nedēļā pākšaugu, riekstu un sēklu grupai, kas tika pārrēķināts uz 5/7 vidēji rekomendēto porciju dienā; trīs porcijas dienā piena produktu grupai; trīs porcijas nedēļā jūras produktu grupai, kas tika pārrēķināts uz 3/7 vidēji rekomendēto porciju dienā; deviņas porcijas nedēļā gaļas produktu un olu grupai, kas tika pārrēķināts uz 9/7 vidēji rekomendēto porciju dienā; un piecas porcijas dienā augļu un dārzeņu grupai (3. attēls).









3. attēls. Ieteicamais produktu grupu daudzums uz 2 000 kkal.

Figure 3. Proposed food group intake per 2 000 kkal.

Produktu grupu porcijas tika definētas atbilstoši Malaizijas uztura vadlīnijām kā konkrēts uzturvielas daudzums, kas tika uzņemts ar pārtikas produktiem no šīs grupas. Viena pākšaugu, riekstu un sēklu grupas porcija tika definēta kā 7 g olbaltumvielu, kas tika uzņemti ar pārtikas produktiem no trešās GIFT grupas (rieksti, sēklas un pākšaugi); viena piena produktu porcija tika definēta kā 7 g olbaltumvielu, kas tika patērēti ar pārtikas produktiem no ceturtās GIFT grupas (piens un piena produkti); viena jūras produktu porcija tika definēta kā 14 g olbaltumvielu, kas tika patērēti ar pārtikas produktiem no sestās GIFT grupas (zivis un jūras produkti); un viena gaļas un olu grupas porcija tika definēta kā 14 g olbaltumvielu, kas tika patērēti ar pārtikas produktiem no piektās (olas) un/vai septītās GIFT grupas (gaļa un gaļas produkti). Viena graudaugu grupas porcija tika definēta kā 30 g cietes, kas ir patērēta ar pārtikas produktiem no pirmās (graudaugi) un/vai otrās GIFT grupas (sakņaugi); un viena augļu un

dārzeņu grupu porcija tika definēta izmantojot rekomendācijas par augļu un dārzeņu patēriņu no PVO un Amerikas Sirds Asociācijas kā 80 gramu, kas ir patērēti ar produktiem no devītās (dārzeņi) un/vai 10 GIFT grupas (augļi) (4. attēls).

x 1		= 30 g patērētās cietes no 1 un/vai 2 GIFT grupas
x 1		= 7 g patērēto olbaltumvielu no 3 GIFT grupas
x 1		= 7 g patērēto olbaltumvielu no 4 GIFT grupas
x 1		= 14 g patērēto olbaltumvielu no 6 GIFT grupas
x 1		= 14 g patērēto olbaltumvielu no 5 un/vai 7 GIFT grupas
x 1		= 80 g patērētā produkta no 9 un/vai 10 GIFT grupas

4. attēls. Vienas porcijas definīcija katrai produktu grupai.

Figure 4. Definition of a single portion for each food group.

2.2.5. Patērēta un ieteicamā produktu patēriņa attiecības aprēķināšana

Patērēto pārtikas produktu grupu daudzums tika salīdzināts ar rekomendēto referenci, to pielāgojot katram dalībniekam individuāli atbilstoši IKD. Bazālais metabolisma līmenis (BML) tika aprēķināts izmantojot uzlabotu Harrisa–Benedikta formulu (Pavlidou et al., 2023), aizvietojo ar esošo svaru (kg) ar ideālo svaru (kg), kas tika definēts kā svars, kas katram dalībniekam ar konstantu augumu būtu pie $\text{KMI} = 22$.

$$\text{Ideālais svars (kg)} = 22 * (\text{augums, m})^2$$

Rezultātā BML aprēķināšanai tika izmantotas sekojošas dzimumam specifiskas formulas:

$$\text{BML}_{\text{vīr}} = 9.65 * 22 * (\text{augums, m})^2 + 5.73 * (\text{augums, cm}) - 5.08 * (\text{vecums, g}) + 260$$

$$\text{BML}_{\text{siev}} = 7.38 * 22 * (\text{augums, m})^2 + 6.07 * (\text{augums, cm}) - 2.31 * (\text{vecums, g}) + 43$$

Lai aprēķinātu katram dalībniekam IKD, kas vēlāk tiks izmantots, lai pielāgotu individuāli ieteicamo produktu grupu porciju daudzumu, rezultējošais BML tika reizināts ar fiziskās aktivitātes līmeni, kas visiem dalībniekiem tika izvēlēts kā 1.35:

$$\text{IKD} = \text{BML} * 1.35$$

Rezultātā darbā izmantotās patērētā un ieteicamā pārtikas produktu grupu attiecības tika aprēķinātas pēc sekojoša principa:

$$1) \text{ Graudaugu attiecība} = \frac{\text{Ciete}_{3 \text{ dienu vid. no 1 un 2 GIFT grupām (g)}} / 30 \text{ (g)}}{6 * \text{IKD (kcal)} / 2000 \text{ (kcal)}}$$

$$2) \text{ Pākšaugu, riekstu, sēklu attiecība} = \frac{\text{Olb. 3 dienu vid. no 3 GIFT grupas (g) / 7 (g)}}{5 / 7 * \text{IKD (kcal) / 2000 (kcal)}}$$

$$3) \text{ Piena produktu attiecība} = \frac{\text{Olb. 3 dienu vid. no 4 GIFT grupas (g) / 7 (g)}}{3 * \text{IKD (kcal) / 2000 (kcal)}}$$

$$4) \text{ Gaļas un olu attiecība} = \frac{\text{Olb. 3 dienu vid. no 5 un 7 GIFT grupām (g) / 14 (g)}}{9 / 7 * \text{IKD (kcal) / 2000 (kcal)}}$$

$$5) \text{ Jūras produktu attiecība} = \frac{\text{Olb. 3 dienu vid. no 6 GIFT grupas (g) / 14 (g)}}{3 / 7 * \text{IKD (kcal) / 2000 (kcal)}}$$

$$6) \text{ Dārzeņu un augļu attiecība} = \frac{\text{Svars 3 dienu vid. no 9 un 10 GIFT grupām (g) / 80 (g)}}{5 * \text{IKD (kcal) / 2000 (kcal)}}$$

2.3. Metagenoma bibliotēku sagatavošana un sekvencēšana

Ievākto fēču paraugu sagatavošanu sekvencēšanai, kā arī pašu sekvencēšanu veica apmācīts laboratorijas speciālists. Īsumā, mikrobiālās DNS izolēšana no fēču paraugiem tika veikta izmantojot *MagPureStool DNA LQ* reaģentu komplektu (MGI Tech, Ķīna) un automatizētu DNS izdalīšanas iekārtu *MGISP-960 Automated Sample Preparation System* (MGI Tech, Ķīna). Iegūtā DNS koncentrācija tika novērtēta izmantojot *Qubit DNA High-Sensitivity Assay Kit* reaģentu komplektu (Thermo Fisher Scientific, ASV) un Qubit 2.0 fluorometru (Thermo Fisher Scientific, ASV). DNS paraugu tālāka sagatavošana sekvencēšanai tika veikta izmantojot *MGIEasy Universal DNA Library Prep Set* reaģentu komplektu (MGI Tech, Ķīna) vadoties pēc ražotāja izstrādāta protokola. Iegūtās metagenoma bibliotēkas koncentrācija tika noteikta izmantojot *Qubit DNA High-Sensitivity Assay Kit* reaģentu komplektu un Qubit 2.0 fluorometru, savukārt bibliotēkas kvalitāte tika novērtēta izmantojot *Agilent High Sensitivity DNA Kit* reaģentu komplektu (Agilent, ASV) un *Agilent Bioanalyzer 2100* iekārtu (Agilent Technologies, ASV). Paraugu sekvencēšana tika veikta izmantojot DNBSEQ-G400 sekvencēšanas platformu un *DNBSEQ-G400RS High-Throughput Sequencing Set* (PE150) reaģentu komplektu (MGI Tech, Ķīna). Sekvencēšanas rezultātā sagaidāmais datu apjoms uz katru paraugu bija vismaz 10 miljoni 150 bp pārotu nolasījumu.

2.4. Bioinformātiskā analīze

1.tabula. Metagenoma datu analīzē izmantotie bioinformātikas rīki.

Table 1. Bioinformatic tools used in the metagenomic data analysis.

Izmantotā rīka nosaukums Name of the used tool	Versija Version
FastQC	v0.12.1
Atropos	v1.1.31
BMTagger	v1.1.0
Metaphlan	v4.0.6
Metaphlan database	mpa_vOct22_CHOCOPhlanSGB_202212
Kraken	v2.1.2
Bracken	v2.8
Kraken database	UHGG v2.0.1
Krakentools	v1.2

2.4.1. Metagenoma datu priekšapstrāde:

Nolasījumu kvalitātes un adapteru filtrācijai tika izmantots rīks Atropos izmantojot šādus parametrus: “-a AAGTCGGAGGCCAAGCGGTCTTAGGAAGACAA -A AAGTCGGATCGTAGCCATGTCGTTCTGTGAGCCAAGGAGTTG -m 75 -q 20,20”. Saimniekorganisma, jeb cilvēka izcelsmes nolasījumu filtrācijai tika izmantots rīks BMTagger, ar kura palīdzību metagenoma paraugos esošie nolasījumi tika salīdzināti pret cilvēka references genoma versiju hg38, un nolasījumi, kas tika atpazīti kā cilvēkam piederoši, tika izņemti no turpmākas analīzes. Iegūto nolasījumu kvalitāte tika novērtēta izmantojot rīkus FastQC un MultiQC.

2.4.2. Taksonomiskā klasifikācija

Lai veicinātu pētījuma reproducējamību, pētījumā iekļauto dalībnieku metagenomu paraugi tika klasificēti izmantojot divus dažādus rīkus. Filtrētie metagenomu nolasījumi sākotnēji tika klasificēti izmantojot rīku Kraken2 (Wood et al., 2019), tos pielīdzinot “UHGG v 2.0.1” datubāzē (Almeida et al., 2020) iekļautiem genomiem izmantojot parametrus: “--confidence 0.51, --minimum-hit-groups 4, --paired”. Iegūtā klasifikācija tika papildus apstrādāta izmantojot Bracken rīku, iepriekš iegūtos rezultātus koriģējot pēc baktēriju genomu garumiem (Lu et al., 2017) izmantojot parametrus: “-r 100 -l S”. No Bracken rīka rezultējošā klasifikācija tika transformēta izmantojot Python skriptu “kraken_to_mpa.py” un visi izejas faili tika apvienoti vienā failā izmantojot Python skriptu “mergempa.py” no rīka

“KrakenTools” (Lu et al., 2022). Solī 2.4.1. filtrētās paraugu sekvences tika papildus klasificētas izmantojot rīku Metaphlan4 (Blanco-Míguez et al., 2023), kurš salīdzina paraugu sekvences ar marķiergēniem, kas iekļauti “mpa_vOct22_CHOCOPhlanSGB_202212” datubāzē. Šī klasifikācija notika izmantojot standarta parametrus, un rezultātā tika iegūta klasifikācija ar absolūtām vērtībām. Rezultējošie izejas faili no Metaphlan4 rīka tika savstarpēji apvienoti vienā failā izmantojot “merge_metaphlan_tables_abs.py” Python skriptu.

2.5. Iegūto datu priekšapstrāde

2.5.1. Uztura datu priekšapstrāde

Potenciālu ekstremālu vērtību noteikšanai, kas katras produktu grupas gadījumā tika definēts kā “ $> IQR * 1.5$ ”, dati ar produktu grupu patērēto/ieteicamo attiecību vērtībām tika vizualizēti izmantojot kastu diagrammu no R paketes “ggplot2”, ekstremālās vērtības atzīmējot ar sarkaniem punktiem (2. - A pielikums). Lai izvairītos no ekstremālām vērtībām un pielīdzinātu katras produktu grupas svaru klasterizācijas procesā, patērētā/ieteicamā patēriņa attiecību vērtības tika normalizētas izmantojot z-novērtējuma metodi ar funkciju “transform” no R paketes “liver” (2. - B pielikums).

2.5.2. Mikrobioma datu normalizācija

Informācija par metagenoma paraugu taksonomisko klasifikāciju sugu līmenī, kura iegūta ar Metaphlan4 un Kraken2 rīkiem, tika normalizēta līdz vienādam sekvencēšanas dziļumam izmantojot mērogošanu ar ranžēto apakšizlasi metodi, kura tika veikta ar funkciju “SRS” no R paketes “SRS”. Kā robežvērtība tika izmantoti 13 000 000 nolasījumu ar Metaphlan4 rīku klasificētiem datiem, un divreiz zemāka vērtība – 6 500 000 nolasījumu ar Kraken2 rīku klasificētiem datiem, jo Kraken2 klasifikācijas procesā tika veikta augšupejošo (5' - 3') un reverso (3' - 5') nolasījumu apvienošana (Beule and Karlovsky, 2020).

2.5.3. TSE objekta izveidošana

No darbā iekļautiem taksonomiskajiem datiem mikrobioma datu analīzei tika izveidoti divi *TreeSummarizedExperiment* (TSE) objekti – atsevišķi ar Metaphlan4 un ar Kraken2 rīku iegūtiem klasifikācijas rezultātiem izmantojot funkciju “TreeSummarizedExperiment” no R paketes “TreeSummarizedExperiment”.

2.5.4. Mikrobioma datu filtrēšana

Lai paaugstinātu iegūto rezultātu reproducējamību, tika veikta reti sastopamo sugu filtrēšana (Cao et al., 2021). Sākotnēji Kraken2 un Metaphlan4 TSE objektos iekļautie klasifikācijas rezultāti ar absolūtām SRS-normalizētām vērtībām tika transformēti relatīvās vērtībās izmantojot funkciju “transformAssay” no R paketes “mia”. Reto sugu filtrēšana tika

veikta izmantojot funkciju “subsetByPrevalentFeatures” no R paketes “mia”. Sākotnēji filtrēšana tika veikta datiem, kuri iegūti ar Metaphlan4 rīku, kura taksonomiskā klasifikācija balstās uz marķiergēniem un tādēļ tā tiek uzskatīta par konservatīvāku pieeju. Reto sugu filtrēšanai tika izmantoti parametri “detection = 1/10000, prevalence = 5/100”, tādējādi no turpmākas analīzes izslēdzot sugas, kuru sastopamības biežums ir zemāks par 0.01%, un sugas, kuras ir sastopamas mazāk nekā 5% no iekļauto dalībnieku paraugiem (3. - A pielikums). Lai sasniegtu savstarpēji salīdzināmus rezultātus datiem, kuri klasificēti ar diviem dažādiem rīkiem, ar Kraken2 programmu klasificētiem datiem reto sugu filtrēšana tika veikta atsevišķi izmantojot parametru “prevalence = 5/100”; un izmantojot parametru “prevalence = 10/100” (3. - B pielikums). Iegūtās filtrētās datu kopas tika savstarpēji salīdzinātas, lai izvēlētos piemērotākos filtrēšanas parametrus, izmantojot lineārās regresijas analīzi, kura tika veikta ar funkciju “stat_regline_equation” no R paketes “ggpubr”, un iegūtie rezultāti tika vizualizēti izmantojot funkciju “stat_smooth” no R paketes “ggplot2”. Pirmajā gadījumā, Metaphlan4 datus katrā paraugā atlikušais sugu procentuālais daudzums TSE objektā tika salīdzināts ar Kraken2 datus katrā paraugā atlikušo sugu procentuālo daudzumu TSE objektā, kur filtrēšana tika veikta pie parametra “prevalence = 5/100” (4. - A pielikums). Otrajā gadījumā, Metaphlan4 datus katrā paraugā atlikušais sugu procentuālais daudzums TSE objektā tika salīdzināts ar Kraken2 datus katrā paraugā atlikušo sugu procentuālo daudzumu, kur filtrēšana tika veikta pie parametra “prevalence = 10/100” (4. - B pielikums). Rezultātā, otrajā gadījumā tika novērota labāka lineārā regresija ($y = 0.087 + 0.8x$) nekā pirmajā ($y = 0.58 + 0.41x$), tādēļ tā tika izvēlēta turpmākā mikrobioma datu analīzē.

2.6. Individu grupēšana balstoties uz uztura datiem

No uztura datiem aprēķināto sešu produktu grupu patērēto/ieteicamo z -novērtējuma normalizētās attiecības (iegūtas apakšnodaļas 2.2.5 darbību rezultātā) tika izmantotas dalībnieku iedalīšanai divās grupās pielietojot k -vidējo algoritmu ar funkciju “kmeans” no R paketes “stats” ar sekojošiem parametriem “centers = 2, iter.max = 10000, nstart = 1000”. Iegūtie rezultāti tika vizualizēti PCA grafikā ar funkciju “fviz_pca_biplot”, kas pieejama no R paketes “factoextra”, dalībniekus iekrāsojot pēc grupas, kurā katrs indivīds tika iedalīts.

2.7. Taksonomisko datu analīze

Ar Metaphlan4 un Kraken2 iegūto datu TSE objektiem datu analīze tika veikta atsevišķi. Alfa-daudzveidības salīdzināšanai starp grupām tika izmantots Šenona un apgrieztais Simpsona indekss un šie indeksi tika aprēķināti sugu līmenī izmantojot funkciju “estimatediversity” no R paketes “mia”.

Beta-daudzveidība tika aprēķināta izmantojot Breja–Kērtisa nevienlīdzības koeficientus starp paraugiem ar funkciju “distance” no R paketes “phyloseq”, un rezultējošā matrica tika vizualizēta ar PCoA metodi izmantojot funkciju “plot_ordination” no R paketes “phyloseq”. Starp paraugiem tika aprēķinātas arī Eiklīda distances izmantojot funkciju “distance” no R paketes “phyloseq”. Eiklīda distances tika transformētas izmantojot robustu centrētu logaritmiskās attiecības (rclr, no angļu val. – *robust centered log ratio*) transformācijas metodi ar funkciju “transform” no R paketes “microbiome”, un rezultāti tika vizualizēti izveidojot PCA grafiku ar funkciju “ordinate” no R paketes “phyloseq”.

Taksonomiskās klasifikācijas absolūtās vērtības tika transformētas izmantojot modificētu centrālo logaritmisko attiecību (mclr, no angļu val. – *modified centered log ratio*) transformācijas metodi izmantojot R paketi “SPRING”. Mikrobiālo asociāciju tīkli tika ģenerēti izmantojot funkciju “netConstruct” no R paketes “NetCoMi” un iegūtie tīkli tika vizualizēti ar funkciju “plot” no R paketes “NetCoMi”, kā virsotņu lielumu norādot mclr transformētu un SRS-normalizētu sugu relatīvo izplatību. Diētas grupu paredzēšanai tika izmantota funkcija “coda_glmnet” no R paketes “coda4microbiome”, kas tika veikta izmantojot tīklos identificētos bakteriālos centrmezglus, kuri iepriekš tika normalizēti izmantojot funkciju “impute_zeroes” no R paketes “coda4microbiome” (Calle et al., 2023).

2.8. Datu statistiskā analīze

Nepārtraukto datu normālais sadalījums tika novērtēts ar Q-Q diagrammām izmantojot funkciju “qqPlot” no R paketes “car”.

Divu neatkarīgu grupu salīdzinājumi tika veikti izmantojot Manna-Vitnija U testu ar funkciju “wilcox_test” no R paketes “rstatix”. Manna-Vitnija U testa efekta lielums (r) tika aprēķināts izmantojot funkciju “wilcox_effsize” no R paketes “rstatix”, kur r vērtība robežās starp 0.1 un 0.3 tika uzskatīta par nelielu efektu, r vērtība robežās starp 0.3 un 0.5 par vidēju efektu, un r vērtība lielāka vai vienāda ar 0.5 – par lielu efektu.

Atšķirības dispersijas homogenitātē starp paraugu grupām tika novērtēta ar PERMDISP2 testu izmantojot “betadisper” funkciju no R paketes “vegan”. Atšķirības dispersijā starp paraugu grupām tika novērtēta ar PERMANOVA testu izmantojot funkciju “adonis2” no R paketes “vegan”, kur būtiski atšķirīgas grupas tika identificētas izmantojot funkciju “pairwise.adonis” no R paketes “pairwiseAdonis”. PERMANOVA efekta lielums (daļēja omega kvadrātā - ω_p^2) tika aprēķināts izmantojot funkciju “adonis_OmegaSq” no R paketes “MicEco”, kur $\omega_p^2 < 0.06$ tiek uzskatīta par nelielu efektu, ω_p^2 robežās starp 0.06 un 0.14 par vidēju efektu un ω_p^2 lielāks vai vienāds ar 0.14 par lielu efektu.

Mikrobiālie tīkli starp paraugu grupām tika salīdzināti izmantojot funkciju “netCompare” no R paketes “NetCoMi” (Peschel et al., 2021). Atšķirības tīklu globālajās īpašībās starp grupām tika izvērtētas tikai kopējam tīklojumam veicot vienvirziena testu.

Izveidoto klasteru līdzības bakteriālajos tīklos starp dažādām grupām tika noteiktas izmantojot koriģēto Randa indeksu (ARI, no angļu v. – *adjusted Rand index*), kur viens norāda uz identisku klasterizēšanos un nulle – uz nejaušu jeb atšķirīgu klasterizēšanos (Hubert and Arabie, 1985), un šo līdzību būtiskums tika noteikts izmantojot R paketes “NetCoMi” implementēto permutācijas analīzi.

Tīklu centralitātes mērījumi starp grupām tika salīdzināti, izmantojot Džakarda indeksu (Jacc), kura vērtība atrodas robežās no nulles līdz viens, kur nulle norāda uz klasteru atšķirībām, un viens – uz to līdzībām. Katram centralitātes mērījumam attiecīgi tika novērtēta gan līdzību, gan arī atšķirību būtiskums. Šim mērķim tika aprēķinātas divas p -vērtības – $P(J \leq j)$, kura pie būtiskas vērtības ($p < 0.05$) norādīja uz grafu centralitātes rādītāju atšķirībām starp grupām; un $P(J \geq j)$, kura pie būtiskas vērtības ($p < 0.05$) norādīja uz grafu centralitātes rādītāju starpgrupu līdzībām (Real and Vargas, 1996). P -vērtības tika aprēķinātas izmantojot R paketē “NetCoMi” implementēto permutācijas analīzi.

Grupas paredzēšanas precizitāte (ARI) tika noteikta veicot permutācijas analīzi ar funkciju “coda_glmnet_null” no R paketes “coda4microbiome”.

3. REZULTĀTI

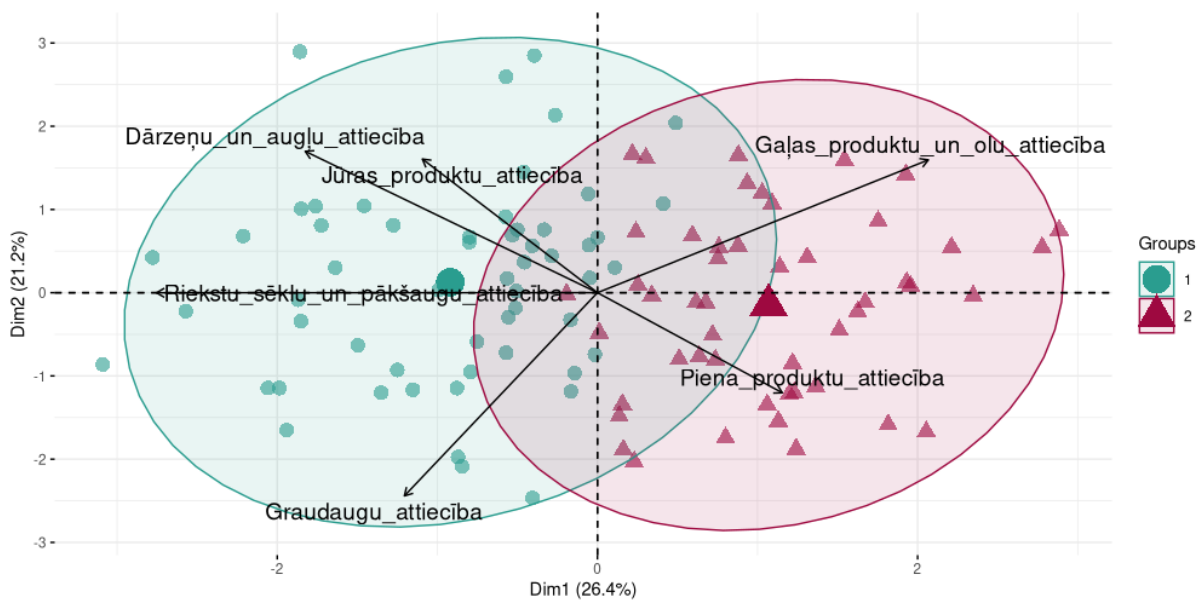
3.1. Ieteicamo produkta grupu porciju daudzuma validācija

Pārtikas produktu grupu reference, ar kuru tika salīdzināta UD ziņotā informācija (Metožu nodaļa, 3. attēls), sākotnēji tika validēta. Vispirms katrā produktu grupā no visiem konkrētajā grupā iekļautiem pārtikas produktiem tika aprēķināta uzturvielu mediāna (5. pielikums). Katrai produktu grupai tika aprēķināts arī kopējais “galvenās” uzturvielas daudzums, kas tika izmantots katras produktu grupas porcijas definēšanai, ko cilvēks potenciāli uzņemtu, ja pieturētos pie piedāvātās references: 180 g cietes no graudaugu grupas (30 g cietes * 6 porcijas uz 2 000 kkal), 5 g olbaltumvielu no riekstiem, sēklām vai pākšaugiem, 21 g olbaltumvielu no piena produktiem, 6 g olbaltumvielu no jūras produktiem un 18 g olbaltumvielu no gaļas produktiem; kas tika iedalīts izmantojot šīs uzturvielas mediānu atbilstošajā pārtikas grupā (5. pielikums), rezultātā iegūstot koeficientu. Dārzeņu un augļu grupām koeficients tika aprēķināts atsevišķi – koeficients 5 dārzeņu un augļu produktu grupu patēriņam, kurš tiek rekomendēts vadlīnijās tika dalīts uz pusēm, rezultātā iegūstot koeficientu 2.5 gan dārzeņiem, gan augļiem (6. pielikums).

Katrai produktu grupai iegūtais koeficients turpmāk tika reizināts ar tās pašas grupas mediānu ogļhidrātu, olbaltumvielu un tauku daudzumam uz 100 gramiem produkta, rezultātā aprēķinot kopējo potenciāli uzņemto uzturvielu daudzumu. Apvienojot visas uzturvielas no katras produktu grupas, no 2 000 kkal, kas tika izmantots kā sākotnējā reference, tika sasniegti ~95.6%, no kuriem 48.5% tika iedalīti ogļhidrātos, 17% olbaltumvielās un 30.2% taukos (7. pielikums).

3.2. Dalībnieku grupēšana pēc uztura datiem un to raksturojums

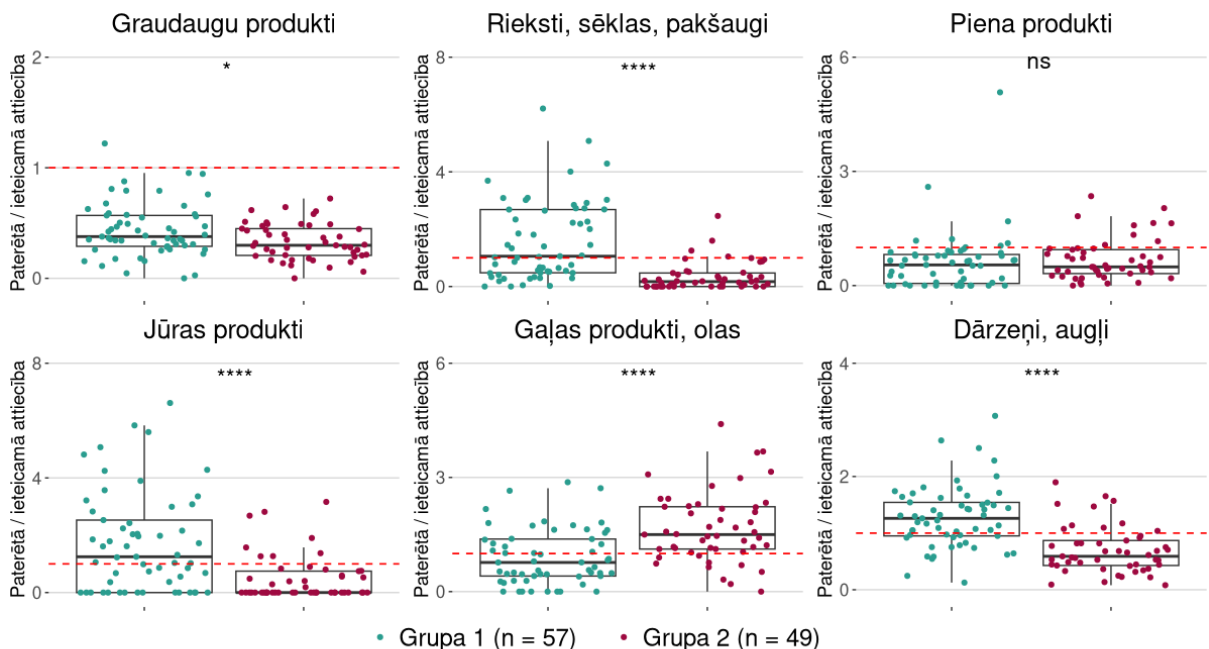
Proporcijas aprēķināšanas rezultātā starp uzņemto un ieteicamo pārtikas produktu attiecību katrai no sešām produktu grupām (2. - A pielikums) tika iegūtas vērtības, kuras tika normalizētas ar *z*-novērtējuma metodi (2. - B pielikums) un izmantotas dalībnieku turpmākai grupēšanai divās grupas izmantojot *k*-vidējo algoritmu. Iegūtās dalībnieku grupas bija līdzīgas pēc tajā iekļauto dalībnieku skaita, ar 57 dalībniekiem vienā grupā un 49 dalībniekiem otrā grupā. Dalībnieku sadalījums tika vizualizēts izmantojot galveno komponentu analīzi, kur pirmā klastera dalībnieki ir atzīmēti ar zaļu, savukārt, otrās grupas dalībnieki ar sarkanu krāsu (5. attēls).



5. attēls. Dalībnieku grupēšana ar k -vidējo algoritmu izmantojot produktu grupu attiecības.

Figure 5. Clustering of participants based on the food group ratios by k -means algorithm.

Iegūtās dalībnieku grupas tika savstarpēji salīdzinātas balstoties uz tajās iekļauto indivīdu uztura paradumiem. Sākotnēji savstarpēji tika salīdzināta proporcija starp uzņemto un ieteicamo produktu grupu patēriņu (6. attēls), kur attēlā ar sarkanu horizontālu līniju ir atzīmēta attiecīgās produktu grupas uzņemto porciju skaita atbilstība rekomendētajam daudzumam.

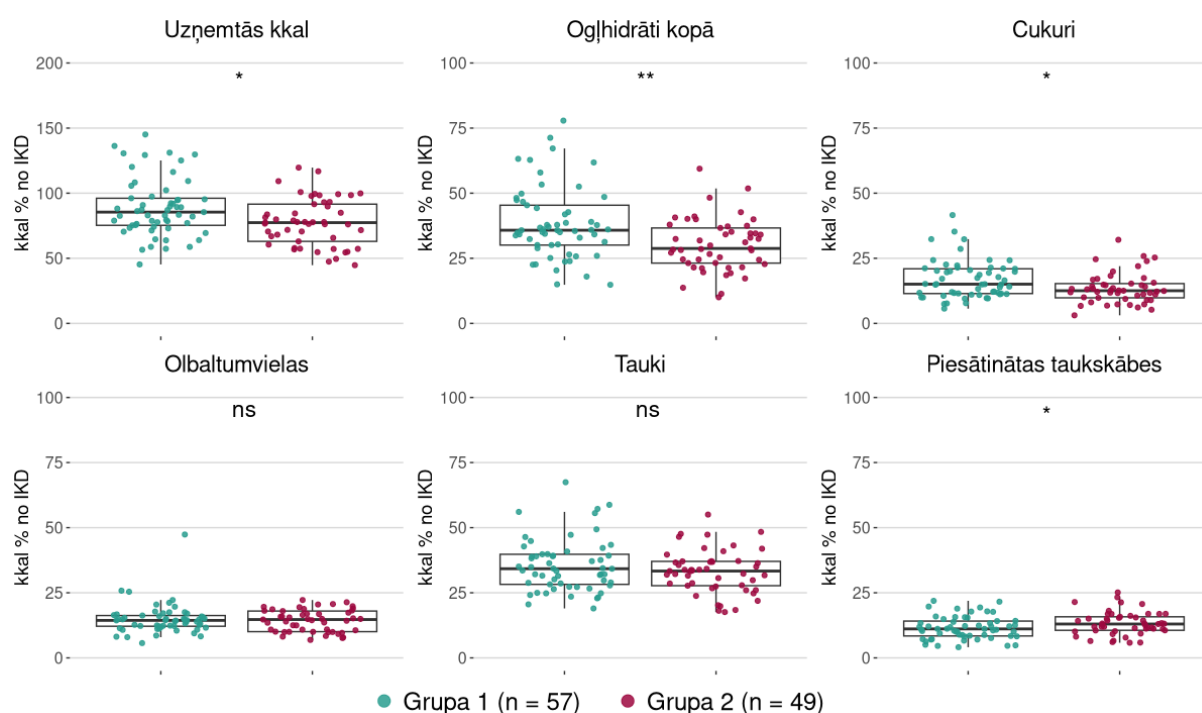


Manna-Vitnija U-tests, ns: $p > 0.05$; *: $p < 0.05$; ****: $p \leq 0.0001$

6. attēls. Atšķirības uzņemto produktu grupu attiecībās starp dalībnieku grupām.

Figure 6. Differences in ratio of consumed dietary groups between groups of participants.

Manna-Vitnija U-tests tika veikts, lai noteiktu iespējamās atšķirības uzņemto produktu grupu attiecībā. Iegūtie rezultāti norāda uz būtiski augstāku proporciju starp uzņemto un rekomendēto produktu attiecību graudaugu grupai ($W = 1\ 750$, $P = 0.025$, $r = 0.217$), riekstu, sēkļu un pākšaugu grupai ($W = 2\ 339$, $P < 0.001$, $r = 0.581$), jūras produktu grupai ($W = 2\ 057$, $P < 0.001$, $r = 0.421$), kā arī dārzeņu un augļu grupai ($W = 2\ 279$, $P < 0.001$, $r = 0.543$) pirmajai dalībnieku grupai, un būtiski augstāku proporciju starp uzņemto un rekomendēto attiecību gaļas un olu grupai ($W = 698$, $P < 0.001$, $r = 0.430$) otrajai dalībnieku grupai. Starp dalībnieku grupām netika konstatētas būtiskas atšķirības uzņemto piena produktu grupu attiecībā ($W = 1\ 196$, $P = 0.206$, $r = 0.123$). Ar katru pārtikas produktu grupu uzņemtais kaloriju daudzums tika izvērtēts atsevišķi, iekļaujot arī citas GIFT produktu grupas, kuras tika apvienotas vienā grupā ar nosaukumu "Cita". Uzņemto produktu grupu daudzums tika vizualizēts pārrēķinot tā daudzumu uz uzņemto kaloriju daudzumu (8. - A pielikums), ka arī pārrēķinot uz individuāli ieteicamo patēriņu (8. - B pielikums). Pēc līdzīga principa starp dalībnieku grupām tika salīdzināts arī kopējais kaloriju daudzums, kā arī kaloriju daudzuma sastāvdaļa, kas uzņemta ar katru uzturvielu atbilstoši to makroergiskām vērtībām atkarībā no IKD (7. attēls).

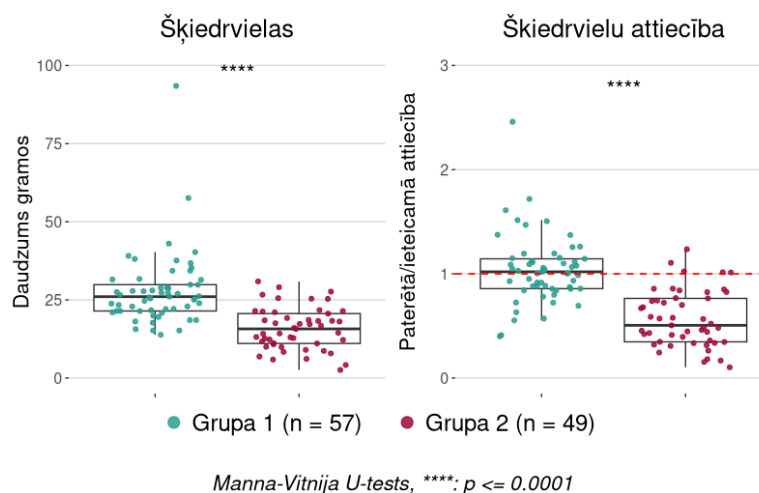


7. attēls. Atšķirības kaloriju proporcijā, kuras tika uzņemtas ar katru uzturvielu.

Figure 7. Differences in proportion of kcal consumed with each macronutrient.

Manna-Vitnija U-testa rezultāts (8. attēls) norāda uz būtiski augstāku uzņemto kaloriju daudzumu atkarībā no IKD ($W = 1\ 786$, $P = 0.014$, $r = 0.24$), augstāku kaloriju daudzumu uzņemtu ar kopējiem ogļhidrātiem ($W = 1\ 900$, $P = 0.001$, $r = 0.31$) un kaloriju daudzumu uzņemtu ar cukuru ($W = 1\ 766$, $P = 0.019$, $r = 0.227$) pirmajā dalībnieku grupā. Savukārt, būtiski

augstāks kaloriju daudzums tika uzņemts ar piesātinātām taukskābēm ($W = 1\ 067$, $P = 0.037$, $r = 0.203$) otrajā dalībnieku grupā. Netika konstatētas būtiskas atšķirības uzņemtajā kaloriju daudzumā ar olbaltumvielām ($W = 1\ 398$, $P = 0.995$, $r = 0.000923$) un taukiem ($W = 1\ 547$, $P = 0.342$, $r = 0.0926$).



8. attēls. Atšķirības uzņemto šķiedrvielu daudzumā un proporcijā starp dalībnieku grupām.

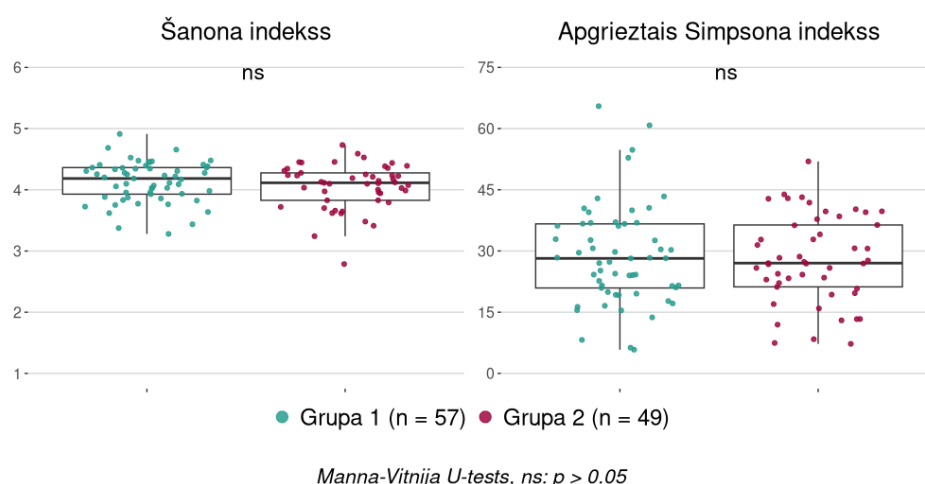
Figure 8. Differences in consumed amount and proportion of fiber among participant groups.

Manna-Vitnija U-tests tika veikts arī lai noteiktu potenciālas atšķirības uzņemto šķiedrvielu daudzumā starp abām dalībnieku grupām. Iegūtie rezultāti norāda uz būtiski augstāku šķiedrvielu patēriņu pirmajā dalībnieku grupā, kur patērētās šķiedrvielas ir izteiktas gan gramos ($W = 2\ 420$, $P < 0.001$, $r = 0.630$), gan arī kā attiecība ($W = 2\ 460$, $P < 0.001$, $r = 0.655$), salīdzinot uzņemto šķiedrvielu daudzumu ar individuāli ieteicamo atbilstoši vecumam un dzimumam (8. attēls).

Dalībnieku grupas savstarpēji tika salīdzinātas arī pēc dažādiem ar dzīvesveidu saistītiem faktoriem. Attiecīgi, Manna-Vitnija U-tests tika veikts, lai identificētu potenciālas atšķirības KMI starp dzimumiem, kā rezultātā netika atrastas statistiski nozīmīgas atšķirības ($W = 1\ 186$, $P = 0.18$, $r = 0.129$). Pīrsona hī kvadrāta (χ^2) tests tika veikts, lai noteiktu iespējamās atšķirības dzimumu sadalījumā starp grupām, tomēr arī šajā gadījumā statistiski nozīmīgas atšķirības netika identificētas ($\chi^2(1) = 1.2853$, $P = 0.26$). Visbeidzot, veicot Fišera tiešo testu starp abām dalībnieku grupām netika atrastas atšķirības izglītības līmenī ($P = 0.9$), dzīvesveidā ($P = 0.092$), kā arī dalībnieku sadalījumā dažādās vecuma grupās ($P = 0.18$) (9. pielikums).

3.3. Mikrobiālo kopienu daudzveidības analīze

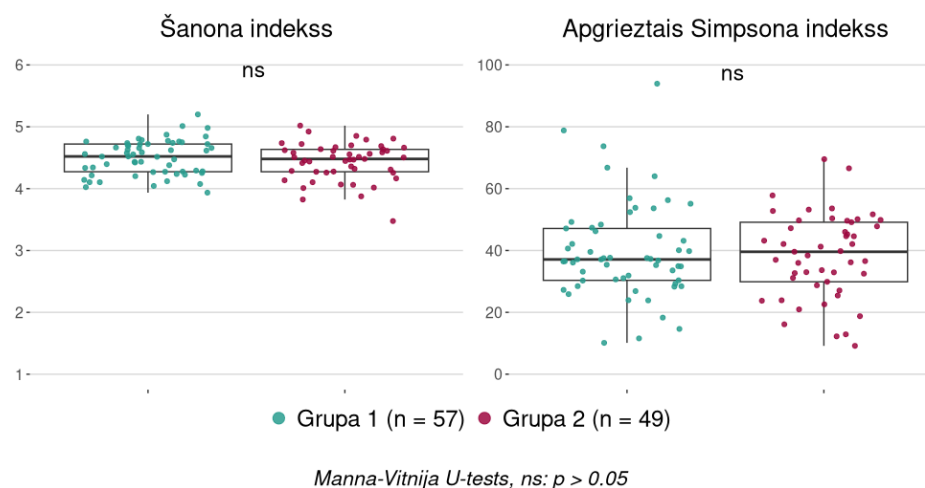
Alfa-daudzveidības analīzes ietvaros katram dalībniekam tika aprēķināts Šenona un apgrieztais Simpsona indekss izmantojot datus, kuri iegūti ar Kraken2 un Metaphlan4 klasifikācijas rīkiem.



9. attēls. Alfa-daudzveidības indeksu atšķirības starp dalībnieku grupām, kuri tika aprēķināti izmantojot klasifikācijas rezultātus no Metaphlan4 rīka.

Figure 9. Differences in alpha-diversity indices between groups calculated using classification results obtained with Metaphlan4 tool.

Lai noteiktu iespējamās atšķirības alfa-daudzveidības indeksos starp dalībnieku grupām, kas tika aprēķināti izmantojot klasifikācijas rezultātus iegūtus ar Metaphlan4 rīku, tika veikts Manna-Vitnija U-tests. Tomēr, salīdzinot alfa daudzveidības indeksus starp dalībnieku grupām netika identificētas nozīmīgas atšķirības Šenona ($W=1\ 545$, $P=0.35$, $r=0.091$) un apgrieztajā Simpsona indeksā ($W=1\ 396$, $P=1$, $r=0.00031$) (9. attēls).



10. attēls. Alfa-daudzveidības indeksu atšķirības starp dalībnieku grupām izmantojot ar Kraken2 klasificētus datus.

Figure 10. Differences in alpha-diversity between sample groups calculated using Kraken2 classification.

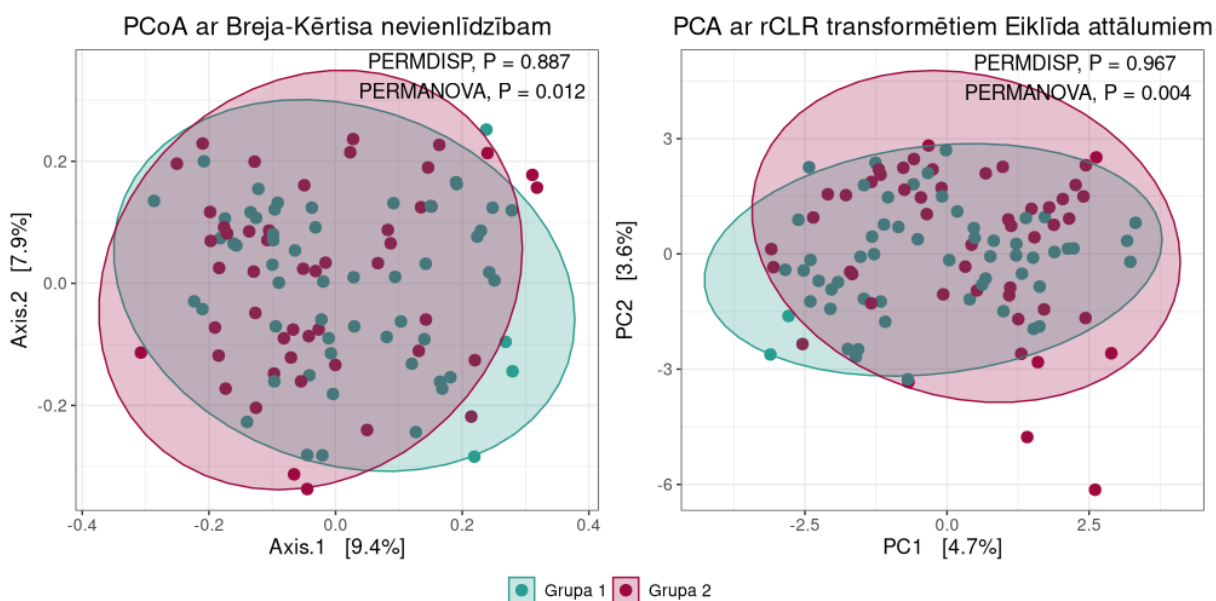
Identiski iepriekš aprakstītajam alfa-daudzveidības indeksu salīdzinājumam ar Metaphlan4 klasificētiem datiem, Manna-Vitnija U-tests tika veikts, lai noteiktu iespējamās atšķirības alfa-daudzveidības indeksos starp dalībnieku grupām, kurām klasifikācijas rezultāti

iegūti ar Kraken2 rīku. Rezultātā, salīdzinot dalībnieku grupu alfa-daudzveidības indeksu vērtības netika atrastas būtiskas atšķirības Šenona ($W=1\ 552$, $P=0.326$, $r = 0.096$) un apgrieztajā Simpsona indeksā ($W=1\ 384$, $P=0.939$, $r = 0.0077$) (10. attēls).

3.4. Mikrobiālo kopienu atšķirības

Lai izvērtētu iespējamās atšķirības mikrobioma sastāvā starp pētījuma dalībnieku grupām, beta-daudzveidība tika aprēķināta izmantojot divas dažādas metodes – Breja-Kērtisa nevienlīdzības un rclr transformētus Eiklīda attālumus.

Iespējamās atšķirības dispersijas homogenitātē starp grupām tika noteiktas izmantojot PERMDISP analīzi datiem, kuri iegūti ar Metaphlan4 klasifikācijas rīku. Analīzes rezultātā netika atrastas nozīmīgas atšķirības dispersijas homogenitātē ($P > 0.05$), veicot beta-daudzveidības salīdzināšanu starp dalībnieku grupām, izmantojot gan Breja-Kērtisa nevienlīdzības ($F_{1,104} = 0.02$, $P = 0.89$, $N\ perm. = 9\ 999$), gan Eiklīda attālumus ($F_{1,104} = 0$, $P = 0.97$, $N\ perm. = 9\ 999$), tādejādi norādot uz homogēnu mikroorganismu dispersiju starp grupām neatkarīgi no izmantotās beta-daudzveidības metodes (11. attēls).



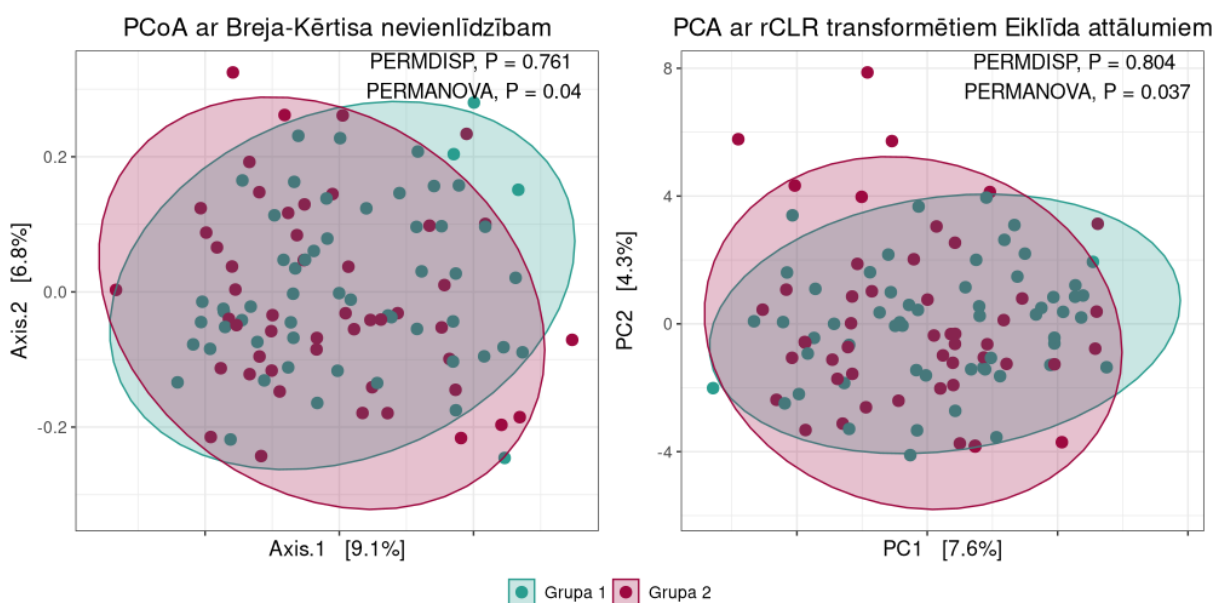
11. attēls. Beta-daudzveidības atšķirības starp dalībnieku grupām izmantojot ar Metaphlan4 klasificētus datus.

Figure 11. Differences in beta-diversity between groups calculated using Metaphlan4 classified data.

Ar Metaphlan4 rīku klasificētiem datiem tika veikta arī PERMANOVA analīze, lai identificētu iespējamās atšķirības beta-daudzveidībā starp dalībnieku grupām. Iegūtie rezultāti norāda uz statistiski būtiskām atšķirībām kompozīcijā un/vai dažādu baktēriju sugu relatīvajā sastopamībā mikrobioma paraugos starp dalībnieku grupām, beta-daudzveidības salīdzināšanai izmantojot gan Breja-Kērtisa nevienlīdzības ($F_{1,104} = 1.6$, $P = 0.012$, $N\ perm. = 9\ 999$), gan

Eiklīda attālumus ($F_{1,104} = 1.32$, $P = 0.0035$, $N \text{ perm.} = 9\ 999$), tādējādi liecinot par kompozicionālām atšķirībām starp paraugu grupām neatkarīgi no pielietotās metodes. Efekta lielums, kas tika aprēķināts kā daļēja *omega* kvadrātā, bija neliels ($\omega_p^2 = 0.0008$) gan pie Breja-Kērtisa nevienlīdzību ($\omega_p^2 = 0.0056$), gan pie Eiklīda attālumu ($\omega_p^2 = 0.003$) salīdzināšanas.

Līdzīgi kā ar Metaphlan4 klasificētiem datiem, arī Kraken2 klasificētiem datiem tika veikta PERMDISP analīze, lai noteiktu potenciālas atšķirības dispersijas homogenitātē starp dalībnieku grupām. Analīzes rezultātā netika identificētas būtiskas atšķirības dispersijas homogenitātē (12. attēls), beta-daudzveidības salīdzināšanai izmantojot gan Breja-Kērtisa nevienlīdzības ($F_{1,104} = 0.02$, $P = 0.89$, $N \text{ perm.} = 9\ 999$), gan Eiklīda attālumus ($F_{1,104} = 0.06$, $P = 0.81$, $N \text{ perm.} = 9\ 999$), attiecīgi norādot uz mikroorganismu homogēnu dispersiju starp dalībnieku grupām neatkarīgi no pielietotās beta-daudzveidības raksturošanas metodes.



12. attēls. Beta-daudzveidības atšķirības starp dalībnieku grupām izmantojot ar Kraken2 klasificētus datus.

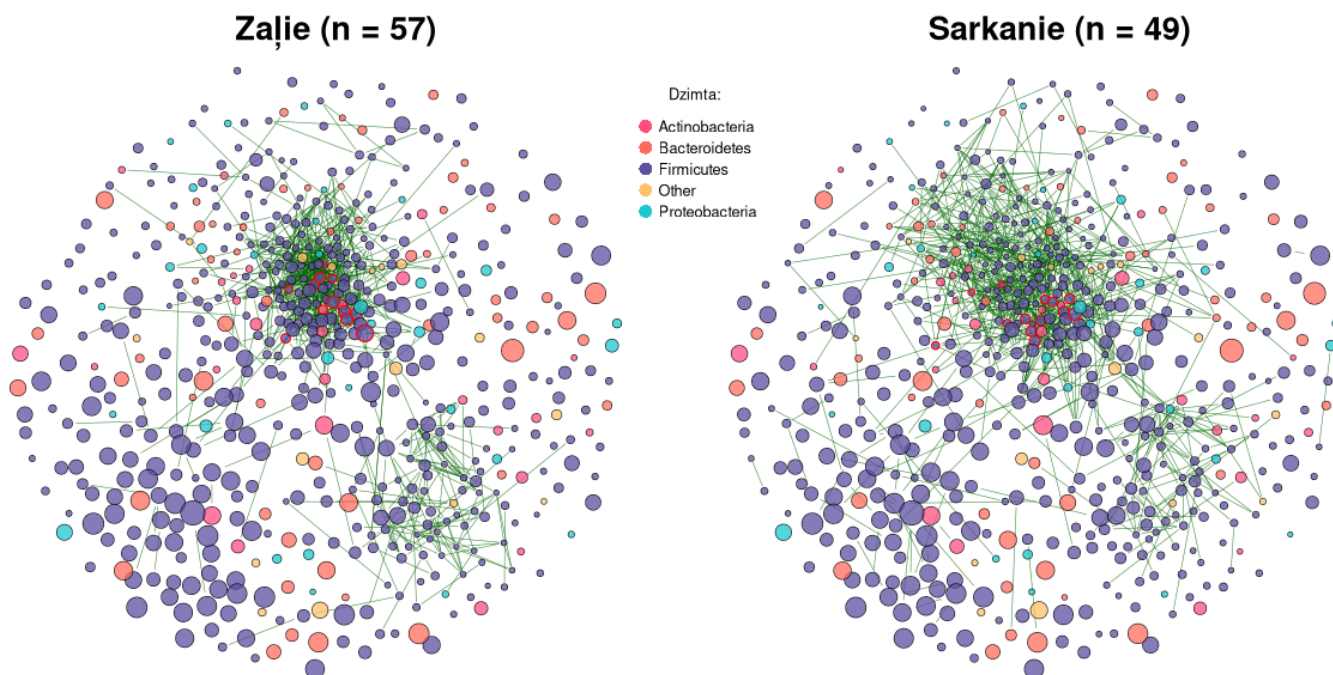
Figure 12. Differences in beta-diversity between groups calculated using Kraken2 classified data.

Ar Kraken2 rīku klasificētiem datiem tika veikta PERMANOVA analīze, lai noteiktu iespējamās atšķirības beta-daudzveidībā starp dalībnieku grupām. Iegūtie rezultāti norāda uz statistiski būtiskām atšķirībām mikroorganismu kompozīcijā un/vai dažādu baktēriju sugu relatīvajā sastopamībā mikrobioma paraugos starp abām dalībnieku grupām, beta-daudzveidību salīdzināšanai izmantojot gan Breja-Kērtisa nevienlīdzības ($F_{1,104} = 1.38$, $P = 0.04$, $N \text{ perm.} = 9\ 999$), gan Eiklīda attālumus ($F_{1,104} = 1.27$, $P = 0.037$, $N \text{ perm.} = 9\ 999$), liecinot par atšķirībām starp grupām neatkarīgi no pielietotās beta-daudzveidības raksturošanas metodes. Analīzes laikā novērotais efekta lielums bija neliels ($\omega_p^2 = 0.00361$), salīdzinot beta-daudzveidības

atšķirības izmantojot Breja-Kērtisa nevienlīdzības ($\omega_p^2 = 0.00563$) un Eiklīda attālumus ($\omega_p^2 = 0.00258$).

3.5. Diferenciālā tīklu analīze

Šajā darbā diferenciālā tīklu analīze pamatā tika veikta, lai noteiktu bakteriālos centrmezglus katrā no analizētajām dalībnieku grupām (13. un 14. attēls).



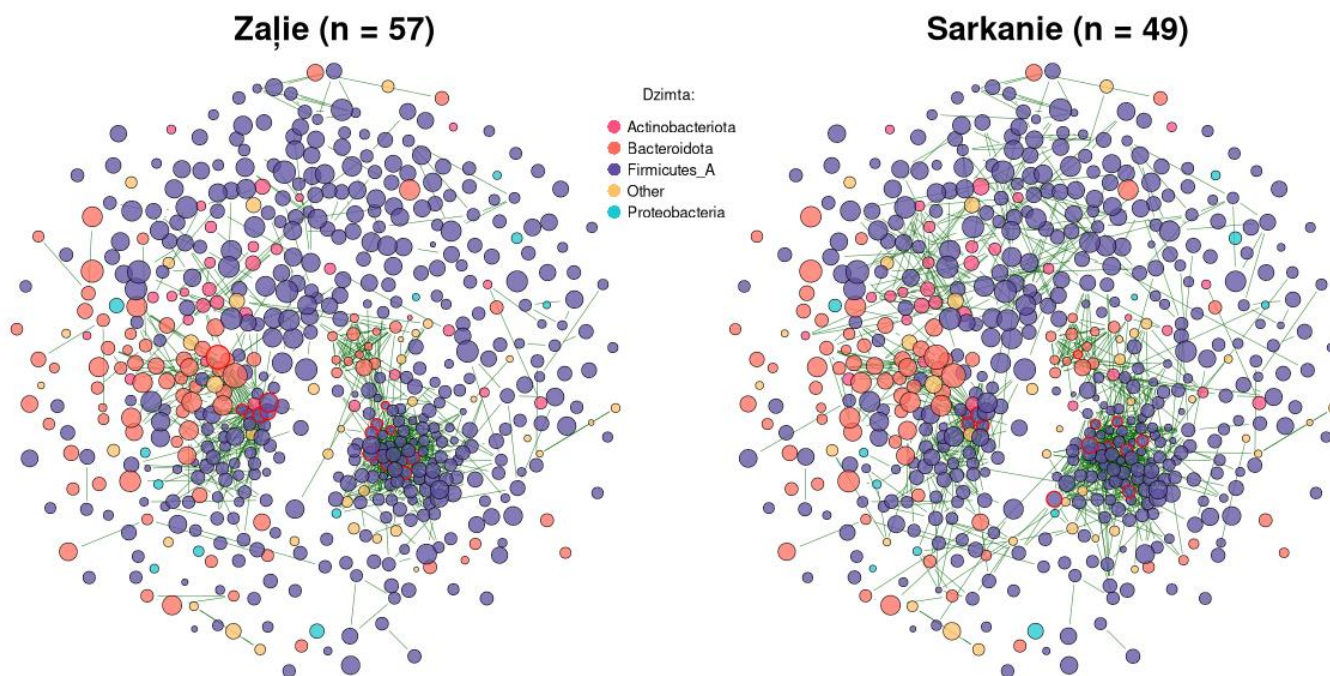
13. attēls. Baktēriju tīklojuma atšķirības starp dalībnieku grupām izmantojot ar Metaphlan4 rīku klasificētus datus.

Figure 13. Differences in bacterial networks between participant groups using data obtained by Metaphlan4.

Lai identificētu atšķirības globālajās mikrobiālo tīklu īpašībās starp dalībnieku grupām, tika veikta neparametriskā permutācijas analīze no R paketes “NetCoMi” bakteriālajiem tīkliem, kuri tika veidoti par pamatu izmantojot datus, kuri iegūti ar Metaphlan4 klasifikācijas rīku (13. attēls). Tomēr, iegūtie rezultāti norādīja uz to, ka statistiski būtiskas atšķirības tīklojuma raksturojošos radītājos starp dalībnieku grupām nepastāv ($P > 0.5$). Sekojoši, tika veikta neparametriskā permutācijas analīze, lai salīdzinātu baktēriju grupēšanos starp dalībnieku grupām. Tomēr arī šajā gadījumā iegūtie rezultāti, balstoties uz koriģēto Randa indeksu, liecināja par to, ka baktēriju grupēšanās starp dalībnieku grupām nav līdzīga ($ARI = -0.003, P = 1$).

Neparametriskā permutācijas analīze tika arī izmantota, lai izvērtētu atšķirības grafu centralitātes rādītājos starp dalībnieku grupām tiem datiem, kuri iegūti ar Metaphlan4 klasifikācijas rīku. Rezultāti, balstoties uz Džakarda indeksu, norāda uz būtiskām atšķirībām

starpcentralitātes mērījumos ($Jacc = 0.23$, $P(\leq Jacc) = 0.00024$), un būtiskām līdzībām tuvuma centralitātes mērījumos ($Jacc = 0.47$, $P(\geq Jacc) = 0.00003$). Savukārt, salīdzinot pakāpju centralitātes mērījumus netika konstatētas ne būtiskas līdzības, ne arī atšķirības starp dalībnieku grupām ($Jacc = 0.39$, $P(\leq Jacc) = 0.95$, $P(\geq Jacc) = 0.067$). Būtiskas atšķirības tika konstatētas salīdzinot katrā grupā identificētos bakteriālos centrmezglus ($Jacc = 0.14$, $P(\leq Jacc) = 0.03505$).



14. attēls. Baktēriju tīklojuma atšķirības starp dalībnieku grupām izmantojot ar Kraken2 rīku klasificētus datus.

Figure 14. Differences in bacterial networks between participant groups using data obtained by Kraken2.

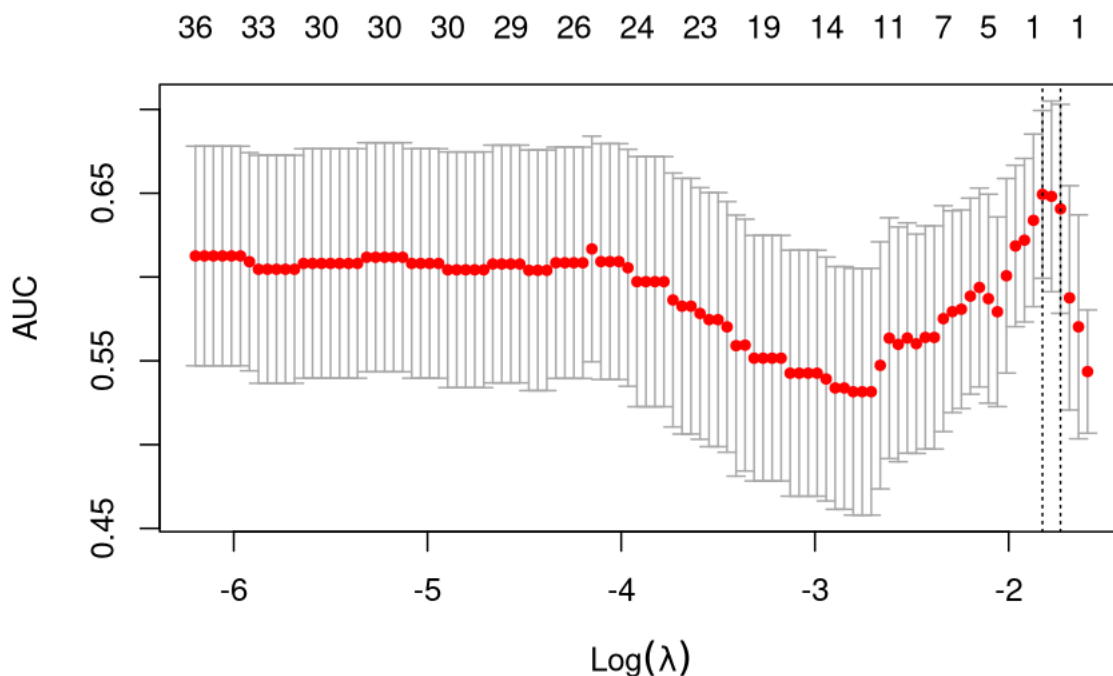
Analoģiski iepriekš aprakstītajiem rezultātiem attiecībā uz diferenciālo tīklu analīzi ar Metaphlan4 klasificētiem datiem, pēc līdzīga principa tika arī analizēti dati, kuri klasificēti ar Kraken2 rīku (14. attēls). Neparametriskā permutācijas analīze neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības tīklojumu raksturojošās metrikās starp dalībnieku grupām ($P > 0.05$). Tālāk, salīdzinot baktēriju klasterizēšanos starp dalībnieku grupām, iegūtie rezultāti liek secināt, ka arī šajos datos baktēriju klasterizēšanās starp grupām nav līdzīga ($ARI = -0.004$, $P = 1$).

Neparametriskā permutācijas analīze tika veikta arī, lai noteiktu atšķirības grafu centralitātes mērījumos starp dalībnieku grupām, kuru dati iegūti ar Kraken2 klasifikācijas rīku. Iegūtie rezultāti, balstoties uz Džakarda indeksu, norāda uz būtiskām atšķirībām starpcentralitātes mērījumos ($Jacc = 0.26$, $P(\leq Jacc) = 0.0078$), būtiskām līdzībām tuvuma centralitātes ($Jacc = 0.52$, $P(\geq Jacc) < 0.000001$), kā arī pakāpju centralitātes mērījumos ($Jacc = 0.46$, $P(\geq Jacc) = 0.000195$). Būtiskas atšķirības tika arī konstatētas salīdzinot katrā grupā identificētos bakteriālos centrmezglus ($Jacc = 0.12$, $P(\leq Jacc) = 0.0199$).

Visi bakteriālie centrmezgli, kuri tika identificēti grupā “zaļie” izmantojot abus taksonomiskās klasifikācijas rīkus, tika apkopoti vienotā tabulā (10. - A pielikums). Salīdzinot bakteriālos centrmezglus no abiem klasifikācijas rīkiem tika konstatēts, ka trīs no tiem – s_GGB2958_SGB3940 (GTDB: s_UMGS973 sp900547295), s_GGB9762_SGB15377 (GTDB: s_SFMI01 sp004556155), s_Pseudoglutamicibacter_SGB14255 (GTDB: s_UMGS1696 sp900554225) pārklājas starp abām datu kopām. Analogiski tika apkopota informācija par bakteriālajiem centrmezgļiem, kuri tika identificēti grupā “sarkanie” (10. - B pielikums) un tādejādi tika identificēti trīs centrmezgli – s_GGB9345_SGB14311 (GTDB: s_SFEL01 sp004557245), s_GGB2958_SGB3940 (GTDB: s_UMGS973 sp900547295), s_GGB9261_SGB14209 (GTDB: s_CAG-448 sp003150135), kuri pārklājas starp Metaphlan4 un Kraken2 datu kopām.

3.6. Individu grupas paredzēšana balstoties uz bakteriālajiem centrmezgļiem

Pētījuma pēdējā etapā tika izvērtēta iespēja iegūto informāciju par identificēto bakteriālo centrmezglu relatīvo izplatību izmantot kā rādītāju, lai spētu precīzi identificēt atbilstošo dalībnieka grupu, kurā indivīds būtu iedalāms, balstoties uz tā atbilstību uztura rekomendācijām. Sākotnēji paredzēšanas precizitāte tika noteikta datu kopai, kura iegūta izmantojot Metaphlan4 taksonomiskās klasifikācijas rīku (15. attēls). Analīzes gaitā iegūtie

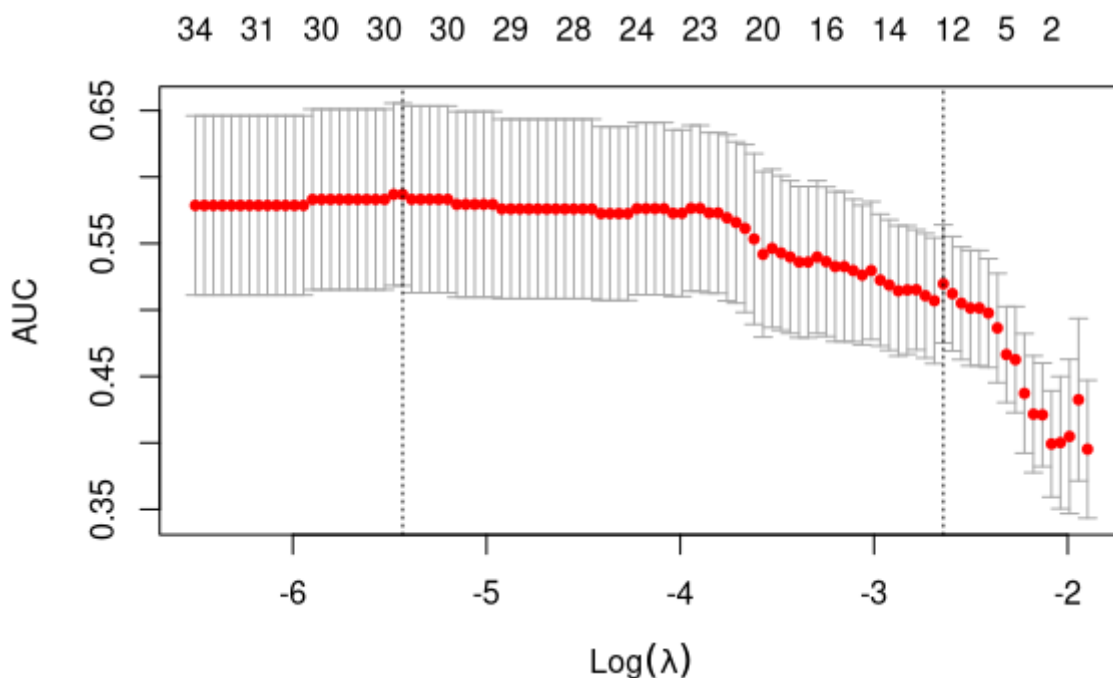


15. attēls. Grupu paredzēšanas precizitāte (AUC) izmantojot centrmezglu relatīvo izplatību ar Metaphlan4 klasificētiem datiem. $\text{Log}(\lambda)$ – regularizācijas parametrs.

Figure 15. Prediction accuracy (AUC) of group based on the relative abundance of hubs of data classified using Metaphlan4. $\text{Log}(\lambda)$ – penalization parameter.

rezultāti norādīja uz vāju precizitāti dalībnieku grupu paredzēšanai izmantojot ar Metahplan4 klasifikācijas rīku noteikto bakteriālo centrmezglu relatīvo izplatību ($AUC_{\text{mediāna}} = 0.52$, 95% CI = [0.36, 0.67]).

Pēc identiska principa tika izvērtēta spēja precīzi noteikt dalībnieka grupu ņemot vērā informāciju par bakteriālajiem centrmezgliem datiem, kuri tika iegūti izmantojot klasifikācijas



16. attēls. Dalībnieku grupas paredzēšanas precizitāte (AUC) balstoties uz centrmezglu relatīvo izplatību ar Kraken2 rīku klasificētiem datiem. $\text{Log}(\lambda)$ – regularizācijas parametrs.

Figure 16. Prediction accuracy (AUC) of group based on the relative abundance of hubs of data classified using Kraken2. $\text{Log}(\lambda)$ – penalization parameter.

rīku Kraken2 (16. attēls). Tomēr arī šajā datu kopā iegūtie rezultāti norādīja uz zemu precizitāti dalībnieku grupu paredzēšanai izmantojot ar Kraken2 klasifikāciju iegūto bakteriālo centrmezglu relatīvo izplatību ($AUC_{\text{mediāna}} = 0.5$, 95% CI = [0.37, 0.66]).

4. DISKUSIJA

4.1. Motivācija

Pēdējo gadu laikā zarnu mikrobioma pētījumi ir kļuvuši īpaši populāri kā iespējama alternatīva klasiskajiem cilvēka genoma pētījumiem, kā arī tā ir finansiāli pieejamāka metode, kas ļauj personalizētā veidā pētīt cilvēka organismu. Uzturs kā faktors, kas nosaka zarnu mikrobioma struktūru bija pašsaprotams arī pirms “metagenomikas ēras” (Gibson, 1999), savukārt līdz ar Cilvēka Mikrobioma Projekta – pirmā ar mikrobioma datiem saistītā projekta noslēgšanos (Turnbaugh et al., 2007), mikrobioma pētījumi ātri kļuva par potenciālo uzturzinātnes jomas panaceju. Diemžēl tam sekojošajos pilotpētījumos, kuros tika meklēta saistība starp “uzturu” un “zarnu mikrobiomu”, ko pavadīja tieksme ātri nopublicēt pozitīvus rezultātus noveda pie vairākiem aplamiem secinājumiem. Kā piemērs ir slavenais raksts ar teoriju par enterotipiem – pilotpētījumā iekļaujot nedaudz vairāk nekā 30 dalībniekus, autori secināja, ka pēc zarnu mikrobioma kompozīcijas cilvēki var tikt iedalīti noteiktās grupās (Wu et al., 2011). Savukārt, neskatoties uz vairākiem kritiskiem apskatiem (Cheng and Ning, 2019), mūsdienās tā joprojām tiek uzskatīta par izmantojamu, kas, kopā ar citiem līdzīgiem labi citētiem rakstiem, traucē nozares turpmākai attīstībai.

Par iemeslu tam ir nestandardizētas metodes, kas tika tolaik, kā arī tiek joprojām izmantotas gan uzturzinātnes, gan metagenomikas jomā. Savukārt, šīs nozares apvienojot, veidojas situācija, kad izmantotās metodes paliek par “nestandardizētām kvadrātā”, kas rezultējas ar ļoti daudzveidīgām, līdz pat unikāla dizaina zinātniskām publikācijām ar savstarpēji grūti salīdzināmiem rezultātiem. Metagenomikas nozarē problēma ar nestandardizētām metodēm agrāk vai vēlāk tiks atrisināta pateicoties:

- a) sekvencēšanas izmaksām, kas laika gaitā kļūst arvien zemākas;
- b) automatizējot DNS bibliotēku gatavošanu, procesā iesaistot arvien vairāk robotizētu sistēmu;
- c) iegūto rezultātu iespējama reproducēšana pateicoties biobanku darbībai, lai nepieciešamības gadījumā veiktu atkārtotu izmantotā parauga analīzi;
- d) dažādu ražotāju izstrādāto sekvencēšanas tehnoloģiju stabilitātei, iepriekš nosekvencētus paraugus ir iespējams pāranalizēt ar jaunākajiem rīkiem un datubāzēm, kas, pateicoties optimizētām bioinformātikas darbplūsmām un tajos izmantotiem algoritmiem, arī, agrāk vai vēlāk tiks automatizēti.

Pavisam atšķirīga situācija ir uzturzinātnes jomā – datu ievākšanai gandrīz ekskluzīvi tiek izmantotas pārtikas biežuma vai 24-stundu atcerēšanās anketas – metodes, kas neprasa daudz iesaistes ne aptaujājama personai ne aptaujātājam, un, kas neprasa arī laiku sniegtās

informācijas turpmākai analīzei. Savukārt, zelta standarta metode uztura novērtēšanai – UD tiek izmantota salīdzinoši reti, jo uzņemto produktu ziņošana prasa vairākas dienas, procesā bieži zūd motivācija un rezultātā krītas sniegtās informācijas kvalitāte, kā arī iegūtās informācijas analīze prasa milzīgus resursus. Tomēr arī tā nav galvenā problēma, jo vairāk vai mazāk tā var tikt atrisināta ieguldot vairāk resursus, kā arī aktīvi tiek attīstītas mašīnredzes metodes, kas ļauj ar pārtikas produktiem uzņemto uzturvērtību analizēt pēc fotogrāfijām (Ma et al., 2023; Thames et al., 2021), vai rakstiski ziņotu informāciju par uzturu analizēt izmantojot teksta atpazīšanu (Choi et al., 2022).

Par galveno problēmu uzturzinātnes jomā var uzskatīt uztura analīzē izmantojamās pieejas. Dažus no redukcionistiskās pieejas trūkumiem, kuri tika arī atspoguļoti literatūras apskatā, daļēji tiek mēģināts risināt, uztura datus, līdzīgi kā mikrobioma datus, analizējot kā kompozicionālas datu kopas – veicot to transformāciju logaritmiskajā skalā un risinot arī tiem aktuālo “nulļu” problēmu (Solans et al., 2019). Tomēr tas vienalga nerisina problēmu ar uztura fragmentētību atsevišķās pozīcijās. Holistiskās pieejas pielietošana, ar rezultātā intuitīvi izrietošiem secinājumiem, var likties uztura datu analīzei atbilstošāka pieeja. Tomēr vispārināti, šie secinājumi nav nekas cits kā “kvalitatīvs uzturs pozitīvi ietekmē cilvēka veselību”. Tai trūkst kvantitātes, rezultātā arī mehānismu, un pieturoties pie šādas pieejas, uztura jomai nebūs iespējas attīstīties personalizētas medicīnas virzienā, kura, balstoties uz mašīnmācīšanās algoritmiem, savā pamatā izmanto dažādus kvantitatīvos faktoros.

4.2. Darba mērķi un uzdevumi

Galvenais darba mērķis bija pārvarēt uztura analīzē izmantoto redukcionistiskās un holistiskās pieejas trūkumus. Kā problēmas risinājums darbā tiek prezentēta pieeja, kas, savstarpēji apvienojot dažādu starptautisko institūciju rekomendācijas un vadlīnijas, balstās uz uzņemto pret ieteicamo uzturvielu attiecību aprēķināšanu sešām dažādām produktu grupām.

4.2.1. Uztura datubāze

Prezentētais dizains pamatā ir cieši saistīts ar uztura datubāzi, it īpaši tās struktūru. Veicot uztura datubāzes izveidošanu LMP vajadzībām, viena no būtiskākām problēmām bija pārtikas produktu klasifikācija. Problēma ir specifiska, jo datubāze pati par sevi ir nepieciešama tikai gadījumos, kad uztura datu ievākšanai tiek izmantotas UD, tāpēc parasti akcents uz šo problēmu netiek likts dēļ tās neaktualitātes. Tomēr tā ir būtiska, jo uzturvielu fizikāli-ķīmiskās atšķirības starp produktu grupām ietekmē tālāku uzturvielu gremošanu, to uzsūkšanos, kā arī to ietekmi uz dažādiem fizioloģiskiem procesiem. Tikpat liela nozīme pārtikas produktu klasifikācijai ir nutri-metagenomikas jomā, jo gremošanas ātrums teorētiski nosaka sagremojamo uzturvielu daudzumu, kas sasniedz resnās zarnas, tādejādi ietekmējot arī zarnu mikrobiomu, tāpēc,

veidojot datubāzi, mērķis bija iedalīt pārtikas produktus dažādās grupās. Uztura datubāžu standartizācijas problēma Eiropā pirmoreiz tika aktualizēta 2011. gadā no EFSA puses, kā iespējamo risinājumu piedāvājot FoodEx2 sistēmu, kurā pārtikas produktus tika rekomendēts iedalīt 20 kategorijās (EFSA, 2011b). Nākamajā, papildinātajā versijā, kas tika prezentēta 2015. gadā, akcents tika likts arī uz produktu pagatavošanas veidu (EFSA, 2017b). Vēlāk izstrādātā klasifikācijas sistēma GIFT tika prezentēta jau no pasaules līmeņa institūciju puses - FAO un WHO, tādēļ ir uzskatāma par standartu, kas vairāk vai mazāk atbilst dažādu pasaules valstu vajadzībām. Šī iemesla dēļ GIFT tika izmantota arī šajā darbā izstrādātās uztura datubāzes standartizācijai (FAO/WHO, 2017).

LMP projekta ietvaros informācija par dalībnieku uztura paradumiem tika ievākta izmantojot šim mērķim izstrādātās UD. Ar to palīdzību tika iegūta informācija par trīs secīgu dienu garumā uzturā lietotiem produktiem, kas, kopā ar nekontrolētu dizainu, ļāva vairāk vai mazāk izprast katra dalībnieka reprezentējošos uztura paradumus. Rezultātā, pārtikas produkti, kuri tika pieminēti UD, tika iekļauti šī darba ietvaros izstrādātajā datubāzē, un katrs no šiem produktiem tika iedalīts tam atbilstošajā kategorijā, vienlaicīgi piešķirot arī unikālo kodu. Standartizētā uztura datubāze, kas rezultātā tika izmantota UD analīzē, ļāva aprēķināt ne tikai kopējo uzņemto uzturvielu daudzumu, bet arī atpazīt katras UD ziņotās pārtikas vienības piederību kādai no 19 produktu grupām. Tādējādi, apkopojot informāciju par dalībnieku uztura paradumiem, UD iekļautās informācijas apkopošana ļāva noteikt arī uzņemto uzturvielu izcelsmi.

4.2.2. Uztura rekomendāciju references izveidošana

Cita problēma, kas tika risināta šajā darbā bija uztura rekomendāciju references izveidošana. Zinātniskajos rakstos iegūtie rezultāti reti tiek salīdzināti ar aktuālām vadlīnijām, kas padara iegūtos rezultātus grūti salīdzināmus. Pēc UD norādītās informācijas kvantificēšanas, tā tika salīdzināta ar referenci atbilstoši metožu sadaļā aprakstītajām metodēm. Par pamatu šajā gadījumā tika ņemtas sešas pārtikas produktu grupas, kuras nāk no 2010. gadā publicētajām Malaizijas uztura vadlīnijām. Šīs produktu grupas bieži, vispārinātā veidā, tiek pieminētas arī klīniskajā praksē, sniedzot ar uzturu saistītas rekomendācijas, tomēr tās aizvien nav kvantificētas un tādējādi ir arī grūti salīdzināmas starp dažādiem pētījumiem. Savukārt, šī darba ietvaros, atbilstoši Malaizijas uztura vadlīnijām, katrai no produktu grupām tika noteikts porciju skaits, kuru ir rekomendēts ikdienā uzņemt uzturā, pārrēķinot uz 2 000 kkal, kā arī vienas porcijas lielums, kas ir izteikts uzturvielās. Kopumā vadlīnijās piedāvātais uztura dizains kā reference tika adaptēta bez izmaiņām. Vienīgais izņēmums bija graudaugu produkti, kur Malaizijas vadlīnijās šim mērķim tiek izmantots kopējais ogļhidrātu daudzums, toties šajā

darbā – kopējais cietes daudzums. Nozīme tam ir gadījumos, kad rodas nepieciešamība klasificēt kādu pie graudaugu grupas piederošu pārtikas produktu ar pievienotu cukuru, piemēram, “Kellogs” kukurūzas pārslas. Pieturoties pie Malaizijas vadlīnijās piedāvātās references, produktā esošais pievienotais cukurs tiktu ieskaitīts uzņemtajās graudaugu porcijās, savukārt izmantojot darbā piedāvāto referenci, kas pamatojas uz cietes patēriņu, cukurs aprēķinos netiek ņemts vērā. Rezultātā uzņemto, referencei atbilstošo, produktu grupu porciju skaits tika izmantots attiecību aprēķināšanai, lai salīdzinātu porciju skaitu ar kādu no sešām pārtikas produktu referencēm.

4.2.3. References teorētiskais pamatojums

Darbā izmantotā pārtikas produktu reference tika validēta teorētiskā līmenī - tika aprēķināts kopējais uzturvielu daudzums, ko attiecīgais cilvēks uzņemtu, ja savā uzturā lietotu visas produktu grupas tieši tādā daudzumā, kādā tas ir noteikts Malaizijas uztura vadlīnijās. Sākotnēji, izmantojot apkopoto informāciju par pārtikas produktu sastāvu, kas uztura datubāzē atradās konkrētajā produkta grupā, tika aprēķināta katras uzturvielas mediāna (5. pielikums). Šādi tika gūts priekšstats par vidējo sastāvu, kas ir raksturīgs visiem pārtikas produktiem kopā attiecīgajā produkta grupā, pārrēķinot uz 100 gramiem produkta. Nākamajā posmā katrai produktu grupai no izmantotās references tika aprēķināts kopējais uzturvielu daudzums, kas tika izmantots, lai definētu vienu porciju katrai no sešām produktu grupām (ciete – graudaugu grupai, olbaltumvielas – pārējām grupām), ja attiecīgais cilvēks pilnībā pieturētos pie references. Rezultējošais daudzums, kas tika iegūts katrai produktu grupai tika sadalīts ar attiecīgo uzturvielu daudzumu, kas tika aprēķināts iepriekšējā posmā, lai aprēķinātu koeficientus (6. pielikums). Iegūtie koeficienti turpmāk tika izmantoti, lai aprēķinātu kopējo uzturvielu daudzumu, ko cilvēks uzņemtu ar katru produkta grupu, pieturoties pie piedāvātās uztura references (7. pielikums). Pētījuma gaitā tika secināts, ka pieturoties pie darbā izmantotās pārtikas produktu references ir iespējams sasniegt ~96% no 2 000 kkal, tajā pašā laikā nosedzot organisma vajadzības pēc ogļhidrātiem, olbaltumvielām un taukiem atbilstoši EFSA rekomendācijām.

4.2.4. Uztura rekomendāciju references pielāgošana antropometriskiem rādītājiem

Uzturzinātnes nozarei, it īpaši nutri-metagenomikas jomai, raksturīga problēma ir, kad ievāktie uztura dati netiek pielīdzināti tādiem faktoriem, kā piemēram, cilvēka organismam ieteicamajam kaloriju daudzumam, kas ir diezgan viegli aprēķināms, izmantojot pētījumā ievāktos antropometriskos datus. No vienas puses tas ir izskaidrojams ar to, ka ir plaši izplatīts kļūdainais uzskats, ka zarnu mikrobioms piedalās tikai šķiedrvielu metabolismā, tāpēc nutri-metagenomikas pētījumiem nav jābūt sasaistītiem ar rādītājiem, kas tiešā veidā uz tiem

neattiecās. Bet problēma ir būtiska, jo katrā atsevišķajā gadījumā uzņemtais kaloriju daudzums var būt augstāks vai zemāks nekā nepieciešamais, tādējādi interesējošo mainīgo, piemēram, zarnu mikrobioma struktūru var ietekmēt gan tieši, piemēram, nosakot zarnu traktā baktērijām pieejamo substrāta daudzumu, gan netieši, piemēram, caur mucīna gēnu ekspresiju (Gaudier et al., 2004), vai arī ietekmējot zarnu peristaltiku (Shin et al., 2013). Šādi var tikt atrisināta arī cita, nutri-metagenomikas nozarei raksturīga problēma, kad, izmantoto pieeju trūkumu dēļ, zarnu mikrobioms netiek apskatīts cilvēka uztura rekomendāciju kontekstā - akcents netiek likts uz paša cilvēka vajadzībām. Tas ir būtisks trūkums, jo uzturzinātnes nozarei attīstoties personalizētajā virzienā un attīstoties rekomendācijām, kuras būtu attiecināmas tieši uz mikrobiomu, tām nebūtu jābūt atdalītam no cilvēka organisma, bet gan būtu jābūt vienotiem, vienlaicīgi nodrošinot nepieciešamas uzturvielas gan pašam cilvēkam, gan zarnu traktā mītošiem mikroorganismiem. Tam varētu būt arī pielietojums, spriežot par konkrētā UD ziņotās informācijas kvalitāti, tādējādi attiecīgo paraugu izņemot no statistikas. Rezultātā šajā pētījumā izmantotā pārtikas produktu grupu reference, kas ir rekomendēta uz 2 000 kkal, katram dalībniekam tika pielāgota individuāli, kas tika aprēķināts izmantojot atjaunoto Harisa-Benedikta vienādojumu (Pavlidou et al., 2023), kura aprēķina process detalizētāk ir aprakstīts metožu sadaļā.

4.3. Dizaina validācija praksē

Aprakstītais dizains tika validēts arī praksē. Ar k -vidējo mašīnmācīšanās algoritmu LMP dalībnieki tika iedalīti divās grupās, izejot no to uztura paradumu savstarpējas līdzības, kas tika noteikts kā sešu pārtikas produktu grupu attiecības starp uzņemto un ieteicamo daudzumu. Katras produktu grupas svars tika normalizēts, tādējādi tika sasniegta visu faktoru savstarpējā salīdzināmība, kas nozīmē, ka, piemēram, uzņemt piecas dārzeņu un augļu porcijas statistiski ir vienlīdz svarīgi kā uzņemt sešas graudaugu porcijas, pārrēķinot uz 2 000 kkal. Produktu grupu attiecību normalizācija tika veikta izmantojot z -novērtējuma un *min-max* metodes, kā rezultātā to ietekme uz dalībnieku klasterizēšanos grupās nebija atšķirīga, spriežot pēc to identiskā skaita katrā no grupām, neatkarīgi no izvēlētās normalizācijas metodes. Tam sekoja savstarpējā grupu salīdzināšana pēc to raksturojošiem rādītājiem, uztura paradumiem un mikrobioma rādītājiem.

4.3.1. Individu grupēšana balstoties uz uztura datiem

Veicot divu jauniegūto grupu salīdzināšanu pēc tajās iekļauto dalībnieku raksturojošiem rādītājiem, tika konstatēts, ka, salīdzinot KMI , vecumu, vīriešu un sievietes proporciju katrā grupā, izglītības līmeni, kā arī fiziskās aktivitātes līmeni – neviens no šiem parametriem būtiski neatšķīrās starp grupām.

Tālāk tika veikta uztura paradumu salīdzināšana. Dalībnieku uzturam no pirmās grupas bija raksturīga augu izcelsmes produktu uzņemšana, savukārt otrajā – 1.5 reizes augstāka gaļas un olu grupas produktu uzņemšana, salīdzinot ar ieteicamo. Bet neskatoties uz to, ka graudaugu uzņemšana bija būtiski augstāka pirmajā grupā, abās grupās tā vidēji bija zemāka, līdz pat pusei no ieteicamā. Salīdzinot uzņemto makroerģisko uzturvielu patēriņu, “zaļajā” grupā tika novērota būtiski augstāka uzņemto kaloriju proporcija atkarībā no ieteicamās, kas pamatā balstījās uz kopējo uzņemto oglekļahidrātu, tajā skaitā cukura, daudzuma, kas ir īpaši interesanti, jo šādu sakarību nav iespējams novērot pētījumos, kur uztura datu analīzei tiek izmantota holistiskā pieeja. Iespējams tas norāda arī uz to, ka realitātē paaugstinātai cukura uzņemšanai var būt globāla tendence, kas skar lielāko cilvēku daļu neatkarīgi no to uztura paradumu kvalitātes. Neskatoties uz to, ka olbaltumvielu uzņemšana bija līdzīga, tomēr analizējot uzņemtās pārtikas produktu grupas, olbaltumvielu avoti bija atšķirīgi. Pirmajai grupai bija raksturīgs arī aptuveni divas reizes augstāks šķiedrvielu patēriņš, kas tika izteikts gan absolūtajās vērtībās, gan arī kā proporcija.

Iegūtie rezultāti ļāva secināt, ka uztura paradumi bija vienīgais atšķirīgais faktors starp grupām. Apkopojot konstatētās uztura paradumu atšķirības, dalībniekus no pirmās grupas, jeb t.s. “zaļos” var raksturot ar “apdomīgu” ēšanu, savukārt otru, jeb t.s. “sarkanos” – kā grupu ar Rietumu tipam līdzīgiem uztura paradumiem. Iepriekš līdzīga indivīdu klasterizēšanās, kur dalībnieku uztura paradumi tika novērtēti izmantojot pārtikas biežuma anketas, tika novērota arī citos pētījumos. Vienā gadījumā iegūtā informācija tika analizēta izmantojot faktoru analīzi (Hu et al., 1999), savukārt citā – izmantojot k -vidējo metodi (Stricker et al., 2013), kas tika izmantots arī šajā darbā.

4.3.2. Zarnu mikrobioma rādītāju salīdzināšana starp grupām

Zarnu mikrobioma rādītāju salīdzināšana starp grupām tika veikta izmantojot klasifikācijas rezultātus, kuri tika iegūti ar diviem metagenoma datu klasifikācijas rīkiem – Kraken2 un Metaphlan4. Atšķirībā no citiem klasifikācijas rīkiem, kas tiek izmantoti šim mērķim, tie atšķiras ar zemāku viltus pozitīvu rezultātu ziņošanu (Ye et al., 2019), tātad var tikt uzskatīti par vislabākajiem pieejamajiem analīzes rīkiem. Līdz ar to, šī darba sekundārais mērķis bija arī salīdzināt iegūto klasifikācijas rezultātu savstarpējās atšķirības.

Alfa daudzveidības indeksu vērtības sakrita starp datu kopām, kuras tika iegūtas ar Kraken2 un Metaphlan4 rīkiem. Atšķirības starp dalībnieku grupām netika konstatētas ne Šenona, ne arī Simpsona diversitātes indeksiem. Dēļ unikālā dizaina, kurš tiek prezentēts šajā darbā, rezultāti ir grūti salīdzināmi ar citu pētījumu rezultātiem. Izvērtējot, piemēram, vidēji uzņemtā šķiedrvielu daudzuma atšķirības starp grupām, literatūrā pieejamie redukcjonistiskie

raksti par šo tēmu ir pretrunīgi. Savukārt, ja tos salīdzina ar rezultātiem no holistiskās pieejas pētījumiem par šo tēmu, tad rezultāti drīzāk nesakrīt, jo ar augu izcelsmes produktiem bagāts uzturs bieži asociējas ar augstāku alfa daudzveidību. Izvērtējot iespējamās mikrobioma sastāva atšķirības starp dalībnieku grupām, ar abiem rīkiem tika iegūti līdzīgi rezultāti, neatkarīgi no izmantotajām, savstarpēji konfliktējošām metodēm. Visos gadījumos starp grupām bija novērojamas būtiskas atšķirības mikrobioma sastāvā. Tomēr šīs atšķirības nebija spēcīgas, uz ko norāda salīdzinoši vājā grupu diferenciacija PCA un PCoA attēlos, kā arī zemais efekta lielums, kas daļēji izskaidro arī nebūtiskas atšķirības alfa daudzveidībā. Par iemeslu tieši šādam rezultātam varētu būt tas, ka holistiskajos pētījumos parasti tiek salīdzinātas atšķirīgas pētījumu kohortas, tātad iespējamās atšķirības starp grupām ir intuitīvi sagaidāmas, savukārt šajā darbā dalībnieki bija no vienas kohortas. No otras puses, neskatoties uz to, ka uzturs tiek uzskatīts par visnozīmīgāko faktoru, tam var arī nebūt tik lielas ietekmes pie situācijas, kad visi citi rādītāji nav būtiski atšķirīgi, norādot uz to, ka abu grupu dalībnieki ir vispārēji veseli, un līdz ar to nav mikrobioma daudzveidību negatīvi ietekmējošu faktoru. Iespējams, ka otrajā grupā uztura paradumi nebija tik drastiski, lai būtiski negatīvi ietekmētu mikrobioma bagātību. Jāatzīst, ka šādu rezultātu var ietekmēt arī paraugos reti sastopamo mikroorganismu filtrācija, kas tika veikta šajā darbā, un tam var būt tieša ietekme uz mikrobioma paraugu iekšējo bagātību, rezultātā arī alfa daudzveidību, savukārt ne tik būtiska uz beta daudzveidību.

Arī diferenciālā tīklu analīze norādīja uz to, ka iegūtie dati no abiem klasifikācijas rīkiem savstarpēji būtiski neatšķiras, izņemot pakāpju centralitātes mērījumu, kur būtiskas atšķirības starp grupām tika novērotas analizējot Kraken2 datus, bet ar Metaphlan4 datiem šīs atšķirības bija tuvu būtiskuma sliekšnim ($p = 0.06$). Salīdzinot iegūtos mikroorganismu klasterus, katrā no dalībnieku grupām tika konstatētas atšķirības to sastāvā. Šīs atšķirības var arī labi vizuāli novērot (13. attēls), kur diferenciālā tīklu analīze veikta ar Metaphlan4 rīku klasificētiem datiem, savukārt, vājākā apmērā šīs atšķirības var novērot ar Kraken2 klasificēto datu diferenciālajā tīklu analīzē (14. attēls). Šādas vizuālas atšķirības datiem, kuri iegūti ar dažādiem rīkiem norāda arī uz klasifikācijas rezultātu atšķirībām, ko apstiprina arī gamma-daudzveidības rezultāts, jeb kopējais atšķirīgo sugu skaits, kas palika pēc reti sastopamo mikroorganismu filtrācijas (3. – A, B pielikumi). Šādi novērojumi ir īpaši interesanti, jo veicot statistiskos testus, rezultāti gandrīz visos gadījumos bija līdzīgi. Tomēr tie ir grūti interpretējami, jo literatūrā pieejamajos nutri-metagenomikas pētījumos nav veiktas līdzīgas analīzes, kur tiktu salīdzinātas grupas izejot no to uztura paradumu savstarpējām atšķirībām. Atšķirības var daļēji tikt izskaidrotas ar literatūras apskatā pieminēto BQH hipotēzi – mikroorganismu klastera sazarotība indivīdu grupā, kurai raksturīga Rietumu tipa diēta, var tikt sasaistīta ar zemāku šķiedrvielu patēriņu uzturā šajā grupā, kas rezultātā, atbilstoši hipotēzei, noved pie ciešākas

baktēriju mijiedarbības, kas ir nepieciešama to izdzīvošanai. Savukārt, grupā ar augstu augu izcelsmes produktu patēriņu tiek uzņemti daudzveidīgi substrāti, tādējādi nodrošinot to, ka baktērijas kopienās var pastāvēt relatīvi neatkarīgi no citām baktērijām (Hesse, 2024; Morris et al., 2012).

Apkopojot veikto analīžu rezultātus var secināt, ka starp pētījuma dalībnieku grupām pastāv atšķirības mikrobioma rādītājos, uz ko norāda atšķirības gan mikrobioma sastāvā, gan reprezentējošo mikroorganismu savstarpējā klasterēšanās. Šīs atšķirības varētu būt pastāvīgas, jo netiek novērotas būtiskas atšķirības mikrobioma bagātībā un tā vienmērīgumā starp dalībnieku grupām. Atšķirīga klasterēšanās var būt arī saistīta ar atšķirībām mikrobioma sastāvā, tomēr šo aspektu būtu nepieciešams analizēt atsevišķi, padziļināti apskatot klasterus veidojošās baktēriju sugas un papildus veicot arī diferenciālās izplatības analīzi.

4.3.3. Mašīnmācīšanās pielietojums grupas paredzēšanai

Salīdzinot izveidoto baktēriju tīklu raksturojošus mērus, starp dalībnieku grupām tika konstatētas būtiskas atšķirības arī bakteriālajos centrmezglos. Kopumā centrmezglus galvenokārt reprezentēja *Firmicutes* dzimtas baktērijas, tomēr lielākā daļa no šīs dzimtas baktērijām nav kultivētas un līdz ar to nav pieejams šo baktēriju references genoms, kas ļautu veikt anotāciju un spriest par to funkcionālo lomu tīklos. Tāpēc šajā darbā akcents tika likts nevis uz centrmezglu atšķirībām starp diviem klasteriem, bet uz centrmezgliem, kas pārklājas starp abiem klasifikācijas rīku rezultātiem katrai grupai (10. - A, B pielikumi). Šajā gadījumā salīdzināšanu apgrūtināja tas, ka rīki balstās uz atšķirīgām references datubāzēm un tādējādi atšķiras arī klasificētās baktērijas. Problēma šajā gadījumā tika risināta abiem klasifikācijas rīkiem izmantojot GTDB datubāzi (Chaumeil et al., 2020). Apskatot tās baktērijas, kuras sakrita starp abām datu kopām; tās visas pieder *Clostridia* klasei, kas iepriekš tika ziņota kā baktēriju klase, kura spēlē dominējošo lomu slāpekļa krusteniskajā barošanā, tādējādi liecinot par šo baktēriju augsto nozīmi olbaltumvielu metabolismā, kā arī biomasas uzturēšanā. Šis novērojums ir īpaši interesants, jo uzņemtais olbaltumvielu daudzums starp grupām nebija būtiski atšķirīgs un abās grupās tas bija atbilstošs EFSA rekomendācijām ~ 15% no IKD (Fischbach and Sonnenburg, 2011).

Atbilstoši zinātniskajai literatūrai, mikrobiālie centrmezgli spēlē kādu būtisku lomu grafos jeb mikrobiālajos tīklos, tāpēc pēdējais izvirzītais jautājums šajā darbā bija: “Vai ir iespējams izmantot informāciju par indivīda paraugā esošo bakteriālo centrmezglu relatīvo izplatību, lai ticami iedalītu indivīdu noteiktā uztura paradumu grupā?”. Tomēr, izmantojot LASSO algoritmu tika konstatēts, ka mikrobioma dati ir vājš marķieris, lai paredzētu dalībnieka grupu atkarībā no indivīdam raksturīgiem uztura paradumiem. Šāds iznākums iespējams radies

dēļ tā, ka neskatoties uz baktēriju “centrālo lomu”, tās iespējams netika pārstāvētas visās attiecīgās dalībnieku grupas paraugos un, visticamāk, arī nebija diferenciāli atšķirīgas starp dalībnieku grupām. Tomēr, šo hipotēzi būtu nepieciešams pārbaudīt izmantojot diferenciālas izplatības analīzi.

4.4. Izvēlēta dizaina trūkumi

Neskatoties uz apjomīgajiem metodoloģiskajiem resursiem, kas tika ieguldīti šī darba tapšanā, darbam ir arī savi trūkumi. Pašreizējā pētījumā tika iesaistīts salīdzinoši neliels dalībnieku skaits, kas varētu būt nepietiekams nekontrolēta pētījuma tipam. Lai to daļēji risinātu, metagenoma paraugu taksonomiskai klasifikācijai tika izmantoti divi dažādi rīki, lai paaugstinātu rezultātu reproducējamību. Papildus tam, prezentētā dizaina kvalitāte pagaidām neņem vērā tādus uztura kvalitātes rādītājus, kā produktu termiskā apstrāde, vai pārtikas produktu daudzveidība. Tāpat, spriežot pēc pielikumos apkopotās informācijas (8. – A, B pielikumi), liels uzņemto kaloriju daudzums kas nāk no citām GIFT produktu grupām (ir iedalītas vienā kolonā ar violetu krāsu), pagaidām netiek izmantotas statistikā.

Trīs dienu UD var nerepresentēt dalībnieku uztura paradumus par ilgāku laika periodu, bet no otras puses, dalībnieki bieži vien nav arī motivēti veikt uztura ziņošanu ilgāku laika periodu. Analizējot dalībnieku UD datus, tika novērots, ka svērtās UD sastādīja tikai aptuveni 30% no kopējā UD skaita. Attiecīgi lielākā daļa pētījuma dalībnieku uztura datus ziņoja izmantojot t.s. “rokas” metodi, tomēr katra dalībnieka rokas lielums var atšķirties, kas rezultātā var ietekmēt arī iegūstamos datus. Jāņem gan vērā, ka UD sniegtas informācijas interpretācijā nepiedalījās citi cilvēki, līdz ar to visa sniegtā informācija tika līdzīgi interpretēta.

4.5. Turpmākās perspektīvas

Šī darba ietvaros veikto pētījumu ir iespējams turpināt paplašinot UD un to digitalizējot, izmantojot tam atbilstošu programmēšanas valodu, ar mērķi nepieciešamības gadījumā apkopot informāciju par dalībnieku uztura paradumiem arī zemākajos uztura klasifikācijas līmeņos. Šis pētījuma dizains ir potenciāli izmantojams arī datiem, kuri ir iegūti nekontrolēta longitudināla pētījuma ietvaros. Papildus tam, šajā darbā apkopotos datus ir iespējams apvienot ar citiem *-omikas* datiem, piemēram, apskatot uztura paradumu saistību ar mikrobioma rādītājiem, iekļaujot arī informāciju par genotipiem, it īpaši ar uzsvaru uz gēniem, kas ir iesaistīti uzturvielu gremošanā. Kā arī, šajā darbā prezentēto dizainu ir iespējams salīdzinoši viegli organizēt un pārnest, piemēram, līdzīgi kā tas ir “DietR” R paketes gadījumā, ar kuru vienkāršotā veidā var analizēt ar Amerikas Sirds Asociācijas uztura aptaujām iegūstamos datus (Sadohara et al., 2024). Visbeidzot, dalībnieku klasterizācijai var tikt pielietotas arī citas pieejamās metodes, lai uzlabotu indivīdu diferenciaciju pēc to uztura paradumiem.

5. SECINĀJUMI

- Uzņemot dažādas produktu grupas atbilstoši darbā nodefinētai referencei ir iespējams sasniegt ~96% no 2 000 kkal, tajā paša laikā nosedzot organisma vajadzības pēc ogļhidrātiem, olbaltumvielām un taukiem, kas ir saskaņā ar EFSA rekomendācijām.
- Darbā piedāvāta pieeja uztura datu analīzei, kura balstās uz produktu grupu attiecībām, veiksmīgi diferencēja pētījuma dalībniekus pēc to uztura paradumiem.
- Starp uztura grupu pārstāvjiem tika novērotas būtiskas atšķirības mikrobioma sastāvā un to tīklojumā, taču mikrobioma bagātību raksturojošie rādītāji nebija būtiski atšķirīgi starp dalībnieku grupām.
- Bakteriālo centrmezglu relatīva izplatība ir vājš rādītājs dalībnieku uztura kvalitātes paredzēšanai izmantojot uz mašīnmācīšanās balstītu LASSO regresiju.
- Divi biežāk izmantotie metagenoma datu klasifikācijas rīki – Kraken2 un Metaphlan4 – sniedz savstarpēji līdzīgus taksonomiskās klasifikācijas rezultātus.

PATEICĪBAS

Sev...

Darba vadītājam...

Recenzentei...

Latvijas Mikrobioma Projekta dalībniekiem...

Paņemiet sīzge.

;))

6. IZMANTOTĀ LITERATŪRA

- 1) Aburub, A., Fischer, M., Camilleri, M., Semler, J.R., Fadda, H.M., 2018. Comparison of pH and motility of the small intestine of healthy subjects and patients with symptomatic constipation using the wireless motility capsule. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.04.031>
- 2) Ahn, J.S., Lkhagva, E., Jung, S., Kim, H.J., Chung, H.J., Hong, S.T., 2023. Fecal Microbiome Does Not Represent Whole Gut Microbiome. *Cell. Microbiol.* 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/6868417>
- 3) Aitchison, J., 1982. The Statistical Analysis of Compositional Data. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 44, 139–160. <https://doi.org/10.1111/J.2517-6161.1982.TB01195.X>
- 4) Almeida, A., Nayfach, S., Boland, M., Strozzi, F., Beracochea, M., Shi, Z.J., Pollard, K.S., Sakharova, E., Parks, D.H., Hugenholtz, P., Segata, N., Kyrpides, N.C., Finn, R.D., 2020. A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome. *Nat. Biotechnol.* 2020 391 39, 105–114. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0603-3>
- 5) Alt, K.W., Al-Ahmad, A., Woelber, J.P., 2022. Nutrition and Health in Human Evolution–Past to Present. *Nutrients* 14. <https://doi.org/10.3390/NU14173594>
- 6) Alves-Santos, A.M., Sugizaki, C.S.A., Lima, G.C., Naves, M.M.V., 2020. Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review. *J. Funct. Foods* 74, 104169. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2020.104169>
- 7) Ambrosini, G.L., Oddy, W.H., Robinson, M., O’Sullivan, T.A., Hands, B.P., De Klerk, N.H., Silburn, S.R., Zubrick, S.R., Kendall, G.E., Stanley, F.J., Beilin, L.J., 2009. Adolescent dietary patterns are associated with lifestyle and family psycho-social factors. *Public Health Nutr.* 12, 1807–1815. <https://doi.org/10.1017/S1368980008004618>
- 8) Anderson, B.D., Bisanz, J.E., 2023. Challenges and opportunities of strain diversity in gut microbiome research. *Front. Microbiol.* 14, 1117122. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2023.1117122/BIBTEX>
- 9) Anderson, M.J., Ellingsen, K.E., McArdle, B.H., 2006. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecol. Lett.* 9, 683–693. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2006.00926.X>
- 10) Anderson, M.J., Walsh, D.C.I., 2013. PERMANOVA, ANOSIM, and the Mantel test in the face of heterogeneous dispersions: What null hypothesis are you testing? *Ecol. Monogr.* 83, 557–574. <https://doi.org/10.1890/12-2010.1>
- 11) Armet, A.M., Deehan, E.C., O’Sullivan, A.F., Mota, J.F., Field, C.J., Prado, C.M., Lucey, A.J., Walter, J., 2022. Rethinking healthy eating in light of the gut microbiome. *Cell Host Microbe* 30, 764–785. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.04.016>
- 12) Baker, M., Penny, D., 2016. Is there a reproducibility crisis? *Nature* 533, 452–454. <https://doi.org/10.1038/533452A>
- 13) Beaumont, M., Portune, K.J., Steuer, N., Lan, A., Cerrudo, V., Audebert, M., Dumont, F., Mancano, G., Khodorova, N., Andriamihaja, M., Airinei, G., Tomé, D., Benamouzig, R., Davila, A.M., Claus, S.P., Sanz, Y., Blachier, F., 2017. Quantity and source of dietary protein influence metabolite production by gut microbiota and rectal mucosa gene expression: a randomized, parallel, double-blind trial in overweight humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 106, 1005–1019. <https://doi.org/10.3945/AJCN.117.158816>
- 14) Bechthold, A., Boeing, H., Tetens, I., Schwingshackl, L., Nöthlings, U., 2018. Perspective: Food-Based Dietary Guidelines in Europe–Scientific Concepts, Current Status, and Perspectives. *Adv. Nutr.* <https://doi.org/10.1093/advances/nmy033>
- 15) Bellali, S., Lagier, J.C., Million, M., Anani, H., Haddad, G., Francis, R., Kuete Yimagou, E., Khelaifia, S., Levasseur, A., Raoult, D., Bou Khalil, J., 2021. Running after ghosts: are dead bacteria the dark matter of the human gut microbiota? *Gut Microbes* 13, 1–12. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1897208>

- 16) Beule, L., Karlovsky, P., 2020. Improved normalization of species count data in ecology by scaling with ranked subsampling (SRS): Application to microbial communities. *PeerJ* 8. <https://doi.org/10.7717/peerj.9593>
- 17) Biesiekierski, J.R., Jalanka, J., Staudacher, H.M., 2019. Can Gut Microbiota Composition Predict Response to Dietary Treatments? *Nutr.* 2019, Vol. 11, Page 1134–1134. <https://doi.org/10.3390/NU11051134>
- 18) Bisanz, J.E., Upadhyay, V., Turnbaugh, J.A., Ly, K., Correspondence, P.J.T., Turnbaugh, P.J., 2019. Meta-Analysis Reveals Reproducible Gut Microbiome Alterations in Response to a High-Fat Diet. *Cell Host Microbe* 26, 265–272.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.06.013>
- 19) Blakeley-Ruiz, J.A., Bartlett, A., McMillan, A.S., Awan, A., Vanhoy Walsh, M., Meyerhoffer, A.K., Vintila, S., Maier, J., Richie, T., Theriot, C.M., Kleiner, M., 2024. Dietary protein source strongly alters gut microbiota composition and function. *bioRxiv Prepr. Serv. Biol.* <https://doi.org/10.1101/2024.04.04.588169>
- 20) Blanco-Míguez, A., Beghini, F., Cumbo, F., McIver, L.J., Thompson, K.N., Zolfo, M., Manghi, P., Dubois, L., Huang, K.D., Thomas, A.M., Nickols, W.A., Piccinno, G., Piperni, E., Punčochář, M., Valles-Colomer, M., Tett, A., Giordano, F., Davies, R., Wolf, J., Berry, S.E., Spector, T.D., Franzosa, E.A., Pasolli, E., Asnicar, F., Huttenhower, C., Segata, N., 2023. Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn 4. *Nat. Biotechnol.* 2023 4111 41, 1633–1644. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01688-w>
- 21) Boland, M., 2016. Human digestion--a processing perspective. *J. Sci. Food Agric.* 96, 2275–2283. <https://doi.org/10.1002/JSFA.7601>
- 22) Bolotin, E., Hershberg, R., 2017. Horizontally acquired genes are often shared between closely related bacterial species. *Front. Microbiol.* 8, 289194. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.01536/BIBTEX>
- 23) Bolte, L.A., Vich Vila, A., Imhann, F., Collij, V., Gacesa, R., Peters, V., Wijmenga, C., Kurilshikov, A., Campmans-Kuijpers, M.J.E., Fu, J., Dijkstra, G., Zhernakova, A., Weersma, R.K., 2021. Long-term dietary patterns are associated with pro-inflammatory and anti-inflammatory features of the gut microbiome. *Gut* 70, 1287–1298. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2020-322670>
- 24) Bowers, R.M., Clum, A., Tice, H., Lim, J., Singh, K., Ciobanu, D., Ngan, C.Y., Cheng, J.F., Tringe, S.G., Woyke, T., 2015. Impact of library preparation protocols and template quantity on the metagenomic reconstruction of a mock microbial community. *BMC Genomics* 16, 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12864-015-2063-6/FIGURES/5>
- 25) Branca, F., Demaio, A., Udomkesmalee, E., Baker, P., Aguayo, V.M., Barquera, S., Dain, K., Keir, L., Lartey, A., Mugambi, G., Oenema, S., Piwoz, E., Richardson, R., Singh, S., Sullivan, L., Verburg, G., Fracassi, P., Mahy, L., Neufeld, L.M., 2020. A new nutrition manifesto for a new nutrition reality. *Lancet* 395, 8–10. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32690-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32690-X)
- 26) Burggraf, C., Teuber, R., Brosig, S., Meier, T., 2018. Review of a priori dietary quality indices in relation to their construction criteria. *Nutr. Rev.* 76, 747. <https://doi.org/10.1093/NUTRIT/NUY027>
- 27) Burrows, T.L., Ho, Y.Y., Rollo, M.E., Collins, C.E., 2019. Validity of Dietary Assessment Methods When Compared to the Method of Doubly Labeled Water: A Systematic Review in Adults. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 10, 850. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2019.00850/FULL>
- 28) Cahana, I., Iraqi, F.A., 2020. Impact of host genetics on gut microbiome: Take-home lessons from human and mouse studies. *Anim. Model. Exp. Med.* 3, 229–236. <https://doi.org/10.1002/AME2.12134>
- 29) Calatayud, M., Van den Abbeele, P., Ghyselinck, J., Marzorati, M., Rohs, E., Birkett, A., 2021. Comparative Effect of 22 Dietary Sources of Fiber on Gut Microbiota of Healthy Humans in vitro. *Front. Nutr.* 8, 700571. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.700571/BIBTEX>
- 30) Calle, M.L., Pujolassos, M., Susin, A., 2023. coda4microbiome: compositional data analysis for microbiome cross-sectional and longitudinal studies. *BMC Bioinformatics* 24, 1–19. <https://doi.org/10.1186/S12859-023-05205-3/TABLES/3>

- 31) Caminero, A., Guzman, M., Libertucci, J., Lomax, A.E., 2023. The emerging roles of bacterial proteases in intestinal diseases. *Gut Microbes* 15. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2181922>
- 32) Cantu-Jungles, T.M., Hamaker, B.R., 2023. Tuning Expectations to Reality: Don't Expect Increased Gut Microbiota Diversity with Dietary Fiber. *J. Nutr.* 153, 3156–3163. <https://doi.org/10.1016/J.TJNUT.2023.09.001>
- 33) Cao, Q., Sun, X., Rajesh, K., Chalasani, N., Gelow, K., Katz, B., Shah, V.H., Sanyal, A.J., Smirnova, E., 2021. Effects of Rare Microbiome Taxa Filtering on Statistical Analysis. *Front. Microbiol.* 11, 607325. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.607325/BIBTEX>
- 34) Carrigan, M.A., Uryasev, O., Frye, C.B., Eckman, B.L., Myers, C.R., Hurley, T.D., Benner, S.A., 2015. Hominids adapted to metabolize ethanol long before human-directed fermentation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 458–463.
- 35) Carter, M.M., Olm, M.R., Merrill, B.D., Jha, A.R., Sonnenburg, E.D., Sonnenburg Correspondence, J.L., 2023. Ultra-deep sequencing of Hadza hunter-gatherers recovers vanishing gut microbes. *Cell* 186, 3111-3124.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.05.046>
- 36) Cena, J.A. de, Zhang, J., Deng, D., Damé-Teixeira, N., Do, T., 2021. Low-Abundant Microorganisms: The Human Microbiome's Dark Matter, a Scoping Review. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 11, 689197. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.689197>
- 37) Chaumeil, P.A., Mussig, A.J., Hugenholtz, P., Parks, D.H., 2020. GTDB-Tk: a toolkit to classify genomes with the Genome Taxonomy Database. *Bioinformatics* 36, 1925–1927. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTZ848>
- 38) Chen, L., Wang, D., Garmaeva, S., Kurilshikov, A., Vich Vila, A., Gacesa, R., Sinha, T., Segal, E., Weersma, R.K., Wijmenga, C., Zhernakova, A., Fu, J., 2021. The long-term genetic stability and individual specificity of the human gut microbiome. *Cell* 184, 2302-2315.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.024>
- 39) Chen, Y.C., Malfertheiner, P., Yu, H.T., Kuo, C.L., Chang, Y.Y., Meng, F.T., Wu, Y.X., Hsiao, J.L., Chen, M.J., Lin, K.P., Wu, C.Y., Lin, J.T., O'Morain, C., Megraud, F., Lee, W.C., El-Omar, E.M., Wu, M.S., Liou, J.M., 2024. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection and Incidence of Gastric Cancer Between 1980 and 2022. *Gastroenterology* 166, 605–619. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2023.12.022>
- 40) Cheng, M., Ning, K., 2019. Stereotypes About Enterotype: the Old and New Ideas. *Genomics. Proteomics Bioinformatics* 17, 4. <https://doi.org/10.1016/J.GPB.2018.02.004>
- 41) Choi, I., Kim, J., Kim, W.C., 2022. Dietary Pattern Extraction Using Natural Language Processing Techniques. *Front. Nutr.* 9, 765794. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.765794>
- 42) Clooney, A.G., Fouhy, F., Sleator, R.D., O'Driscoll, A., Stanton, C., Cotter, P.D., Claesson, M.J., 2016. Comparing Apples and Oranges?: Next Generation Sequencing and Its Impact on Microbiome Analysis. *PLoS One* 11. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0148028>
- 43) Costea, P.I., Zeller, G., Sunagawa, S., Bork, P., 2014. A fair comparison. *Nat. Methods* 2014 114 11, 359–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2897>
- 44) Costea, P.I., Zeller, G., Sunagawa, S., Pelletier, E., Alberti, A., Levenez, F., Tramontano, M., Driessen, M., Hercog, R., Jung, F.E., Kultima, J.R., Hayward, M.R., Coelho, L.P., Allen-Vercoc, E., Bertrand, L., Blaut, M., Brown, J.R.M., Carton, T., Cools-Portier, S., Daigneault, M., Derrien, M., Druesne, A., De Vos, W.M., Finlay, B.B., Flint, H.J., Guarner, F., Hattori, M., Heilig, H., Luna, R.A., Van Hylekama Vlieg, J., Junick, J., Klymiuk, I., Langella, P., Le Chatelier, E., Mai, V., Manichanh, C., Martin, J.C., Mery, C., Morita, H., O'toole, P.W., Orvain, C., Patil, K.R., Penders, J., Persson, S., Pons, N., Popova, M., Salonen, A., Saulnier, D., Scott, K.P., Singh, B., Slezak, K., Veiga, P., Versalovic, J., Zhao, L., Zoetendal, E.G., Ehrlich, S.D., Dore, J., Bork, P., 2017. Towards standards for human fecal sample processing in metagenomic studies. *Nat. Biotechnol.* 2017 3511 35, 1069–1076. <https://doi.org/10.1038/nbt.3960>
- 45) Coyte, K.Z., Rakoff-Nahoum, S., 2019. Current Biology Minireview Understanding Competition and Cooperation within the Mammalian Gut Microbiome. *Curr. Biol.* 29, R538–R544.

- <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.04.017>
- 46) Cronin, P., Joyce, S.A., O'toole, P.W., O'connor, E.M., Tierney, A., Dahl, W.J., 2021. Dietary Fibre Modulates the Gut Microbiota. <https://doi.org/10.3390/nu13051655>
 - 47) Culp, E.J., Goodman, A.L., 2023. Cross-feeding in the gut microbiome: Ecology and mechanisms. *Cell Host Microbe* 31, 485–499. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.03.016>
 - 48) Dao, M.C., Subar, A.F., Warthon-Medina, M., Cade, J.E., Burrows, T., Golley, R.K., Forouhi, N.G., Pearce, M., Holmes, B.A., 2019. Dietary assessment toolkits: an overview. *Public Health Nutr.* 22, 404–418. <https://doi.org/10.1017/S1368980018002951>
 - 49) David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., Ling, A. V., Devlin, A.S., Varma, Y., Fischbach, M.A., Biddinger, S.B., Dutton, R.J., Turnbaugh, P.J., 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gutmicrobiome. *Nature* 505, 559. <https://doi.org/10.1038/NATURE12820>
 - 50) Deng, Y.J., Wang, S.Y., 2016. Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity. *J. Microbiol.* 54, 23–30. <https://doi.org/10.1007/S12275-016-5461-9>
 - 51) Dmitrijeva, M., Tackmann, J., Matias Rodrigues, J.F., Huerta-Cepas, J., Coelho, L.P., von Mering, C., 2024. A global survey of prokaryotic genomes reveals the eco-evolutionary pressures driving horizontal gene transfer. *Nat. Ecol. Evol.* 2024 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41559-024-02357-0>
 - 52) Dong, T.S., Luu, K., Lagishetty, V., Sedighian, F., Woo, S.L., Dreskin, B.W., Katzka, W., Chang, C., Zhou, Y., Arias-Jayo, N., Yang, J., Ahdoot, A., Li, Z., Pisegna, J.R., Jacobs, J.P., 2020. A High Protein Calorie Restriction Diet Alters the Gut Microbiome in Obesity. *Nutr.* 2020, Vol. 12, Page 3221 12, 3221. <https://doi.org/10.3390/NU12103221>
 - 53) Donohoe, D.R., Bultman, S.J., 2012. Metaboloepigenetics: Interrelationships between energy metabolism and epigenetic control of gene expression. *J. Cell. Physiol.* 227, 3169. <https://doi.org/10.1002/JCP.24054>
 - 54) Drula, E., Garron, M.L., Dogan, S., Lombard, V., Henrissat, B., Terrapon, N., 2022. The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature. *Nucleic Acids Res.* 50, D571–D577. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAB1045>
 - 55) EFSA, 2017a. Dietary Reference Values for nutrients Summary report. *EFSA Support. Publ.* 14. <https://doi.org/10.2903/SP.EFSA.2017.E15121>
 - 56) EFSA, 2017b. The food classification and description system FoodEx 2 (revision 2). *EFSA Support. Publ.* 12. <https://doi.org/10.2903/SP.EFSA.2015.EN-804>
 - 57) EFSA, 2011a. Evaluation of the FoodEx, the food classification system applied to the development of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database. *EFSA J.* 9. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2011.1970>
 - 58) EFSA, 2011b. The food classification and description system FoodEx 2 (draft-revision 1). *EFSA Support. Publ.* 8, 215E. <https://doi.org/10.2903/SP.EFSA.2011.EN-215>
 - 59) Emamalipour, M., Seidi, K., Zununi Vahed, S., Jahanban-Esfahlan, A., Jaymand, M., Majdi, H., Amoozgar, Z., Chitkushev, L.T., Javaheri, T., Jahanban-Esfahlan, R., Zare, P., 2020. Horizontal Gene Transfer: From Evolutionary Flexibility to Disease Progression. *Front. Cell Dev. Biol.* 8. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2020.00229>
 - 60) Falony, G., Joossens, M., Vieira-Silva, S., Wang, J., Darzi, Y., Faust, K., Kurilshikov, A., Bonder, M.J., Valles-Colomer, M., Vandeputte, D., Tito, R.Y., Chaffron, S., Rymenans, L., Verspecht, C., Sutter, L. De, Lima-Mendez, G., D'hoel, K., Jonckheere, K., Homola, D., Garcia, R., Tigchelaar, E.F., Eeckhaut, L., Fu, J., Henckaerts, L., Zhernakova, A., Wijmenga, C., Raes, J., 2016. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science* (80-.). 352, 560–564. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAD3503/SUPPL_FILE/TABLE_S9.XLSX
 - 61) FAO/WHO, 2017. FAO/WHO Global Individual Food consumption data Tool (GIFT): methodological document FOOD GROUPS AND SUBGROUPS Why were the FAO/WHO GIFT food groups and subgroups developed? [WWW Document]. FAO/WHO. URL <https://www.fao.org/gift-individual-food-consumption/en/> (accessed 1.1.24).

- 62) FAO/WHO, 1992. INTERNATIONAL CONFERENCE ON NUTRITION Final Report of the Conference.
- 63) Fardet, A., Rock, E., 2022. Exclusive reductionism, chronic diseases and nutritional confusion: the degree of processing as a lever for improving public health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 62, 2784–2799. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1858751>
- 64) Fassarella, M., Blaak, E.E., Penders, J., Nauta, A., Smidt, H., Zoetendal, E.G., 2021. Gut microbiome stability and resilience: elucidating the response to perturbations in order to modulate gut health. *Gut* 70, 595–605. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2020-321747>
- 65) Ferrario, P.G., Gedrich, K., 2023. Machine learning and personalized nutrition: a promising liaison? *Eur. J. Clin. Nutr.* 2023 1–3. <https://doi.org/10.1038/s41430-023-01350-3>
- 66) Fischbach, M.A., Sonnenburg, J.L., 2011. Eating For Two: How Metabolism Establishes Interspecies Interactions in the Gut. *Cell Host Microbe* 10, 336–347. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.10.002>
- 67) Fricke, S., 2018. Semantic Scholar. *J. Med. Libr. Assoc.* 106, 145-147–145–147. <https://doi.org/10.5195/JMLA.2018.280>
- 68) Fu, J., Zheng, Y., Gao, Y., Xu, W., 2022. Dietary Fiber Intake and Gut Microbiota in Human Health 10, 2507. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122507>
- 69) Galimberti, A., Casiraghi, M., Bruni, I., Guzzetti, L., Cortis, P., Berterame, N.M., Labra, M., 2019. From DNA barcoding to personalized nutrition: the evolution of food traceability. *Curr. Opin. Food Sci.* 28, 41–48. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2019.07.008>
- 70) Gálvez, E.J., Iljazovic, A., Amend, L., Robin Lesker, T., Renault, T., Thiemann, S., Hao, L., Roy, U., Gronow, A., Charpentier, E., Strowig, T., 2020. Distinct Polysaccharide Utilization Determines Interspecies Competition between Intestinal *Prevotella* spp. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.09.012>
- 71) Garcia-Gutierrez, E., Cotter, P.D., 2022. Relevance of organ(s)-on-a-chip systems to the investigation of food-gut microbiota-host interactions. *Crit. Rev. Microbiol.* 48, 463–488. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1979933>
- 72) Gardiner, L.J., Haiminen, N., Utró, F., Parida, L., Seabolt, E., Krishna, R., Kaufman, J.H., 2021. Re-purposing software for functional characterization of the microbiome. *Microbiome* 9, 1–12. <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00971-1/TABLES/2>
- 73) Gardner, C.D., Trepanowski, J.F., Gobbo, L.C.D., Hauser, M.E., Rigdon, J., Ioannidis, J.P.A., Desai, M., King, A.C., 2018. Effect of Low-Fat vs Low-Carbohydrate Diet on 12-Month Weight Loss in Overweight Adults and the Association With Genotype Pattern or Insulin Secretion: The DIETFITS Randomized Clinical Trial. *JAMA* 319, 667–679. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2018.0245>
- 74) Gaudier, E., Jarry, A., Blottière, H.M., De Coppet, P., Buisine, M.P., Aubert, J.P., Laboissee, C., Cherbut, C., Hoebler, C., 2004. Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 287. <https://doi.org/10.1152/AJPGI.00219.2004>
- 75) Gibson, G.R., 1999. Dietary Modulation of the Human Gut Microflora Using the Prebiotics Oligofructose and Inulin. *J. Nutr.* 129, 1438S-1441S. <https://doi.org/10.1093/JN/129.7.1438S>
- 76) Gloor, G.B., Macklaim, J.M., Pawlowsky-Glahn, V., Egozcue, J.J., 2017. Microbiome datasets are compositional: And this is not optional. *Front. Microbiol.* 8, 294209. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.02224/BIBTEX>
- 77) Gorzelak, M.A., Gill, S.K., Tasnim, N., Ahmadi-Vand, Z., Jay, M., Gibson, D.L., 2015. Methods for Improving Human Gut Microbiome Data by Reducing Variability through Sample Processing and Storage of Stool. *PLoS One* 10, e0134802. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0134802>
- 78) Goyal, A., Wang, T., Dubinkina, V., Maslov, S., 2021. Ecology-guided prediction of cross-feeding interactions in the human gut microbiome. *Nat. Commun.* 2021 121 12, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21586-6>

- 79) Grind, K., Schechner, S., Mcmillan, R., West, J., 2019. How Google Interferes With Its Search Algorithms and Changes Your Results 815 am ET.
- 80) Grondin, J.M., Tamura, K., Déjean, G., Abbott, D.W., Brumer, H., 2017. Polysaccharide utilization loci: Fueling microbial communities. *J. Bacteriol.* 199. <https://doi.org/10.1128/JB.00860-16>
- 81) Grossmann, L., McClements, D.J., 2022. Current insights into protein solubility: A review of its importance for alternative proteins. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108416>
- 82) Groussin, M., Poyet, M., Sistiaga, A., Kearney, S.M., Moniz, K., Noel, M., Hooker, J., Gibbons, S.M., Segurel, L., Froment, A., Mohamed, R.S., Fezeu, A., Juimo, V.A., Lafosse, S., Tabe, F.E., Girard, C., Iqaluk, D., Nguyen, L.T.T., Shapiro, B.J., Lehtimäki, J., Ruokolainen, L., Kettunen, P.P., Vatanen, T., Sigwazi, S., Mabulla, A., Domínguez-Rodrigo, M., Nartey, Y.A., Agyei-Nkansah, A., Duah, A., Awuku, Y.A., Valles, K.A., Asibey, S.O., Afihene, M.Y., Roberts, L.R., Plymoth, A., Onyekwere, C.A., Summons, R.E., Xavier, R.J., Alm, E.J., 2021. Elevated rates of horizontal gene transfer in the industrialized human microbiome. *Cell* 184, 2053-2067.e18. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2021.02.052>
- 83) Guittar, J., Koffel, T., Shade, A., Klausmeier, C.A., Litchman, E., 2021. Resource Competition and Host Feedbacks Underlie Regime Shifts in Gut Microbiota. <https://doi.org/10.1086/714527> 198, 1–12. <https://doi.org/10.1086/714527>
- 84) Hall, H., Perelman, D., Breschi, A., Limcaoco, P., Kellogg, R., McLaughlin, T., Snyder, M., 2018. Glucotypes reveal new patterns of glucose dysregulation. *PLOS Biol.* 16, e2005143. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2005143>
- 85) Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., Poutanen, K., 2010. Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 2010, Vol. 11, Pages 1365-1402 11, 1365–1402. <https://doi.org/10.3390/IJMS11041365>
- 86) Hardy, K., Brand-Miller, J., Brown, K.D., Thomas, M.G., Copeland, L., 2015. THE IMPORTANCE OF DIETARY CARBOHYDRATE IN HUMAN EVOLUTION. *Q. Rev. Biol.* 90, 251–268. <https://doi.org/10.1086/682587>
- 87) Haro, D., Marrero, P.F., Relat, J., 2019. Nutritional Regulation of Gene Expression: Carbohydrate-, Fat- and Amino Acid-Dependent Modulation of Transcriptional Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, Vol. 20, Page 1386 20, 1386. <https://doi.org/10.3390/IJMS20061386>
- 88) Harris, J.A., Benedict, F.G., 1919. Biometric Standards for Energy Requirements in Human Nutrition. *Sci. Mon.* 8, 385–402.
- 89) Hartigan, J.A., Wong, M.A., 1979. Algorithm AS 136: A K-Means Clustering Algorithm. *Appl. Stat.* 28, 100. <https://doi.org/10.2307/2346830>
- 90) Heiman, M.L., Greenway, F.L., 2016. A healthy gastrointestinal microbiome is dependent on dietary diversity. *Mol. Metab.* 5, 317. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMET.2016.02.005>
- 91) Heintz-Buschart, A., Wilmes, P., 2018. Human Gut Microbiome: Function Matters. *Trends Microbiol.* 26, 563–574. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2017.11.002>
- 92) Hernández-Calderón, P., Wiedemann, L., Benítez-Páez, A., 2022. The microbiota composition drives personalized nutrition: Gut microbes as predictive biomarkers for the success of weight loss diets. *Front. Nutr.* 9. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.1006747>
- 93) Hesse, E., 2024. Ecological dependencies and the illusion of cooperation in microbial communities. *Microbiology* 170, 1442. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001442>
- 94) Hibberd, M.C., Webber, D.M., Rodionov, D.A., Henrissat, S., Chen, R.Y., Zhou, C., Lynn, H.M., Wang, Y., Chang, H.W., Lee, E.M., Lelwala-Guruge, J., Kazanov, M.D., Arzamasov, A.A., Leyn, S.A., Lombard, V., Terrapon, N., Henrissat, B., Castillo, J.J., Couture, G., Bacalzo, N.P., Chen, Y., Lebrilla, C.B., Mostafa, I., Das, S., Mahfuz, M., Barratt, M.J., Osterman, A.L., Ahmed, T., Gordon, J.I., 2023. Bioactive glycans in a microbiome-directed food for children with malnutrition. *Nat.* 2023 6257993 625, 157–165. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06838-3>
- 95) Hildebrandt, M.A., Hoffmann, C., Sherrill-Mix, S.A., Keilbaugh, S.A., Hamady, M., Chen, Y.Y., Knight, R., Ahima, R.S., Bushman, F., Wu, G.D., 2009. High-Fat Diet Determines the Composition

- of the Murine Gut Microbiome Independently of Obesity. *Gastroenterology* 137, 1716-1724.e2. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2009.08.042>
- 96) Hitch, T.C.A., Masson, J.M., Streidl, T., Fischöder, T., Elling, L., Clavel, T., 2020. Diversity and function of microbial lipases within the mammalian gut. *bioRxiv* 2020.09.08.287425. <https://doi.org/10.1101/2020.09.08.287425>
 - 97) Hu, F.B., Rimm, E., Smith-Warner, S.A., Feskanich, D., Stampfer, M.J., Ascherio, A., Sampson, L., Willett, W.C., 1999. Reproducibility and validity of dietary patterns assessed with a food-frequency questionnaire. *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 243–249. <https://doi.org/10.1093/AJCN/69.2.243>
 - 98) Hubert, L., Arabie, P., 1985. Comparing partitions. *J. Classif.* 2, 193–218. <https://doi.org/10.1007/BF01908075/METRICS>
 - 99) Hugenholtz, F., de Vos, W.M., 2018. Mouse models for human intestinal microbiota research: a critical evaluation. *Cell. Mol. Life Sci.* 75, 149. <https://doi.org/10.1007/S00018-017-2693-8>
 - 100) Imhann, F., Bonder, M.J., Vila, A.V., Fu, J., Mujagic, Z., Vork, L., Tigchelaar, E.F., Jankipersadsing, S.A., Cenit, M.C., Harmsen, H.J.M., Dijkstra, G., Franke, L., Xavier, R.J., Jonkers, D., Wijmenga, C., Weersma, R.K., Zhernakova, A., 2016. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut* 65, 740–748. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2015-310376>
 - 101) Jeong, H., Arif, B., Caetano-Anollés, G., Kim, K.M., Nasir, A., 2019. Horizontal gene transfer in human-associated microorganisms inferred by phylogenetic reconstruction and reconciliation. *Sci. Rep.* 9, 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42227-5>
 - 102) Jinnette, R., Narita, A., Manning, B., McNaughton, S.A., Mathers, J.C., Livingstone, K.M., 2021. Does Personalized Nutrition Advice Improve Dietary Intake in Healthy Adults? A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Adv. Nutr.* 12, 657–669. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMAA144>
 - 103) Johnson, A.J., Zheng, J.J., Kang, J.W., Saboe, A., Knights, D., Zivkovic, A.M., 2020. A Guide to Diet-Microbiome Study Design. *Front. Nutr.* 7, 79. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2020.00079>
 - 104) Kaczynski, T., 1995. The Unabomber Manifesto: Industrial Society and its Future. *New York Times* 1–38.
 - 105) Kers, J.G., Saccenti, E., 2022. The Power of Microbiome Studies: Some Considerations on Which Alpha and Beta Metrics to Use and How to Report Results. *Front. Microbiol.* 12, 796025. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.796025/BIBTEX>
 - 106) Kirk, D., Kok, E., Tufano, M., Tekinerdogan, B., Feskens, E.J.M., Camps, G., 2022. Machine Learning in Nutrition Research. *Adv. Nutr.* 13, 2573. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMAC103>
 - 107) Koutrouli, M., Karatzas, E., Paez-Espino, D., Pavlopoulos, G.A., 2020. A Guide to Conquer the Biological Network Era Using Graph Theory. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, 504360. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2020.00034/BIBTEX>
 - 108) Kovatcheva-Datchary, P., Nilsson, A., Akrami, R., Martens, E., Bjö, I., Bä Ckhed Correspondence, F., Lee, Y.S., De Vadder, F., Arora, T., Hallen, A., Bä Ckhed, F., 2015. Clinical and Translational Report Dietary Fiber-Induced Improvement in Glucose Metabolism Is Associated with Increased Abundance of *Prevotella* Cell Metabolism Clinical and Translational Report Dietary Fiber-Induced Improvement in Glucose Metabolism Is Associated with Increased Abundance of *Prevotella*. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.10.001>
 - 109) Kwon, O., 2019. A big picture view of precision nutrition: from reductionism to holism. *J. Nutr. Heal.* 52, 1–5. <https://doi.org/10.4163/JNH.2019.52.1.1>
 - 110) Lacroix, M., Bos, C., Léonil, J., Airinei, G., Luengo, C., Daré, S., Benamouzig, R., Fouillet, H., Fauquant, J., Tomé, D., Gaudichon, C., 2006. Compared with casein or total milk protein, digestion of milk soluble proteins is too rapid to sustain the anabolic postprandial amino acid requirement. *Am. J. Clin. Nutr.* 84, 1070–1079. <https://doi.org/10.1093/AJCN/84.5.1070>
 - 111) Lagier, J.C., Dubourg, G., Million, M., Cadoret, F., Bilen, M., Fenollar, F., Levasseur, A., Rolain, J.M., Fournier, P.E., Raoult, D., 2018. Culturing the human microbiota and culturomics.

- Nat. Rev. Microbiol. 2018 16, 540–550. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0041-0>
- 112) Lapébie, P., Lombard, V., Drula, E., Terrapon, N., Henrissat, B., 2019. Bacteroidetes use thousands of enzyme combinations to break down glycans. *Nat. Commun.* 10. <https://doi.org/10.1038/S41467-019-10068-5>
 - 113) Leviatan, S., Shoer, S., Rothschild, D., Gorodetski, M., Segal, E., 2022. An expanded reference map of the human gut microbiome reveals hundreds of previously unknown species. *Nat. Commun.* 2022 13 13, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31502-1>
 - 114) Ley, R.E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P.J., Ramey, R.R., Bircher, J.S., Schlegel, M.L., Tucker, T.A., Schrenzel, M.D., Knight, R., Gordon, J.I., 2008. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 320, 1647. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1155725>
 - 115) Li, M.M., White, R.R., Guan, L.L., Harthan, L., Hanigan, M.D., 2021. Metatranscriptomic analyses reveal ruminal pH regulates fiber degradation and fermentation by shifting the microbial community and gene expression of carbohydrate-active enzymes. *Anim. Microbiome* 3, 1–17. <https://doi.org/10.1186/S42523-021-00092-6/FIGURES/7>
 - 116) Li, R., Zhao, Z., Sun, M., Luo, J., Xiao, Y., 2016. ALDH2 gene polymorphism in different types of cancers and its clinical significance. *Life Sci.* 147, 59–66. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2016.01.028>
 - 117) Lindemann, S.R., 2020. A piece of the pie: engineering microbiomes by exploiting division of labor in complex polysaccharide consumption. *Curr. Opin. Chem. Eng.* 30, 96–102. <https://doi.org/10.1016/J.COCHE.2020.08.004>
 - 118) Loos, R.J.F., 2019. From nutrigenomics to personalizing diets: are we ready for precision medicine? *Am. J. Clin. Nutr.* 109, 1. <https://doi.org/10.1093/AJCN/NQY364>
 - 119) Lu, J., Breitwieser, F.P., Thielen, P., Salzberg, S.L., 2017. Bracken: Estimating species abundance in metagenomics data. *PeerJ Comput. Sci.* 2017, e104. <https://doi.org/10.7717/PEERJ-CS.104/SUPP-5>
 - 120) Lu, J., Rincon, N., Wood, D.E., Breitwieser, F.P., Pockrandt, C., Langmead, B., Salzberg, S.L., Steinegger, M., 2022. Metagenome analysis using the Kraken software suite. *Nat. Protoc.* <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00738-y>
 - 121) Luis, A.S., Hansson, G.C., 2023. Intestinal mucus and their glycans: A habitat for thriving microbiota. *Cell Host Microbe* 31, 1087–1100. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2023.05.026>
 - 122) Ma, E., Maskarinec, G., Lim, U., Boushey, C.J., Wilkens, L.R., Setiawan, V.W., Le Marchand, L., Randolph, T.W., Jenkins, I.C., Curtis, K.R., Lampe, J.W., Hullar, M.A.J., 2022. Long-term association between diet quality and characteristics of the gut microbiome in the multiethnic cohort study. *Br. J. Nutr.* 128, 93–102. <https://doi.org/10.1017/S0007114521002968>
 - 123) Ma, P., Wu, Y., Yu, N., Zhang, Y., Backes, M., Wang, Q., Wei, C., 2023. UMDFood : Vision-language models boost food composition compilation.
 - 124) Mahmood, L., Flores-Barrantes, P., Moreno, L.A., Manios, Y., Gonzalez-Gil, E.M., 2021. The Influence of Parental Dietary Behaviors and Practices on Children’s Eating Habits. *Nutrients* 13. <https://doi.org/10.3390/NU13041138>
 - 125) Martino, C., Morton, J.T., Marotz, C.A., Thompson, L.R., Tripathi, A., Knight, R., Zengler, K., 2019. A Novel Sparse Compositional Technique Reveals Microbial Perturbations. *mSystems* 4. <https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.00016-19>
 - 126) Martino, C., Zaramela, L.S., Gao, B., Embree, M., Tarasova, J., Parker, S.J., Wang, Y., Chu, H., Chen, P., Lee, K.C., Galzerani, D.D., Gengatharan, J.M., Lekbua, A., Neal, M., Knight, R., Tsukamoto, H., Metallo, C.M., Schnabl, B., Zengler, K., 2022. Acetate reprograms gut microbiota during alcohol consumption. *Nat. Commun.* 13. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31973-2>
 - 127) Mas, A., Jamshidi, S., Lagadeuc, Y., Eveillard, D., Vandenkoornhuysse, P., 2016. Beyond the Black Queen Hypothesis. *ISME J.* 2016 109 10, 2085–2091. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.22>
 - 128) Matchado, M.S., Lauber, M., Reitmeier, S., Kacprowski, T., Baumbach, J., Haller, D., List, M., 2021. Network analysis methods for studying microbial communities: A mini review. *Comput.*

- Struct. Biotechnol. J. 19, 2687–2698. <https://doi.org/10.1016/J.CSBJ.2021.05.001>
- 129) McGivern, B.B., Woyda, R., Flynn, R.M., Wrighton, K.C., 2023. CAMPER: curated annotations for profiling microbial polyphenol metabolic potential. *bioRxiv* 2023.09.24.559193. <https://doi.org/10.1101/2023.09.24.559193>
- 130) Mehta, R.S., Abu-Ali, G.S., Drew, D.A., Lloyd-Price, J., Subramanian, A., Lochhead, P., Joshi, A.D., Ivey, K.L., Khalili, H., Brown, G.T., Dulong, C., Song, M., Nguyen, L.H., Mallick, H., Rimm, E.B., Izard, J., Huttenhower, C., Chan, A.T., 2018. Stability of the human faecal microbiome in a cohort of adult men. *Nat. Microbiol.* 3, 347–355. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0096-0>
- 131) Menni, C., Jackson, M.A., Pallister, T., Steves, C.J., Spector, T.D., Valdes, A.M., 2017. Gut microbiome diversity and high-fibre intake are related to lower long-term weight gain. *Int. J. Obes.* 2017 417 41, 1099–1105. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.66>
- 132) Milà-Villarroya, R., Bach-Faig, A., Puig, J., Puchal, A., Farran, A., Serra-Majem, L., Carrasco, J.L., 2011. Comparison and evaluation of the reliability of indexes of adherence to the Mediterranean diet. *Public Health Nutr.* 14, 2338–2345. <https://doi.org/10.1017/S1368980011002606>
- 133) Milton, K., 1999. A hypothesis to explain the role of meat-eating in human evolution. *Evol. Anthropol.* 8, 11–21. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6505\(1999\)8:1<11::AID-EVAN6>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6505(1999)8:1<11::AID-EVAN6>3.0.CO;2-M)
- 134) Mirmiran, P., Estaki, S., Yadegari, A., Golzarand, M., Azizi, F., 2023. Adherence to a modified nordic diet and the risk of cardiovascular events in a non-nordic population: a prospective cohort study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2023 779 77, 919–924. <https://doi.org/10.1038/s41430-023-01325-4>
- 135) Mitchell, S.M., Milan, A.M., Mitchell, C.J., Gillies, N.A., D'souza, R.F., Zeng, N., Ramzan, F., Sharma, P., Knowles, S.O., Roy, N.C., Sjödin, A., Wagner, K.H., Zeisel, S.H., Cameron-Smith, D., 2019. Protein Intake at Twice the RDA in Older Men Increases Circulatory Concentrations of the Microbiome Metabolite Trimethylamine-N-Oxide (TMAO). *Nutr.* 2019, Vol. 11, Page 2207 11, 2207. <https://doi.org/10.3390/NU11092207>
- 136) Moeller, S.M., Reedy, J., Millen, A.E., Dixon, L.B., Newby, P.K., Tucker, K.L., Krebs-Smith, S.M., Guenther, P.M., 2007. Dietary patterns: challenges and opportunities in dietary patterns research an Experimental Biology workshop, April 1, 2006. *J. Am. Diet. Assoc.* 107, 1233–1239. <https://doi.org/10.1016/J.JADA.2007.03.014>
- 137) Morris, J.J., Lenski, R.E., Zinser, E.R., 2012. The black queen hypothesis: Evolution of dependencies through adaptive gene loss. *MBio* 3. <https://doi.org/10.1128/mBio.00036-12>
- 138) Movassagh, E.Z., Baxter-Jones, A.D.G., Kontulainen, S., Whiting, S.J., Vatanparast, H., 2017. Tracking Dietary Patterns over 20 Years from Childhood through Adolescence into Young Adulthood: The Saskatchewan Pediatric Bone Mineral Accrual Study. *Nutrients* 9, 1–14. <https://doi.org/10.3390/NU9090990>
- 139) Mu, C., Yang, Y., Luo, Z., Guan, L., Zhu, W., 2016. The Colonic Microbiome and Epithelial Transcriptome Are Altered in Rats Fed a High-Protein Diet Compared with a Normal-Protein Diet. *J. Nutr.* 146, 474–483. <https://doi.org/10.3945/JN.115.223990>
- 140) Nearing, J.T., Douglas, G.M., Hayes, M.G., MacDonald, J., Desai, D.K., Allward, N., Jones, C.M.A., Wright, R.J., Dhanani, A.S., Comeau, A.M., Langille, M.G.I., 2022. Microbiome differential abundance methods produce different results across 38 datasets. *Nat. Commun.* 13, 342. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28034-z>
- 141) Nelson, W.C., Tully, B.J., Mobberley, J.M., 2020. Biases in genome reconstruction from metagenomic data. *PeerJ* 8, e10119. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.10119/SUPP-7>
- 142) Newman, M., 2018. *Networks: A Introduction*. Oxford 148, 780.
- 143) Nguyen, T.L.A., Vieira-Silva, S., Liston, A., Raes, J., 2015. How informative is the mouse for human gut microbiota research? *DMM Dis. Model. Mech.* 8, 1–16. <https://doi.org/10.1242/DMM.017400/-/DC1>
- 144) Nicastro, H.L., Vorkoper, S., Sterling, R., Korn, A.R., Brown, A.G.M., Maruvada, P., Oh, A.Y.,

2023. Opportunities to advance implementation science and nutrition research: a commentary on the Strategic Plan for NIH Nutrition Research. *Transl. Behav. Med.* 13, 1–6. <https://doi.org/10.1093/TBM/IBAC066>
- 145) Nogal, B., Blumberg, J.B., Blander, G., Jorge, M., 2021. Gut Microbiota–Informed Precision Nutrition in the Generally Healthy Individual: Are We There Yet? *Curr. Dev. Nutr.* 5. <https://doi.org/10.1093/CDN/NZAB107>
- 146) Norton, J.E., Wallis, G.A., Spyropoulos, F., Lillford, P.J., Norton, I.T., 2014. Designing Food Structures for Nutrition and Health Benefits. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092315> 5, 177–195. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-030713-092315>
- 147) Odamaki, T., Kato, K., Sugahara, H., Hashikura, N., Takahashi, S., Xiao, J.Z., Abe, F., Osawa, R., 2016. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: A cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 16, 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12866-016-0708-5/TABLES/1>
- 148) Onyango, S.O., Juma, J., De Paepe, K., Van de Wiele, T., 2021. Oral and Gut Microbial Carbohydrate-Active Enzymes Landscape in Health and Disease. *Front. Microbiol.* 12, 653448. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.653448/BIBTEX>
- 149) Palatini, P., Ceolotto, G., Ragazzo, F., Dorigatti, F., Saladini, F., Papparella, I., Mos, L., Zanata, G., Santonastaso, M., 2009. CYP1A2 genotype modifies the association between coffee intake and the risk of hypertension. *J. Hypertens.* 27, 1594–1601. <https://doi.org/10.1097/HJH.0B013E32832BA850>
- 150) Parikh, N.I., Pencina, M.J., Wang, T.J., Lanier, K.J., Fox, C.S., D’Agostino, R.B., Vasan, R.S., 2007. Increasing Trends in Incidence of Overweight and Obesity over 5 Decades. *Am. J. Med.* 120, 242-250.e2. <https://doi.org/10.1016/J.AMJMED.2006.06.004>
- 151) Park, S.C., Lee, K., Kim, Y.O., Won, S., Chun, J., 2019. Large-scale genomics reveals the genetic characteristics of seven species and importance of phylogenetic distance for estimating pan-genome size. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.00834>
- 152) Pasolli, E., Asnicar, F., Manara, S., Zolfo, M., Karcher, N., Armanini, F., Beghini, F., Manghi, P., Tett, A., Ghensi, P., Collado, M.C., Rice, B.L., DuLong, C., Morgan, X.C., Golden, C.D., Quince, C., Huttenhower, C., Segata, N., 2019. Extensive Unexplored Human Microbiome Diversity Revealed by Over 150,000 Genomes from Metagenomes Spanning Age, Geography, and Lifestyle. *Cell* 176, 649-662.e20. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.01.001>
- 153) Patikorn, C., Saidoung, P., Pham, T., Phisalprapa, P., Lee, Y.Y., Varady, K.A., Veettil, S.K., Chaiyakunapruk, N., 2023. Effects of ketogenic diet on health outcomes: an umbrella review of meta-analyses of randomized clinical trials. *BMC Med.* 21, 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12916-023-02874-Y/FIGURES/2>
- 154) Patnode, M.L., Beller, Z.W., Han, N.D., Cheng, J., Peters, S.L., Terrapon, N., Henrissat, B., Le Gall, S., Saulnier, L., Hayashi, D.K., Meynier, A., Vinoy, S., Giannone, R.J., Hettich, R.L., Gordon, J.I., 2019. Interspecies Competition Impacts Targeted Manipulation of Human Gut Bacteria by Fiber-Derived Glycans. *Cell* 179, 59-73.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.08.011>
- 155) Pavlidou, E., Papadopoulou, S.K., Seroglou, K., Giaginis, C., 2023. Revised Harris–Benedict Equation: New Human Resting Metabolic Rate Equation. *Metab.* 2023, Vol. 13, Page 189 13, 189. <https://doi.org/10.3390/METABO13020189>
- 156) Pellizzon, M.A., Ricci, M.R., 2018. The common use of improper control diets in diet-induced metabolic disease research confounds data interpretation: the fiber factor. *Nutr. Metab. (Lond).* 15. <https://doi.org/10.1186/S12986-018-0243-5>
- 157) Pelto, G.H., Pelto, P.J., 1983. Diet and delocalization: dietary changes since 1750. *J. Interdiscip. Hist.* 14, 507–528. <https://doi.org/10.2307/203719>
- 158) Pérez-Burillo, S., Molino, S., Navajas-Porras, B., Valverde-Moya, Á.J., Hinojosa-Nogueira, D., López-Maldonado, A., Pastoriza, S., Rufián-Henares, J.Á., 2021. An in vitro batch fermentation protocol for studying the contribution of food to gut microbiota composition and functionality. *Nat. Protoc.* 2021 167 16, 3186–3209. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00537-x>

- 159) Peschel, S., Müller, C.L., Von Mutius, E., Boulesteix, A.L., Depner, M., 2021. NetCoMi: Network construction and comparison for microbiome data in R. *Brief. Bioinform.* 22, 1–18. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa290>
- 160) Pinart, M., Dötsch, A., Schlicht, K., Laudes, M., Bouwman, J., Forslund, S.K., Pischon, T., Nimptsch, K., 2022. Gut microbiome composition in obese and non-obese persons: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients* 14, 12. <https://doi.org/10.3390/NU14010012/S1>
- 161) Poole, A.C., Goodrich, J.K., Youngblut, N.D., Luque, G.G., Ruaud, A., Sutter, J.L., Waters, J.L., Shi, Q., El-Hadidi, M., Johnson, L.M., Bar, H.Y., Huson, D.H., Booth, J.G., Ley, R.E., 2019. Human Salivary Amylase Gene Copy Number Impacts Oral and Gut Microbiomes. *Cell Host Microbe* 25, 553-564.e7. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2019.03.001>
- 162) Quinn, T.P., Erb, I., Gloor, G., Notredame, C., Richardson, M.F., Crowley, T.M., 2019. A field guide for the compositional analysis of any-omics data. *Gigascience* 8, 1–14. <https://doi.org/10.1093/GIGASCIENCE/GIZ107>
- 163) Quinn, T.P., Gordon-Rodriguez, E., Erb, I., 2021. A Critique of Differential Abundance Analysis, and Advocacy for an Alternative.
- 164) Ramaboli, M.C., Ocvirk, S., Khan Mirzaei, M., Eberhart, B.L., Valdivia-Garcia, M., Metwaly, A., Neuhaus, K., Barker, G., Ru, J., Nesengani, L.T., Mahdi-Joest, D., Wilson, A.S., Joni, S.K., Layman, D.C., Zheng, J., Mandal, R., Chen, Q., Perez, M.R., Fortuin, S., Gaunt, B., Wishart, D., Methé, B., Haller, D., Li, J. V., Deng, L., Swart, R., O’Keefe, S.J.D., 2024. Diet changes due to urbanization in South Africa are linked to microbiome and metabolome signatures of Westernization and colorectal cancer. *Nat. Commun.* 2024 151 15, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46265-0>
- 165) Rawlings, N.D., Barrett, A.J., Finn, R., 2016. Twenty years of the MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Res.* 44, D343–D350. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKV1118>
- 166) Real, R., Vargas, J.M., 1996. The Probabilistic Basis of Jaccard’s Index of Similarity. *Syst. Biol.* 45, 380. <https://doi.org/10.2307/2413572>
- 167) Reese, A.T., Pereira, F.C., Schintlmeister, A., Berry, D., Wagner, M., Hale, L.P., Wu, A., Jiang, S., Durand, H.K., Zhou, X., Premont, R.T., Diehl, A.M., O’Connell, T.M., Alberts, S.C., Kartzinel, T.R., Pringle, R.M., Dunn, R.R., Wright, J.P., David, L.A., 2018. Microbial nitrogen limitation in the mammalian large intestine. *Nat. Microbiol.* 2018 312 3, 1441–1450. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0267-7>
- 168) Rein, M., Ben-Yacov, O., Godneva, A., Shilo, S., Zmora, N., Kolobkov, D., Cohen-Dolev, N., Wolf, B.C., Kosower, N., Lotan-Pompan, M., Weinberger, A., Halpern, Z., Zelber-Sagi, S., Elinav, E., Segal, E., 2022. Effects of personalized diets by prediction of glycemic responses on glycemic control and metabolic health in newly diagnosed T2DM: a randomized dietary intervention pilot trial. *BMC Med.* 20, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02254-y>
- 169) Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G.A.D., Gasbarrini, A., Mele, M.C., 2019. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms* 7, 14. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS7010014>
- 170) Rivera-Chávez, F., Lopez, C.A., Bäumlner, A.J., 2017. Oxygen as a driver of gut dysbiosis. *Free Radic. Biol. Med.* 105, 93–101. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2016.09.022>
- 171) Rose, C., Parker, A., Jefferson, B., Cartmell, E., 2015. The Characterization of Feces and Urine: A Review of the Literature to Inform Advanced Treatment Technology. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 45, 1827–1879. <https://doi.org/10.1080/10643389.2014.1000761>
- 172) Saa, P., Urrutia, A., Silva-Andrade, C., Martín, A.J., Garrido, D., 2022. Modeling approaches for probing cross-feeding interactions in the human gut microbiome. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 20, 79–89. <https://doi.org/10.1016/J.CSBJ.2021.12.006>
- 173) Sadohara, R., Jacobs, D., Pereira, M.A., Johnson, A.J., 2024. Dietary pattern and diversity

- analysis using DietDiveR in R: a cross-sectional evaluation in the National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Clin. Nutr.* 119, 1301–1308. <https://doi.org/10.1016/J.AJCNUT.2024.02.014>
- 174) Schnorr, S.L., Candela, M., Rampelli, S., Centanni, M., Consolandi, C., Basaglia, G., Turrioni, S., Biagi, E., Peano, C., Severgnini, M., Fiori, J., Gotti, R., De Bellis, G., Luiselli, D., Brigidi, P., Mabulla, A., Marlowe, F., Henry, A.G., Crittenden, A.N., 2014. Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nat. Commun.* 2014 51 5, 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms4654>
- 175) Shams-White, M.M., Pannucci, T.R.E., Lerman, J.L., Herrick, K.A., Zimmer, M., Meyers Mathieu, K., Stoody, E.E., Reedy, J., 2023. Healthy Eating Index-2020: Review and Update Process to Reflect the Dietary Guidelines for Americans, 2020–2025. *J. Acad. Nutr. Diet.* 123, 1280–1288. <https://doi.org/10.1016/J.JAND.2023.05.015>
- 176) Shin, H.S., Ingram, J.R., McGill, A.T., Poppitt, S.D., 2013. Lipids, CHOs, proteins: Can all macronutrients put a ‘brake’ on eating? *Physiol. Behav.* 120, 114–123. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2013.07.008>
- 177) Shinn, L.M., Li, Y., Mansharamani, A., Auvil, L.S., Welge, M.E., Bushell, C., Khan, N.A., Charron, C.S., Novotny, J.A., Baer, D.J., Zhu, R., Holscher, H.D., 2021. Fecal Bacteria as Biomarkers for Predicting Food Intake in Healthy Adults. *J. Nutr.* 151, 423–433. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa285>
- 178) Si, J., Vázquez-Castellanos, J.F., Gregory, A.C., Decommer, L., Rymenans, L., Proost, S., Centelles Lodeiro, J., Weger, M., Notdurfter, M., Leitner, C., Santer, P., Rungger, G., Willeit, J., Willeit, P., Pechlaner, R., Grabherr, F., Kiechl, S., Tilg, H., Raes, J., 2022. Long-term life history predicts current gut microbiome in a population-based cohort study. *Nat. Aging* 2022 210 2, 885–895. <https://doi.org/10.1038/s43587-022-00286-w>
- 179) Šik Novak, K., Bogataj Jontez, N., Petelin, A., Hladnik, M., Baruca Arbeiter, A., Bandelj, D., Pražnikar, J., Kenig, S., Mohorko, N., Jenko Pražnikar, Z., 2023. Could Gut Microbiota Composition Be a Useful Indicator of a Long-Term Dietary Pattern? *Nutr.* 2023, Vol. 15, Page 2196 15, 2196. <https://doi.org/10.3390/NU15092196>
- 180) Silley, P., 2009. Human flora-associated rodents – does the data support the assumptions? *Microb. Biotechnol.* 2, 6. <https://doi.org/10.1111/J.1751-7915.2008.00069.X>
- 181) Sillman, J., Nygren, L., Kahiluoto, H., Ruuskanen, V., Tamminen, A., Bajamundi, C., Nappa, M., Wuokko, M., Lindh, T., Vainikka, P., Pitkänen, J.P., Ahola, J., 2019. Bacterial protein for food and feed generated via renewable energy and direct air capture of CO₂: Can it reduce land and water use? *Glob. Food Sec.* 22, 25–32. <https://doi.org/10.1016/J.GFS.2019.09.007>
- 182) Simonet, C., McNally, L., 2021. Kin selection explains the evolution of cooperation in the gut microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2016046118/-/DCSUPPLEMENTAL>
- 183) Singh, D., Singh, B., 2020. Investigating the impact of data normalization on classification performance. *Appl. Soft Comput.* 97, 105524. <https://doi.org/10.1016/J.ASOC.2019.105524>
- 184) Singhal, R., Shah, Y.M., 2020. Oxygen battle in the gut: Hypoxia and hypoxia-inducible factors in metabolic and inflammatory responses in the intestine. *J. Biol. Chem.* 295, 10493–10505. <https://doi.org/10.1074/JBC.REV120.011188>
- 185) Smillie, C.S., Smith, M.B., Friedman, J., Cordero, O.X., David, L.A., Alm, E.J., 2011. Ecology drives a global network of gene exchange connecting the human microbiome. *Nat.* 2011 4807376 480, 241–244. <https://doi.org/10.1038/nature10571>
- 186) Smith, R.H., Glendinning, L., Walker, A.W., Watson, M., 2022. Investigating the impact of database choice on the accuracy of metagenomic read classification for the rumen microbiome. *Anim. Microbiome* 4, 1–17. <https://doi.org/10.1186/S42523-022-00207-7/FIGURES/6>
- 187) Solans, M., Coenders, G., Marcos-Gragera, R., Castelló, A., Gràcia-Lavedan, E., Benavente, Y., Moreno, V., Pérez-Gómez, B., Amiano, P., Fernández-Villa, T., Guevara, M., Gómez-Acebo, I., Fernández-Tardón, G., Vanaclocha-Espi, M., Chirlaque, M.D., Capelo, R., Barrios, R., Aragonés,

- N., Molinuevo, A., Vitelli-Storelli, F., Castilla, J., Dierssen-Sotos, T., Castaño-Vinyals, G., Kogevinas, M., Pollán, M., Saez, M., 2019. Compositional analysis of dietary patterns. *Stat. Methods Med. Res.* 28, 2834–2847. https://doi.org/10.1177/0962280218790110/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_0962280218790110-FIG2.JPEG
- 188) Stojanov, S., Berlec, A., Štrukelj, B., 2020. The Influence of Probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Treatment of Obesity and Inflammatory Bowel disease. *Microorg.* 2020, Vol. 8, Page 1715 8, 1715. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8111715>
- 189) Stricker, M.D., Onland-Moret, N.C., Boer, J.M.A., van der Schouw, Y.T., Verschuren, W.M.M., May, A.M., Peeters, P.H.M., Beulens, J.W.J., 2013. Dietary patterns derived from principal component- and k-means cluster analysis: Long-term association with coronary heart disease and stroke. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 23, 250–256. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.02.006>
- 190) Szóstak, N., Szymanek, A., Havránek, J., Tomela, K., Rakoczy, M., Samelak-Czajka, A., Schmidt, M., Figlerowicz, M., Majta, J., Milanowska-Zabel, K., Handschuh, L., Philips, A., 2022. The standardisation of the approach to metagenomic human gut analysis: from sample collection to microbiome profiling. *Sci. Reports* 2022 12, 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12037-3>
- 191) Tap, J., Lejzerowicz, F., Cotillard, A., Pichaud, M., McDonald, D., Song, S.J., Knight, R., Veiga, P., Derrien, M., 2023. Global branches and local states of the human gut microbiome define associations with environmental and intrinsic factors. *Nat. Commun.* 2023 14, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38558-7>
- 192) Terrapon, N., Lombard, V., Drula, É., Lapébie, P., Al-Masaudi, S., Gilbert, H.J., Henrissat, B., 2018. PULDB: the expanded database of Polysaccharide Utilization Loci. *Nucleic Acids Res.* 46, D677–D683. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKX1022>
- 193) Thames, Q., Karpur, A., Norris, W., Xia, F., Panait, L., Weyand, T., Sim, J., 2021. Nutrition5k: Towards Automatic Nutritional Understanding of Generic Food.
- 194) Tian, L., Wang, X.W., Wu, A.K., Fan, Y., Friedman, J., Dahlin, A., Waldor, M.K., Weinstock, G.M., Weiss, S.T., Liu, Y.Y., 2020. Deciphering functional redundancy in the human microbiome. *Nat. Commun.* 11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19940-1>
- 195) Tibshirani, R., 1996. Regression Shrinkage and Selection via the Lasso. *Source J. R. Stat. Soc. Ser. B* 58, 267–288.
- 196) Tierney, B.T., Yang, Z., Lubner, J.M., Beaudin, M., Wibowo, M.C., Baek, C., Mehlenbacher, E., Patel, C.J., Kostic, A.D., 2019. The Landscape of Genetic Content in the Gut and Oral Human Microbiome. *Cell Host Microbe* 26, 283-295.e8. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.07.008>
- 197) Tottey, W., Feria-Gervasio, D., Gaci, N., Laillet, B., Pujos, E., Martin, J.F., Sebedio, J.L., Sion, B., Jarrige, J.F., Alric, M., Brugère, J.F., 2017. Colonic Transit Time Is a Driven Force of the Gut Microbiota Composition and Metabolism: In Vitro Evidence. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 23, 124. <https://doi.org/10.5056/JNM16042>
- 198) Trumbo, P., Schlicker, S., Yates, A.A., Poos, M., 2002. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. *J. Am. Diet. Assoc.* 102, 1621–1630. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(02\)90346-9](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90346-9)
- 199) Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C.M., Knight, R., Gordon, J.I., 2007. The Human Microbiome Project. *Nat.* 2007 449, 804–810. <https://doi.org/10.1038/nature06244>
- 200) Ullmann, T., Peschel, S., Finger, P., Müller, C.L., Boulesteix, A.L., 2023. Over-optimism in unsupervised microbiome analysis: Insights from network learning and clustering. *PLOS Comput. Biol.* 19, e1010820. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1010820>
- 201) Vandeputte, D., Falony, G., Vieira-Silva, S., Tito, R.Y., Joossens, M., Raes, J., 2016. Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and

- bacterial growth rates. *Gut* 65, 57–62. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2015-309618>
- 202) Vangay, P., Johnson, A.J., Ward, T.L., Al-Ghalith, G.A., Shields-Cutler, R.R., Hillmann, B.M., Lucas, S.K., Beura, L.K., Thompson, E.A., Till, L.M., Batres, R., Paw, B., Pergament, S.L., Saenyakul, P., Xiong, M., Kim, A.D., Kim, G., Masopust, D., Martens, E.C., Angkurawaranon, C., McGready, R., Kashyap, P.C., Culhane-Pera, K.A., Knights, D., 2018. U.S. immigration westernizes the human gut microbiome. *Cell* 175, 962. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2018.10.029>
- 203) Wang, Y.T., Mohammed, S.D., Farmer, A.D., Wang, D., Zarate, N., Hobson, A.R., Hellström, P.M., Semler, J.R., Kuo, B., Rao, S.S., Hasler, W.L., Camilleri, M., Scott, S.M., 2015. Regional gastrointestinal transit and pH studied in 215 healthy volunteers using the wireless motility capsule: Influence of age, gender, study country and testing protocol. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 42, 761–772. <https://doi.org/10.1111/APT.13329>
- 204) Wardman, J.F., Bains, R.K., Rahfeld, P., Withers, S.G., 2022. Carbohydrate-active enzymes (CAZymes) in the gut microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 20, 542–556. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00712-1>
- 205) WHO, 2022. WHO European Regional Obesity Report 2022 [WWW Document]. URL <http://apps.who.int/bookorders.%0Ahttps://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289057738> (accessed 5.4.24).
- 206) Willis, H.J., Slavin, J.L., 2020. The Influence of Diet Interventions Using Whole, Plant Food on the Gut Microbiome: A Narrative Review. *J. Acad. Nutr. Diet.* 120, 608–623. <https://doi.org/10.1016/J.JAND.2019.09.017>
- 207) Wood, D.E., Lu, J., Langmead, B., 2019. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol.* 20, 1–13. <https://doi.org/10.1186/S13059-019-1891-0/FIGURES/2>
- 208) Wu, G., 2016. Dietary protein intake and human health. *Food Funct.* 7, 1251–1265. <https://doi.org/10.1039/C5FO01530H>
- 209) Wu, G.D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.Y., Keilbaugh, S.A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W.A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F.D., Lewis, J.D., 2011. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* 334, 105. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1208344>
- 210) Yang, J., Pu, J., Lu, S., Bai, X., Wu, Y., Jin, D., Cheng, Y., Zhang, G., Zhu, W., Luo, X., Rosselló-Móra, R., Xu, J., 2020. Species-Level Analysis of Human Gut Microbiota With Metataxonomics. *Front. Microbiol.* 11, 548276. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.02029/BIBTEX>
- 211) Yang, X., Li, A., Li, X., Sun, L., Guo, Y., 2020. An overview of classifications, properties of food polysaccharides and their links to applications in improving food textures. *Trends Food Sci. Technol.* 102, 1–15. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.05.020>
- 212) Yang, Y.J., Kim, M.K., Hwang, S.H., Ahn, Y., Shim, J.E., Kim, D.H., 2010. Relative validities of 3-day food records and the food frequency questionnaire. *Nutr. Res. Pract.* 4, 142. <https://doi.org/10.4162/NRP.2010.4.2.142>
- 213) Ye, S.H., Siddle, K.J., Park, D.J., Sabeti, P.C., 2019. Benchmarking Metagenomics Tools for Taxonomic Classification. *Cell* 178, 779–794. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.07.010>
- 214) Yoon, G., Gaynanova, I., Müller, C.L., 2019. Microbial networks in SPRING - Semi-parametric rank-based correlation and partial correlation estimation for quantitative microbiome data. *Front. Genet.* 10, 449195. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2019.00516/BIBTEX>
- 215) Yu, D., Nguyen, S.M., Yang, Y., Xu, W., Cai, H., Wu, J., Cai, Q., Long, J., Zheng, W., Shu, X.O., 2021. Long-term diet quality is associated with gut microbiome diversity and composition among urban Chinese adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 113, 684–694. <https://doi.org/10.1093/AJCN/NQAA350>
- 216) Yue, Y., Huang, H., Qi, Z., Dou, H.M., Liu, X.Y., Han, T.F., Chen, Y., Song, X.J., Zhang, Y.H., Tu, J., 2020. Evaluating metagenomics tools for genome binning with real metagenomic datasets and CAMI datasets. *BMC Bioinformatics* 21, 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12859-020-03667->

- 217) Zaheer, R., Noyes, N., Ortega Polo, R., Cook, S.R., Marinier, E., Van Domselaar, G., Belk, K.E., Morley, P.S., McAllister, T.A., 2018. Impact of sequencing depth on the characterization of the microbiome and resistome. *Sci. Reports* 2018 8, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24280-8>
- 218) Zeevi, D., Korem, T., Zmora, N., Israeli, D., Rothschild, D., Weinberger, A., Ben-Yacov, O., Lador, D., Avnit-Sagi, T., Lotan-Pompan, M., Suez, J., Mahdi, J.A., Matot, E., Malka, G., Kosower, N., Rein, M., Zilberman-Schapira, G., Dohnalová, L., Pevsner-Fischer, M., Bikovsky, R., Halpern, Z., Elinav, E., Segal, E., 2015. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell* 163, 1079–1094. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.11.001>
- 219) Zeisel, S.H., 2020. Precision (Personalized) Nutrition: Understanding Metabolic Heterogeneity. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051736> 11, 71–92. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-032519-051736>
- 220) Zhang, Y., Qin, C., Yang, L., Lu, R., Zhao, X., Nie, G., 2018. A comparative genomics study of carbohydrate/glucose metabolic genes: from fish to mammals. *BMC Genomics* 19. <https://doi.org/10.1186/S12864-018-4647-4>
- 221) Zhao, J., Li, Z., Gao, Q., Zhao, H., Chen, S., Huang, L., Wang, W., Wang, T., 2021. A review of statistical methods for dietary pattern analysis. *Nutr. J.* 2021 20, 1–18. <https://doi.org/10.1186/S12937-021-00692-7>
- 222) Zhernakova, A., Kurilshikov, A., Bonder, M.J., Tigchelaar, E.F., Schirmer, M., Vatanen, T., Mujagic, Z., Vila, A.V., Falony, G., Vieira-Silva, S., Wang, J., Imhann, F., Brandsma, E., Jankipersadsing, S.A., Joossens, M., Cenit, M.C., Deelen, P., Swertz, M.A., Weersma, R.K., Feskens, E.J.M., Netea, M.G., Gevers, D., Jonkers, D., Franke, L., Aulchenko, Y.S., Huttenhower, C., Raes, J., Hofker, M.H., Xavier, R.J., Wijmenga, C., Fu, J., 2016. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* 352. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAD3369>
- 223) Zhernakova, D. V., Wang, D., Liu, L., Andreu-Sánchez, S., Zhang, Y., Ruiz-Moreno, A.J., Peng, H., Plomp, N., Del Castillo-Izquierdo, Á., Gacesa, R., Lopera-Maya, E.A., Temba, G.S., Kullaya, V.I., van Leeuwen, S.S., Aguirre-Gamboa, R., Deelen, P., Franke, L., Kuivenhoven, J.A., Nolte, I.M., Sanna, S., Snieder, H., Swertz, M.A., Visscher, P.M., Vonk, J.M., Xavier, R.J., de Mast, Q., Joosten, L.A.B., Riksen, N.P., Rutten, J.H.W., Netea, M.G., Sanna, S., Wijmenga, C., Weersma, R.K., Zhernakova, A., Harmsen, H.J.M., Fu, J., 2024. Host genetic regulation of human gut microbial structural variation. *Nat.* 2024 6257996 625, 813–821. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06893-w>
- 224) Zhu, S., Hong, J., Wang, T., 2024. Horizontal gene transfer is predicted to overcome the diversity limit of competing microbial species. *Nat. Commun.* 2024 15, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45154-w>
- 225) Zink, K.D., Lieberman, D.E., 2016. Impact of meat and Lower Palaeolithic food processing techniques on chewing in humans. *Nature* 531, 500–503. <https://doi.org/10.1038/nature16990>
- 226) Zou, Y., Xue, W., Luo, G., Deng, Z., Qin, P., Guo, R., Sun, H., Xia, Y., Liang, S., Dai, Y., Wan, D., Jiang, R., Su, L., Feng, Q., Jie, Z., Guo, T., Xia, Z., Liu, C., Yu, J., Lin, Y., Tang, S., Huo, G., Xu, X., Hou, Y., Liu, X., Wang, J., Yang, H., Kristiansen, K., Li, J., Jia, H., Xiao, L., 2019. 1,520 reference genomes from cultivated human gut bacteria enable functional microbiome analyses. *Nat. Biotechnol.* 2019 37, 179–185. <https://doi.org/10.1038/s41587-018-0008-8>
- 227) Zucker, S., Buttle, D.J., Nicklin, M.J.H., Barrett, A.J., 1985. The proteolytic activities of chymopapain, papain, and papaya proteinase III. *Biochim. Biophys. Acta* 828, 196–204. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(85\)90057-3](https://doi.org/10.1016/0167-4838(85)90057-3)

PIELIKUMI

Izstrādātas uztura dienasgrāmatas fragments

Uztura dienasgrāmatas pieraksta piemērs

Piemērs:
Brokastis Jūs apēdāt 2 rudzu maizes šķēles, ar sviestu, sieru un tomātu, kā arī izdzerat kafiju ar pienu un cukuru

Labā pieraksta piemērs (izmantojot svarus)

10:15	Rudzu maize "ISTENĀ" ar sēklam - 120 g Sviests "RASA" - 15 g Siers Holandes "SMILTENE" - 35 g Tomāts - 120 g Kafija - 250 ml Piens "TALSU" 2,5 % - 65 ml Cukurs - 20 g
~ 10:00	Laba pieraksta piemērs (izmantojot attēlus) Rudzu maize "ISTENĀ" ar sēklam - 2 šķēles Sviests "RASA" - 1 ikšņa gais Siers Holandes "SMILTENE" - 2 ikšņi Tomāts 1 dārze Kafija - 1 tase Piens "TALSU" 2,5 % ~ 50 ml Cukurs - 2 tējkarotes
Brokastis	Slihta pieraksta piemērs Sviestmaizes ar sieru Tomāts Kafija ar pienu un cukuru

Gadījumā, ja Jūs pierakstāt gatavus ēdienus, par tiem ir jāpiemin visa pieejamā informācija.

~ 14:00	Auksta zupa: Kefīrs "Talsu" 2,5% - 150 ml, bietes - 1/2 gab, gurķi - 2 gab, kartupeļi - 1 gab
---------	---

1. diena (dd.mm.gggg)

Medikamenti

Uztura bagātinātāji

Fiziskā slodze

Izstrādātas uztura dienasgrāmatas fragments

Porciju izmēra noteikšana

Dūres izmēra porcija

Plaukstu izmēra porcija

Īkšķa izmēra porcija

Saujas izmēra porcija

1 dūre

2 tkšķi

2 saujas

1 ikšķa gals

1 dūre

1 tkšķis

1 plauksta

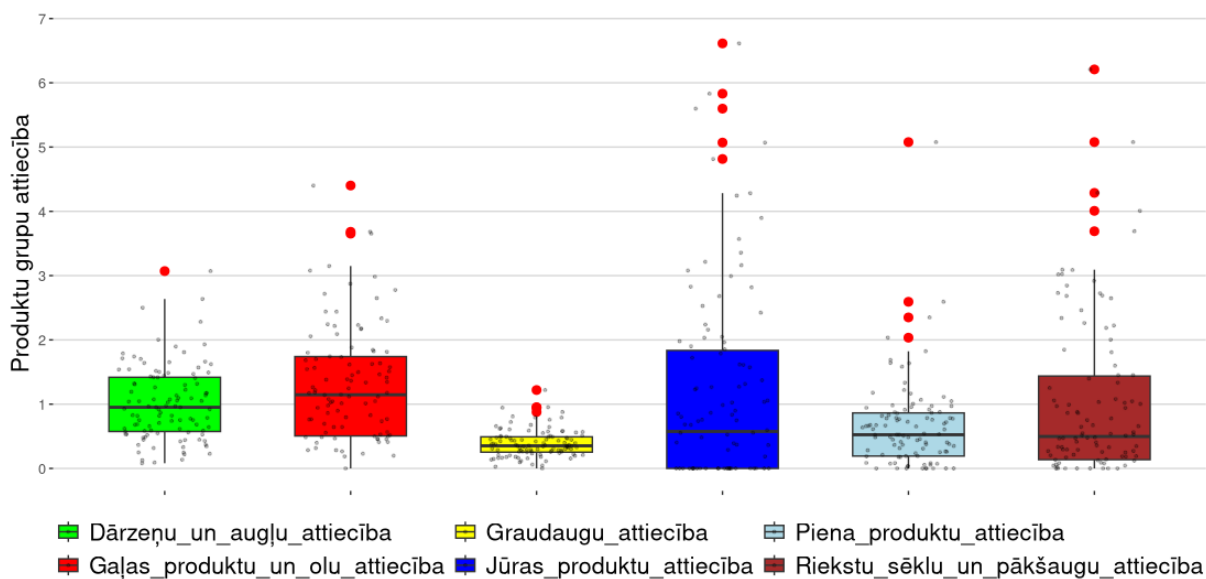
1 dūre

1 sauja

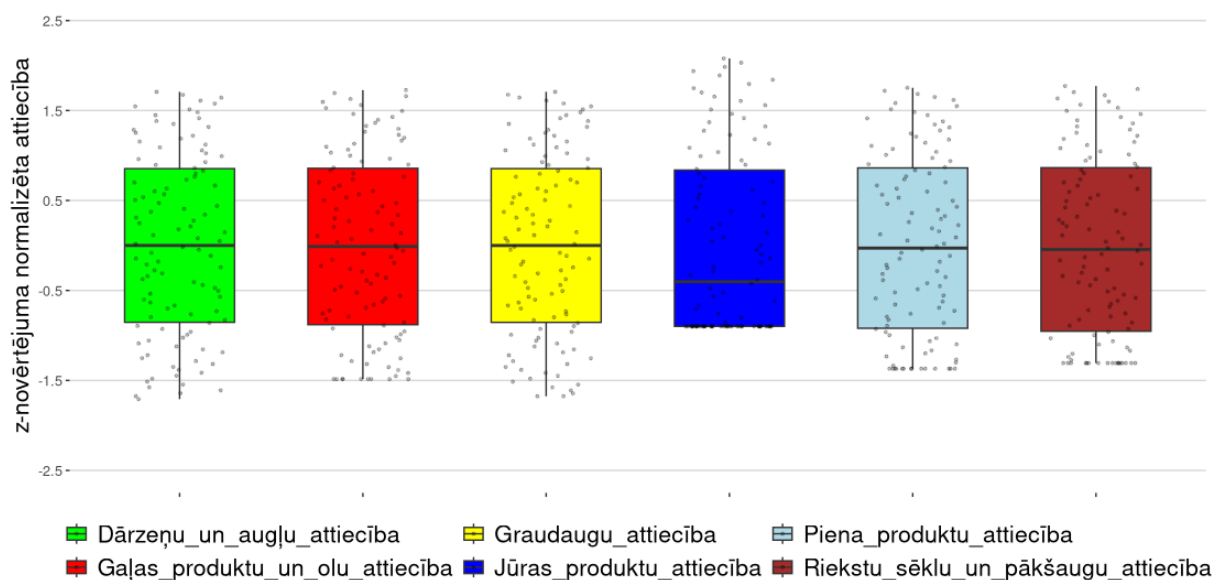
2 saujas

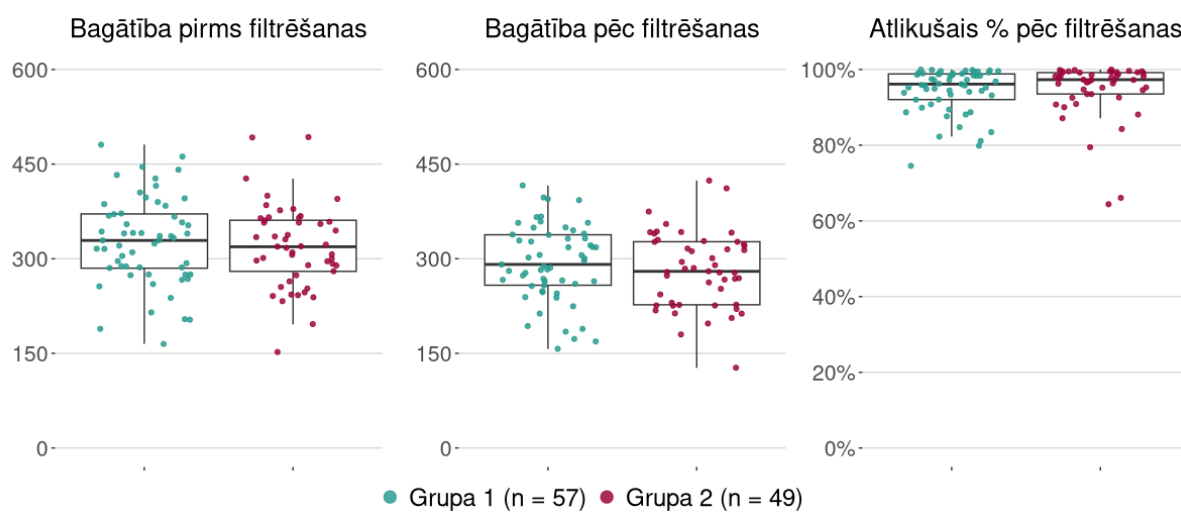
1 plauksta

Aprēķinātas produktu grupu attiecības.

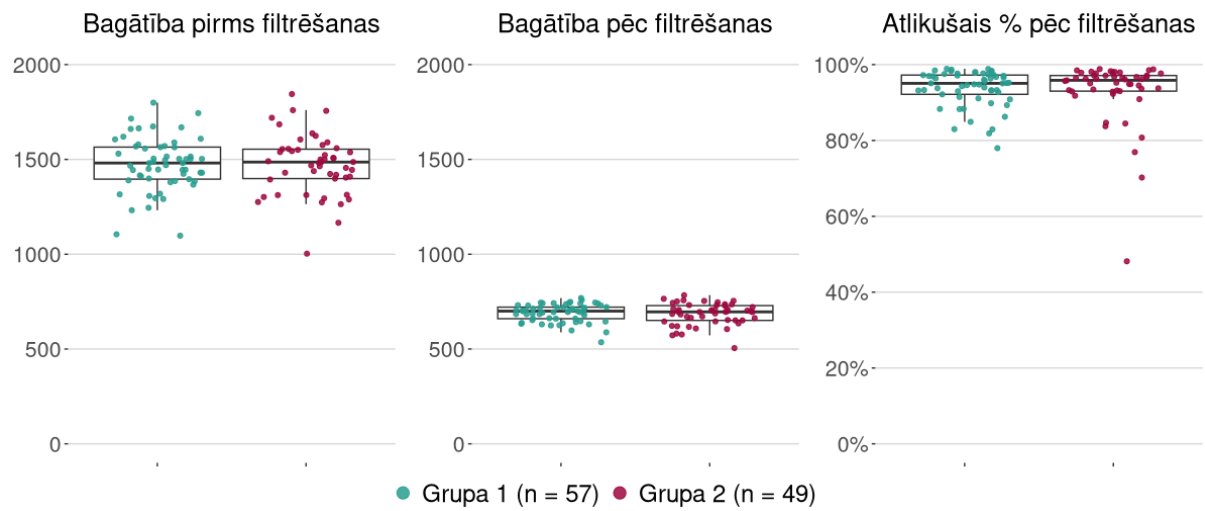


Ar z-novērtējuma metodi normalizētas produktu grupu attiecības.

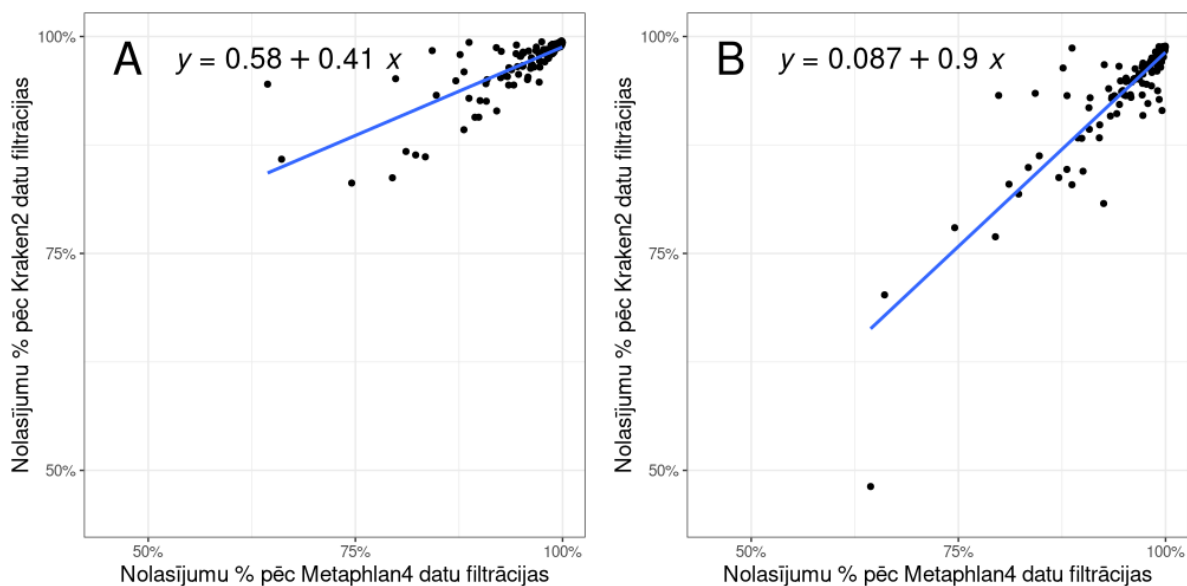


Ar Metaphlan4 rīku klasificēto datu filtrēšanas rezultāti.

Ar Kraken2 rīku klasificēto datu filtrēšanas rezultāti.



Atlikušo klasificēto nolasījumu sastāvdaļa katrā paraugā pēc reto sugu filtrēšanas.



A) Atlikušo sugu proporcionāls daudzums, ja tiek nofiltrētas sugas, kuras nav sastopama vismaz 5% paraugu gan Metaphlan4, gan Kraken2 datos. B) Atlikušo sugu proporcionāls daudzums, ja tiek nofiltrētas sugas, kuras nav sastopamas vismaz 5% paraugu ar Metaphlan4 klasificētos datos un 10% paraugu klasifikāciju veicot ar Kraken2.

**Uzturvielu mediāna uz 100 g produkta, kura aprēķināta no visiem konkrētajā
produktu grupu datubāzē iekļautiem pārtikas produktiem.**

Produktu grupa	Datubāzē iekļauto produktu skaits	Ogļhidrāti (g/100g)	Cukurs (g/100g)	Proteīns (g/100g)	Tauki (g/100g)	Piesātinātās taukskābes (g/100g)
Graudaugi	184	59.9	2.9	9.2	2.9	0.5
Rieksti, sēklas, pakšaugi	67	9	2.6	16.1	28.8	3
Piena produkti	190	3.6	3.2	6.5	9.0	6.0
Jūrasprodukti	38	0	0	15.8	8.5	1.1
Gaļas produkti	74	1.0	0.3	16.5	14.3	5.1
Dārzeni	68	3.7	2.4	1.4	0.2	0.0
Augļi	49	10.4	8.9	0.8	0.3	0

Koeficientu aprēķins katrai produktu grupai.

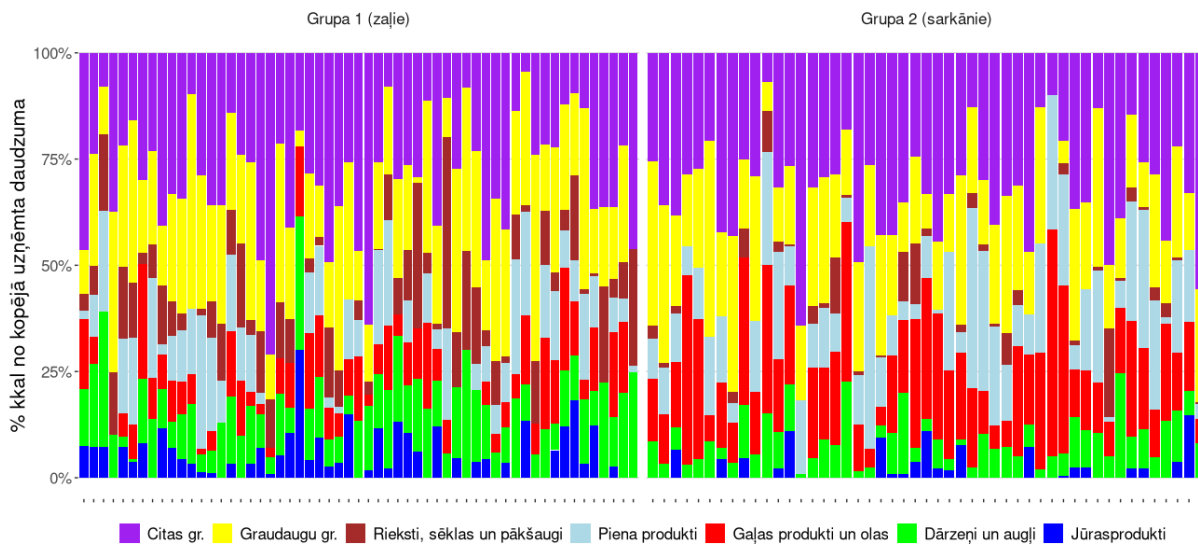
Produktu grupa	«Galvenā» uzturviela, kopā (g)	«Galvenās» uzturvielas mediāna uz 100 g produkta	Koeficients
Graudaugi	180	57 (59.9 - 2.9)	3.2 (180/56.8)
Rieksti, sēklas, pākšaugi	5	16.1	0.3 (5/16.1)
Piena produkti	21	6.5	3.2 (21/6.5)
Jūras produkti	6	15.8	0.4 (6/15.8)
Gaļas produkti	18	16.5	1.1 (18/16.45)
Dārzeni	-	-	2.5
Augļi	-	-	2.5

**Kopējais potenciāli uzņemtais uzturvielu daudzums balstoties uz datubāzē
iekļauto produktu uzturvielu daudzuma mediānu.**

	Ogļhidrāti kopā (g)	Proteīns kopā (g)	Tauki kopā (g)	Kkal, kopā
Graudaugi	191.7 (59.9 * 3.2)	29.4 (9.2 * 3.2)	9.3 (2.9 * 3.2)	968
Rieksti, sēklas, pakšaugi	2.7 (9 * 0.3)	4.8 (16.1 * 0.3)	8.6 (28.8 * 0.3)	107
Piena produkti	11.5 (3.6 * 3.2)	20.8 (6.5 * 3.2)	28.8 (9.0 * 3.2)	388
Jūras produkti	0 (0 * 0.4)	6.3 (15.8 * 0.4)	3.4 (8.5 * 0.4)	56
Gaļas produkti	1.1 (1.0 * 1.1)	18.2 (16.5 * 1.1)	15.7 (14.3 * 1.1)	219
Dārzeņi	9.3 (3.7 * 2.5)	3.5 (1.4 * 2.5)	0.5 (0.2 * 2.5)	56
Augļi	26 (10.4 * 2.5)	2 (0.8 * 2.5)	0.75 (0.3 * 2.5)	119
Kkal, kopā	969 (48.5%)	340 (17%)	603 (30.2%)	1912 (95.6%)

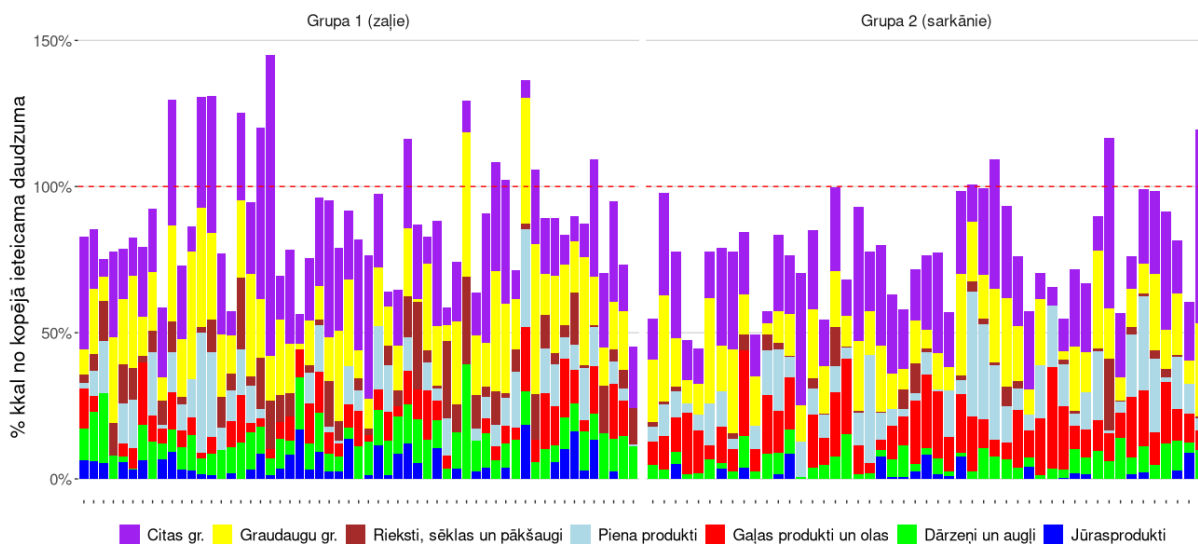
8. - A pielikums

Katras produktu grupas kaloritātes sastāvdaļa atkarībā no kopējā uzņemtā kaloriju daudzuma.



8. - B pielikums

Katras produktu grupas kaloritātes sastāvdaļa atkarībā no individuāli ieteicamā kaloriju daudzuma.



Grupās ietverto indivīdu raksturojošie parametri.

	N	Grupa 1, N = 57¹	Grupa 2, N = 49¹	P-vērtība²
Dzimums	106			0.26
Sieviete		44 (77%)	33 (67%)	
Vīrietis		13 (23%)	16 (33%)	
Vecuma grupa	106			0.18
18-30		8 (14%)	6 (12%)	
31-50		39 (68%)	40 (82%)	
51-64		10 (18%)	3 (6.1%)	
ĶMI	106	22.98 (20.90, 24.91)	23.88 (22.28, 25.65)	0.18
Dzīvesveids	105			0.092
Fiziski neaktīvs		5 (8.9%)	12 (24%)	
Fiziski mazaktīvs		40 (71%)	32 (65%)	
Fiziski aktīvs		10 (18%)	5 (10%)	
Profesionāls sportists		1 (1.8%)	0 (0%)	
Izglītības līmenis	106			0.90
Augstākā		51 (89%)	43 (88%)	
Vidējā		4 (7.0%)	3 (6.1%)	
Vidējā profesionālā		2 (3.5%)	3 (6.1%)	

¹ Mediāna, (IQR); N, (%)

² Pīrsona hī kvadrāta (χ^2) tests, Fišera tiešais tests, Manna-Vitnija U-tests

“Zaļās” grupas bakteriālo centrmezglu salīdzinājums starp ar Metaphlan4 un Kraken2 klasificētiem datiem. Treknrakstā ir izcelti centrmezgli, kuri ir identificēti ar abiem rīkiem.

Bakteriālie centrmezgli “zaļo” grupā ar Metaphlan4 klasifikāciju	Bakteriālie centrmezgli “zaļo” grupā ar Kraken2 klasifikāciju
s__GGB33469_SGB15236 GTDB: s__CAG-170 sp002404795	s__SFMI01_sp004556155
s__GGB9345_SGB14311 GTDB: s__SFEL01_sp004557245	s__UMGS973_sp900547295
s__GGB2958_SGB3940 GTDB: s__UMGS973 sp900547295	s__CAG-238_sp900551415
s__GGB58485_SGB80143 GTDB: g__CAG-238;s__	s__Enterocloster_aldenensis
s__GGB33469_SGB15237 GTDB: g__CAG-170;s__	s__UMGS1696_sp900554225
s__GGB2998_SGB3989 GTDB: s__RF16 sp902785805	s__Agathobaculum_sp900291975
s__GGB9762_SGB15377 GTDB: s__SFMI01 sp004556155	s__Flavonifractor_plautii
s__GGB9637_SGB15111 GTDB: s__CAG-83 sp900757415	s__Lawsonibacter_sp900066645
s__GGB9774_SGB15394 GTDB: s__Spyradocola sp905193155	s__Dysosmobacter_welbionis
s__Pseudoglutamicibacter_SGB14255 GTDB: s__UMGS1696 sp900554225	s__F23-B02_sp002472405
s__GGB9444_SGB14834 GTDB: s__Merdivicinus sp900555435	s__CAG-83_sp900552725
s__GGB79845_SGB14005 GTDB: s__UBA10281 sp900548285	s__CAG-83_sp900548615
	s__MGYG000004702
	s__Bacteroides_uniformis

“Sarkanās” grupas bakteriālo centrmezglu salīdzinājums starp ar Metaphlan4 un Kraken2 klasificētiem datiem. Treknrakstā ir izcelti centrmezgli, kuri ir identificēti ar abiem rīkiem.

Bakteriālie centrmezgli “sarkano” grupā ar Metaphlan4 klasifikāciju	Bakteriālie centrmezgli “sarkano” grupā ar Kraken2 klasifikāciju
s__GGB9345_SGB14311 GTDB: s__SFEL01 sp004557245	s__SFEL01_sp004557245
s__GGB2958_SGB3940 GTDB: s__UMGS973 sp900547295	s__UMGS973_sp900547295
s__Clostridium_sp_AF12_28 GTDB: -	s__Enterocloster_bolteae
s__GGB3614_SGB4886 GTDB: s__CAG-194 sp000432915	s__Enterocloster_citroniae
s__GGB33469_SGB15237 GTDB: g__CAG-170;s__	s__CAG-448_sp003150135
s__GGB9618_SGB15065 GTDB: s__Dysosmobacter sp004553545	s__Agathobaculum_sp900291975
s__GGB34228_SGB72916 GTDB: s__Lawsonibacter sp905215425	s__UBA1777_sp900549645
s__GGB9261_SGB14209 GTDB: s__CAG-448 sp003150135	s__Lawsonibacter_sp900066645
s__Oscillospiraceae_unclassified_SGB15256 GTDB: s__ER4 sp003522105	s__MGYG000004818
s__GGB9766_SGB15383 GTDB: s__Egerieenecus sp900553315	s__MGYG000001841
s__GGB9737_SGB15309 GTDB: g__SFJ001;s__	s__MGYG000001632
s__GGB9595_SGB15019 GTDB: s__Faecousia sp900540635	s__CAG-170_sp002404795
s__GGB9616_SGB15052 GTDB: s__Dysosmobacter sp900550685	s__Prevotella_sp900544825

Maģistra darbs „Cilvēku zarnu trakta mikrobioma rādītāju asociācija ar uztura paradumiem atkarībā no to atbilstības uztura rekomendācijām” izstrādāts LU Bioloģijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un LUISā iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai un/vai e-studijās iesniegtai darba elektroniskai versijai.

Autors: Ņikita Fomins *paraksts* *datums*

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: Dr. biol. Dita Gudrā *paraksts* *datums*

Recenzents: *paraksts* asoc. prof., Dr. med. Daiga Šantare

Darbs iesniegts LU Bioloģijas fakultātē *datums*

Studiju metodiķe: *paraksts*

Darbs aizstāvēts Bioloģijas bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē

prot. Nr. , vērtējums

Komisijas sekretārs/e: