



Оригинальная статья

Возрастная динамика продукции короткоцепочечных жирных кислот кишечной микробиотой у пациентов, не имеющих гастроэнтерологических заболеваний

Затевалов А.М.¹ • Селькова Е.П.¹ • Гудова Н.В.¹ • Оганесян А.С.¹

Затевалов Александр Михайлович – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний¹

✉ 143985, Московская область, г. Балашиха, мкр. Саввино, ул. Детская, 11–5, Российская Федерация.
Тел.: +7 (905) 714 91 14.
E-mail: 89057149114@mail.ru

Селькова Евгения Петровна – д-р мед. наук, руководитель лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний, гл. науч. сотр.¹

Гудова Наталья Владимировна – науч. сотр. лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний¹

Оганесян Арпине Степановна – науч. сотр. лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний¹

Актуальность. Многочисленные биологические эффекты короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) и возможность влиять на их состав с помощью пробиотиков и пребиотиков привлекает повышенное внимание научных исследователей и клиницистов. Однако отсутствуют крупные исследования, посвященные изучению всего спектра КЖК, продуцируемых кишечной микробиотой, а также расчетные индексы, характеризующие их относительное содержание.

Цель – определение статистических характеристик концентраций и соотношений фекальных КЖК (функциональной активности микробиоты кишечника) в зависимости от возраста у пациентов, не имеющих гастроэнтерологических заболеваний. **Материал и методы.** Исследованы концентрации КЖК в фекалиях методом газожидкостной хроматографии у 6836 пациентов в возрасте от 1 месяца до 85 лет, не имеющих функциональной или хронической гастроэнтерологической патологии, инфекционных заболеваний или ожирения. Временные промежутки с однородными значениями показателей были определены путем выявления постоянных тенденций средних (медианных) значений с точностью до месяца у детей младше 5 лет и с точностью до года у пациентов старше года. Полученные выборки показателей для определенных временных интервалов сравнивали по критерию Манна – Уитни для порога значимости 95% ($p < 0,05$). **Результаты.** Проведена описательная статистика абсолютного и относительного содержания КЖК и структурных индексов.

Установлено, что показатели, отражающие функциональную активность кишечной микрофлоры, характеризовались различными критическими этапами динамических возрастных изменений. Для каждого показателя регистрировалось 2–3 этапа изменений, происходящих в раннем возрасте, в основном до 2 лет. Окончательная структура КЖК устанавливалась в 2 года 5 месяцев. Суммарная концентрация КЖК достигала уровня взрослых в 12 лет. Структурный индекс был наиболее чувствительным к интегральному изменению структуры микробиоты. **Заключение.** При проведении клинических исследований эффективности терапевтических вмешательств и при оценке показателей у конкретного пациента для выбора терапии необходимо учитывать возрастные особенности кишечной микробиоты.

Ключевые слова: короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК), кишечная микробиота, возрастная динамика КЖК, дети, взрослые

Для цитирования: Затевалов АМ, Селькова ЕП, Гудова НВ, Оганесян АС. Возрастная динамика продукции короткоцепочечных жирных кислот кишечной микробиотой у пациентов, не имеющих гастроэнтерологических заболеваний. Альманах клинической медицины. 2018;46(2):109–117. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-2-109-117.

Поступила 02.05.2018;
принята к публикации 10.05.2018

¹ ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора; 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, Российская Федерация

За последние годы научный интерес к метаболической функции кишечной микробиоты и, в частности, продукции короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) значительно вырос. Это объясняется определением их разнообразных специфических биологических функций, поддерживающих здоровье человека на системном уровне, и появившимися возможностями влиять на их концентрации с терапевтическими и профилактическими целями. Биологические эффекты конечных метаболитов симбионтных бактерий (КЖК) весьма разнообразны, специфичны для каждого конкретного метаболита, но определяются источником субстрата, концентрацией, местом продукции, соотношением различных КЖК, кроссфиндинг-взаимодействиями микробного сообщества, скоростью всасывания и экспрессией транспортеров [1–5].

Спектр патологических состояний, при которых изучается эффективность терапевтических вмешательств, модулирующих молекулярный и метаболический состав микробиоты, существенно расширился – от лечения функциональных и воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) до разработки новых стратегий управления заболеваемостью кишечными и респираторными инфекциями (в основном у детей), аппетитом, ожирением, нейрорпсихическими расстройствами, аутоиммунными заболеваниями, канцерогенезом, сепсисом и болезнью отторжения трансплантата [6–11].

Исследование продукции КЖК привлекает внимание не только с точки зрения изучения патогенеза актуальных для современного человека заболеваний, но и в качестве маркера состояния слизистой оболочки кишечника, а также функциональной активности, структуры и динамических изменений микробиоты под влиянием терапевтических вмешательств, главным образом, с использованием пробиотиков, пребиотиков, диетических волокон и антибиотиков. В настоящее время определение КЖК в фекалиях доступно для практического применения в качестве метода диагностики функционального состояния ЖКТ у конкретного пациента.

Хорошо известно, что микробиота ребенка, ее популяционный состав, экспрессия генов, ответственных за ферментацию тех или иных субстратов, критически отличается у детей и взрослых [12–14]. Значительные различия касаются и величины продукции КЖК, а также их соотношений [13, 14]. Вместе с тем как в клинических исследованиях, так и при практическом

использовании метода определения КЖК, как правило, не учитываются возрастные особенности их продукции, что может привести к ошибочным выводам относительно эффективности терапевтических вмешательств и неадекватному выбору оптимальной терапии. В настоящее время отсутствуют крупные клинические исследования, которые были бы посвящены определению динамических изменений содержания и соотношений КЖК в фекалиях в зависимости от возраста. Несмотря на метаболические различия состава просветных КЖК и КЖК в фекалиях, практика научных исследований показала, что метод их определения в фекалиях доступен, неинвазивен, недорог, косвенно отражает интенсивность бактериального роста и состояние всего кишечного микробно-тканевого комплекса, а также может быть использован для диагностики различных патологических состояний [14, 15].

Целью данной работы было определение статистических характеристик концентраций и соотношений КЖК в фекалиях (функциональной активности микробиоты кишечника (ФАМК)) в зависимости от возраста у пациентов, не имеющих гастроэнтерологических заболеваний.

Материал и методы

Проведено наблюдательное исследование образцов фекалий (из биологического банка данных ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора) 6836 пациентов в возрасте от 1 месяца до 85 лет. В исследование включены образцы фекалий, собранные у пациентов, обратившихся в консультативно-диагностический центр вышеназванного учреждения в течение 2011–2018 гг. Исследование одобрено независимым этическим комитетом. Перед обследованием пациенты или законные представители несовершеннолетних пациентов подписали добровольное согласие на обработку персональных данных и были информированы о правилах сбора и доставки фекалий в лабораторию. Фекалии собирались после самопроизвольной дефекации (без применения клизм и слабительных) из различных участков порции и доставлялись в лабораторию не позже 12 часов после сбора при условии хранения при температуре +4–6 °С. Фекалии осматривались визуально для определения примеси мочи и менструальной крови, патологических примесей (слизи, крови, гноя). Пациенты собирали образцы самостоятельно и гарантировали правильность сбора. Для исключения вероятного воспалительного процесса в качестве



скринингового теста был выполнен копрологический анализ с подсчетом полиморфноядерных лейкоцитов и определением количественно-качественных характеристик фекалий с использованием полифункциональных диагностических тест-полосок Dekaphan Leuco (PHAN Erba Lachema s.r.o., Чехия).

В исследование включались образцы, которые были характеризованы по Бристольской шкале как 3-й и 4-й тип, у детей первых месяцев жизни – дополнительно как 5-й тип. При наличии патологических примесей, полиморфноядерных лейкоцитов в фекалиях более 5–6 в поле зрения или воспалительного белка, обнаруженных при копрологическом исследовании, образцы отбраковывались. Критериями включения образца в исследование были отсутствие у пациента функциональной или хронической патологии ЖКТ, острых инфекционных заболеваний любых органов и систем, ожирения, что было установлено по клинико-anamnestическим данным, зафиксированным в карте пациента. Гендерные различия не учитывались.

Концентрации КЖК в кале определены методом газо-жидкостной хроматографии подкисленного супернатанта копрофильтрата. Хроматография проводилась на газовом хроматографе Кристалл 5000.2 методом прямого ввода подкисленного супернатанта копрофильтрата в испаритель. Использовалась капиллярная кварцевая металлизированная колонка с неподвижной фазой FFPA. Диаметр колонки 0,3 мм, длина 30 метров. Газ-носитель – азот. Детектор – пламенно-ионизационный. Режим изотерма 150 °С. Расчет концентраций проводился по методу внутреннего стандарта (α -диметилмасляная кислота). Идентификация КЖК проводилась по временам удержания пиков [16].

Метод прямого ввода пробы в испаритель хроматографа позволяет определить спектр КЖК, состоящий из концентраций уксусной, пропионовой, масляной, валериановой, капроновой кислот и их изомеров. Из всего набора вышеперечисленных КЖК 90% массы приходится на уксусную, пропионовую и масляную кислоты. Соотношение концентраций уксусной, пропионовой, масляной кислот в их сумме – важный индикатор целостности микробного сообщества кишечника [17]. Характеристикой функциональной активности симбионтной микробиоты служит структурный индекс, который рассчитывается как отношение суммы концентраций пропионовой, масляной, валериановой, капроновой кислот и их изомеров к концентрации уксусной кислоты

[18]. Протеолитическая активность микробиоты кишечника оценивается по индексу изокислот, который рассчитывается как отношение суммы концентраций изомасляной, изовалериановой, изокапроновой кислот к сумме концентраций масляной, валериановой, капроновой кислот в кале [18].

Статистический анализ. Полученные результаты определения концентраций и соотношений КЖК (ФАМК) были ранжированы по возрасту. Для пациентов в возрасте до 5 лет временные промежутки с однородными значениями показателей были определены путем выявления постоянных тенденций средних (медианных) значений, усредненных для пациентов одного возраста с точностью до месяца, для пациентов старше 5 лет – с точностью до 1 года. Для каждой группы по каждому показателю рассчитали среднее медианное значение и нанесли на графики по возрастам. В результате анализа графиков были выделены области, в которых по медианным значениям определяется тенденция и определенный уровень исследуемого показателя. Далее каждую последующую выборку сравнивали с предыдущей по U-критерию Манна – Уитни для порога значимости 95% ($p < 0,05$). Если показатель p был более 0,05, временные интервалы объединяли и рассматривали как один временной интервал. Описательная статистика по показателям абсолютной концентрации КЖК, расчетных индексов представлена в виде среднего, нижнего и верхнего квартилей, стандартного отклонения, стандартной ошибки и дисперсии.

Результаты

Показатели функциональной активности фекальной микробиоты для различных возрастных групп даны в таблице.

Результаты исследований показали, что изменение средних значений для суммарной концентрации летучих жирных кислот характеризовалось незначительным снижением показателя с 67,34 до 63,51 ммоль/г для возрастной группы старше 12 лет.

Однако для каждого показателя ФАМК были характерны различные периоды изменения значений. Изменения значений показателей ФАМК наблюдались в первые 2 года жизни, за исключением концентрации валериановой кислоты, которая увеличивалась первый раз в 14 месяцев, а второй раз в возрасте 29 месяцев (2 года 5 месяцев). Изменения показателей ФАМК для возрастных групп старше 2 лет 5 месяцев достоверно не

различались, а средние (погодные) значения не имели тенденции к росту или снижению.

Концентрации КЖК имели общую тенденцию к увеличению значений с возрастом, за исключением концентрации уксусной кислоты, которая имела максимальное значение в возрастной группе 0–14 месяцев, а после 14 месяцев достоверно снижалась на 10 мкмоль/г кала. При оценке доли концентрации уксусной кислоты в общем пуле летучих жирных кислот можно отметить первое достоверное снижение значения концентрации на 3% в возрасте 4 месяцев, а второе снижение значений на 10% в возрасте 14 месяцев.

Из таблицы видно, что первый порог повышения концентрации пропионовой и масляной кислот наблюдался в возрасте 6 месяцев. Наиболее значительное повышение отмечено для концентрации пропионовой кислоты на 3 мкмоль/г при повышении концентрации масляной кислоты на 1 мкмоль/г. Синхронное повышение концентрации масляной кислоты на 2 мкмоль/г (на 3%) и снижение уксусной на 10 мкмоль/г (на 10%) происходило в возрасте 14 месяцев. В последующие временные промежутки концентрации и соотношения уксусной и масляной кислот не менялись. Формирование относительно стабильной структуры ФАМК характеризовалось установлением постоянных концентраций и соотношений уксусной, пропионовой и масляной кислот в возрасте 2 лет с увеличением концентрации пропионовой кислоты на 2 мкмоль/г (на 2%). Соотношение концентраций уксусной, пропионовой, масляной кислот для детей старше 2 лет и взрослых равно 70:18:12% соответственно.

Пороговые изменения концентрации уксусной и масляной кислот, а также пропионовой кислоты повлияли на изменения значений структурного индекса. С ростом активности анаэробных бактерий увеличивалось значение структурного индекса с 0,29 до 0,37 в первые 6 месяцев; с 0,37 до 0,5 в возрасте 14 месяцев и с 0,5 до 0,55 с 2 лет и старше.

С увеличением концентраций масляной и пропионовой кислот повышалось содержание изокилот и кислот с большой длиной углеродной цепи. В первые 4 месяца жизни увеличивалась концентрация и доля изомасляной кислоты с 0,54 до 0,85 мкмоль/г (с 0,96 до 1,34%), что повлияло на изменение параметра протеолитической активности (индекса изокилот – соотношение концентраций изомеров и линейных форм), который увеличился с 0,25 до 0,36 ед. Дальнейший рост концентраций изокилот и КЖК с большой длиной цепи

наблюдался в возрасте 6 месяцев для изовалериановой кислоты, в возрасте 14 месяцев для валериановой кислоты, в возрасте 18 месяцев для изокапроновой и изовалериановой кислот, в 29 месяцев для валериановой кислоты (см. таблицу). Концентрации капроновой и изокапроновой кислот с возрастом достоверно не изменялись и были зафиксированы на уровне 0,01 и 0,02 мкмоль/г кала соответственно.

Обсуждение

Настоящая публикация отражает результаты первого крупного исследования концентраций всего спектра КЖК в фекалиях, включая изоформы и кислоты с большой длиной углеродной цепи. Дополнительным его преимуществом считаем определение относительного содержания КЖК и расчетных индексов (структурный, индекс изокилот), характеризующих структуру бактериального сообщества кишечника [17, 18].

Результаты детального статистического анализа, дополнительно к известным ранее данным подтвердили, что динамическое развитие младенческой микрофлоры происходит с двумя критическими этапами – в 6 месяцев, после введения прикорма, и после 14–24 месяцев с расширением рациона питания и снижением в нем доли молока, отъемом от груди. Несмотря на широкую вариабельность показателей у пациентов старше 2 лет, не было выявлено статистических различий концентраций КЖК и расчетных индексов во всех возрастных группах, включая пациентов старше 65 лет.

Действительно, микробиота младенца развивается поэтапно в зависимости от характера питания и созревания иммунной системы, а также под влиянием колонизации бактериями и вирусами из ближайшего окружения и вследствие расширения контактов ребенка. Микробиота кишечника младенцев обладает низкой ферментирующей способностью, так как компоненты грудного молока легко всасываются и не требуют обработки микробиотой. Высокая концентрация уксусной кислоты является следствием ферментации олигосахаридов *Bifidobacterium*. Динамические изменения концентраций КЖК по мере взросления ребенка отражают развитие микробиоты от доминирования *Bifidobacterium*, продуцирующих ацетат и лактат, до более сложной структуры с повышением количества *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (образующих ацетат, пропионат и бутират в качестве основных конечных продуктов деградации крахмала и мукополисахаридов) и повышением отношения



Показатели абсолютного содержания и соотношения короткоцепочечных жирных кислот в фекалиях у пациентов различных возрастных групп

Показатель/ возраст	Количество исследований	Среднее (интерквартильный разброс)	Дисперсия	Стандартная ошибка среднего	Стандартное отклонение
Общий уровень, ммоль/г					
0–12 лет	1672	67,34 (43,66–101,59)	2639,54	1,26	51,38
12–85 лет	5176	63,51 (41,45–98,65)	2692,8	0,72	51,89
Структурный индекс, ед.					
0–6 мес.	281	0,29 (0,17–0,43)	0,05	0,01	0,22
6–14 мес.	177	0,37 (0,26–0,49)	0,05	0,02	0,23
14–24 мес.	228	0,5 (0,36–0,66)	0,08	0,02	0,29
2–85 лет	6162	0,55 (0,43–0,71)	1338,95	0,47	36,59
Индекс изокилот, ед.					
0–4 мес.	206	0,25 (0,13–0,47)	0,56	0,05	0,75
4 мес. – 85 лет	6642	0,36 (0,21–0,55)	0,71	0,01	0,84
Уксусная кислота, ммоль/г					
0–14 мес.	458	50,21 (32,67–76,09)	1650,81	1,9	40,63
14 мес. – 85 лет	6390	40,37 (26,95–61,59)	1084,2	0,41	32,93
Пропионовая кислота, ммоль/г					
0–6 мес.	281	5,95 (2,86–13,05)	73,41	0,51	8,57
6–24 мес.	405	8,75 (5,16–14,46)	124,66	0,55	11,17
2–85 лет	6162	10,47 (6,11–17,56)	118,14	0,14	10,87
Изомасляная кислота, ммоль/г					
0–4 мес.	206	0,54 (0,24–1,24)	0,83	0,06	0,91
4–18 мес.	341	0,85 (0,47–1,43)	1,66	0,07	1,29
18 мес. – 85 лет	6301	1,28 (0,79–2,11)	3,71	0,02	1,93
Масляная кислота, ммоль/г					
0–6 мес.	281	3,92 (1,99–7,46)	45,97	0,4	6,78
6–14 мес.	177	5 (2,53–9,54)	73,94	0,65	8,6
14 мес. – 85 лет	6390	7,27 (3,75–13,61)	86,95	0,12	9,32
Изовалериановая кислота, ммоль/г					
0–6 мес.	281	0,44 (0,18–0,76)	0,43	0,04	0,65
6–18 мес.	266	0,78 (0,38–1,36)	1,79	0,08	1,34
18 мес. – 85 лет	6301	1,3 (0,78–2,24)	7,45	0,03	2,73
Валериановая кислота, ммоль/г					
0–14 мес.	458	0,2 (0,08–0,39)	0,53	0,03	0,73
14–29 мес.	301	0,42 (0,21–1,04)	0,83	0,05	0,91
29 мес. – 85 лет	6089	1,08 (0,57–1,88)	1,48	0,02	1,22
Изокапроновая кислота	6848	0,01 (0,01–0,02)	0,02	0	0,16
Капроновая кислота	6848	0,02 (0,01–0,21)	0,27	0,01	0,52
Доля уксусной кислоты в сумме «уксусная, пропионовая, масляная кислота», %					
0–8 мес.	326	79,4 (72,89–87,31)	109,35	0,58	10,46
8–14 мес.	132	75,03 (66,91–80,49)	106,61	0,9	10,33
14 мес. – 85 лет	6390	69,4 (63,36–75,11)	85,48	0,12	9,25
Доля пропионовой кислоты в сумме «уксусная, пропионовая, масляная кислота», %					
0–8 мес.	326	11,52 (5,72–17,58)	68,53	0,46	8,28
8–24 мес.	360	15,01 (10,65–20,69)	55,11	0,39	7,42
2–85 лет	6162	17,64 (14,4–21,19)	33,1	0,07	5,75



Доля масляной кислоты в сумме «уксусная, пропионовая, масляная кислота», %

0–8 мес.	326	6,05 (3,25–11,62)	49,43	0,39	7,03
8–14 мес.	132	9,66 (5,82–13,7)	54,67	0,64	7,39
14 мес. – 85 лет	6390	12,11 (8,75–16,37)	39,9	0,08	6,32

Уксусная кислота, %

0–4 мес.	206	77,19 (69,47–86,47)	138,71	0,82	11,78
4–14 мес.	252	74,34 (68,16–81,14)	118,64	0,69	10,89
14 мес. – 85 лет	6390	64,61 (58,49–70,23)	87,99	0,12	9,38

Пропионовая кислота, %

0–6 мес.	281	10,4 (5,37–17,37)	69,8	0,5	8,35
6–24 мес.	405	14,09 (10,08–19,15)	45,16	0,33	6,72
2–85 лет	6162	16,33 (13,44–19,58)	27,51	0,07	5,24

Изомасляная кислота, %

0–4 мес.	206	0,96 (0,43–1,68)	1,1	0,07	1,05
4–18 мес.	341	1,34 (0,72–2,1)	2,08	0,08	1,44
18 мес. – 85 лет	6301	2,11 (1,45–2,92)	2,86	0,02	1,69

Масляная кислота, %

0–6 мес.	281	5,74 (3,14–10,93)	49,07	0,42	7
6–14 мес.	177	8,53 (5,09–12,89)	44,47	0,5	6,67
14 мес. – 85 лет	6390	11,27 (8,2–15,18)	34,17	0,07	5,85

Изовалериановая кислота, %

0–6 мес.	281	0,6 (0,32–1,05)	0,96	0,06	0,98
6–18 мес.	266	1,39 (0,57–2,27)	2,08	0,09	1,44
18 мес. – 85 лет	6301	2,24 (1,38–3,34)	2,94	0,02	1,71

Валериановая кислота, %

0–14 мес.	458	0,36 (0,11–0,61)	0,5	0,03	0,7
14–29 мес.	301	0,76 (0,31–1,62)	2,17	0,08	1,47
29 мес. – 85 лет	6089	1,8 (1,21–2,37)	1,21	0,01	1,1

Выборки соседних повозрастных подгрупп для каждого показателя статистически значимо отличались друг от друга ($p < 0,05$, U-критерий Манна – Уитни)

Firmicutes / Bacteroidetes [13, 14, 19, 20]. Интересно, что суммарная концентрация КЖК отличается у детей младше 12 лет от подростков и взрослых. Ранее было показано, что в составе микробиоты подростков концентрация *Bifidobacterium* и *Clostridium* выше, чем у взрослых, а преобладание группы *Bacteroides – Prevotella – Porphyromonas* достигается в позднем подростковом возрасте [21, 22].

Адаптация микробиоты после смены рациона питания или изменений, связанных со становлением иммунной системы, требует некоторого времени. Доминирующие до этого группы микроорганизмов теряют субстратное преимущество и уступают его другим видам. Для реализации смены доминирующих штаммов должно пройти какое-то время, чем и объясняется отставание изменений ФАМК от сроков физиологических изменений. Становление способности микрофлоры к деградации муцина и других белковых субстратов

также происходит медленно: возникает после 3 месяцев жизни и достигает примерного уровня взрослых после 20 месяцев [23, 24] по мере расширения в рационе твердой белковой пищи и повышения микробного разнообразия. Способностью к продукции изомасляной, изовалериановой и валериановой кислот обладают различные бактерии (*Bacteroides, Peptococcus, Ruminococcus*) [24, 25], поэтому рост их концентраций к 14–18 месяцам отражает увеличение микробиологического разнообразия кишечника ребенка.

В целом, полученные результаты соответствуют опубликованным данным о сроках становления и продукции основных КЖК в раннем детстве с относительно стабильными показателями на протяжении всей жизни. Исключение составляет исследование С.И. Gill и соавт., которое показало, что у пожилых европейцев концентрации уксусной, масляной и пропионовой кислот были ниже, чем у молодых взрослых [26].



В качестве ограничения настоящего исследования следует упомянуть отсутствие сравнительных данных в зависимости от характера вскармливания детей первых месяцев жизни (грудное или искусственное). Однако отметим: именно разница между данными категориями пациентов изучена наиболее полно [13, 14]. Кроме того, в связи с отсутствием данных не учитывались другие заболевания у взрослых, в том числе вероятная кардиоваскулярная патология у пожилых пациентов, что теоретически могло оказать влияние на результаты. Распространенность данной патологии у пациентов старше 65 лет достаточно велика, что следует учитывать при оценке результатов.

Авторы поддерживают следующее мнение К.А. Verbeke и соавт.: поскольку микробиота характеризуется значительной степенью функциональной избыточности, иными словами, различные бактерии способны выполнять аналогичные функции, метаболизировать одни и те же субстраты и продуцировать подобные метаболиты, изучение ферментативной активности микробиоты, а не ее состава, может быть более

актуальным для оценки результативности терапевтических вмешательств [19].

Выводы

- Концентрации КЖК, их относительное содержание и структурные индексы, отражающие ФАМК, характеризуются различными критическими этапами динамических возрастных изменений. Для конкретных показателей регистрируются 2–3 этапа изменений, происходящих в раннем возрасте, в основном до 2 лет.
- Окончательная структура ФАМК устанавливается в 2 года 5 месяцев.
- Суммарная концентрация КЖК достигает уровня взрослых в 12 лет.
- Структурный индекс наиболее чувствителен к интегральному изменению структуры микробиоты.
- Возрастные особенности кишечной микробиоты следует учитывать при проведении клинических исследований эффективности терапевтических вмешательств и при оценке показателей у конкретного пациента для выбора терапии. ©

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Литература

1. Havenaar R. Intestinal health functions of colonic microbial metabolites: a review. *Benef Microbes*. 2011;2(2):103–14. doi: 10.3920/BM2011.0003.
2. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 2014;121:91–119. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9.
3. Cavaliere M, Feng S, Soyer OS, Jiménez JI. Cooperation in microbial communities and their biotechnological applications. *Environ Microbiol*. 2017;19(8):2949–63. doi: 10.1111/1462-2920.13767.
4. Li M, van Esch BCAM, Henricks PAJ, Garsen J, Folkerts G. Time and concentration dependent effects of short chain fatty acids on lipopolysaccharide- or tumor necrosis factor α -induced endothelial activation. *Front Pharmacol*. 2018;9:233. doi: 10.3389/fphar.2018.00233.
5. Sivaprakasam S, Bhutia YD, Yang S, Ganapathy V. Short-chain fatty acid transporters: role in colonic homeostasis. *Compr Physiol*. 2017;8(1):299–314. doi: 10.1002/cphy.c170014.
6. Sivaprakasam S, Prasad PD, Singh N. Benefits of short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis. *Pharmacol Ther*. 2016;164:144–51. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.04.007.
7. Bruce-Keller AJ, Salbaum JM, Berthoud HR. Harnessing gut microbes for mental health: getting from here to there. *Biol Psychiatry*. 2018;83(3):214–23. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.08.014.
8. Berni Canani R, De Filippis F, Nocerino R, Laiola M, Paparo L, Calignano A, De Caro C, Coretti L, Chiariotti L, Gilbert JA, Ercolini D. Specific Signatures of the Gut Microbiota and Increased Levels of Butyrate in Children Treated with Fermented Cow's Milk Containing Heat-Killed *Lactobacillus paracasei* CBA L74. *Appl Environ Microbiol*. 2017;83(19). pii: e01206–17. doi: 10.1128/AEM.01206-17.
9. Rastelli M, Knauf C, Cani PD. Gut microbes and health: a focus on the mechanisms linking microbes, obesity, and related disorders. *Obesity (Silver Spring)*. 2018;26(5):792–800. doi: 10.1002/oby.22175.
10. Yoshioka K, Kakihana K, Doki N, Ohashi K. Gut microbiota and acute graft-versus-host disease. *Pharmacol Res*. 2017;122:90–5. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.028.
11. Yamada T, Shimizu K, Ogura H, Asahara T, Nomoto K, Yamakawa K, Hamasaki T, Nakahori Y, Ohnishi M, Kuwagata Y, Shimazu T. Rapid and sustained long-term decrease of fecal short-chain fatty acids in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *JPN J Parenter Enteral Nutr*. 2015;39(5):569–77. doi: 10.1177/0148607114529596.
12. Guarino A, Canani RB. Probiotics in childhood diseases: from basic science to guidelines in 20 years of research and development. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016;63 Suppl 1:S1–2. doi: 10.1097/MPG.0000000000001220.
13. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H, Zhong H, Khan MT, Zhang J, Li J, Xiao L, Al-Aama J, Zhang D, Lee YS, Kotowska D, Colding C, Tremaroli V, Yin Y, Bergman S, Xu X, Madsen L, Kristiansen K, Dahlgren J, Wang J. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):690–703. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.004.
14. Bridgman SL, Azad MB, Field CJ, Haqq AM, Becker AB, Mandhane PJ, Subbarao P, Turvey SE, Sears MR, Scott JA, Wishart DS, Kozyrskyj AL; CHILD Study Investigators. Fecal Short-Chain Fatty Acid Variations by Breastfeeding Status in Infants at 4 Months: Differences in Relative versus Absolute Concentrations. *Front Nutr*. 2017;4:11. doi: 10.3389/fnut.2017.00011.
15. Martin FP, Moco S, Montoliu I, Collino S, Da Silva L, Rezzi S, Prieto R, Kussmann M, Inostroza J, Steenhout P. Impact of breast-feeding and high- and low-protein formula on the metabolism and growth of infants from overweight and obese mothers. *Pediatr Res*. 2014;75(4): 535–43. doi: 10.1038/pr.2013.250.
16. Shenderov BA. Probiotic (symbiotic) bacterial languages. *Anaerobe*. 2011;17(6):490–5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.05.009.
17. Ардатская МД, Дубинин АВ, Минускин ОН. Дисбактериоз кишечника: современные



аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения. *Терапевтический архив*. 2001;(2):67–72.

18. Затевалов АМ, Киселева ИА, Копанев ЮА, Аleshкин АВ, Афанасьев СС, Селькова ЕП. Влияние бактериофагов на микрофлору толстой кишки. В: *Материалы международной научно-практической конференции «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности»*, Ульяновск, 23–25 апреля 2013 г. Т. 2. Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина; 2013. с. 9–14.
19. Verbeke KA, Boobis AR, Chiodini A, Edwards CA, Franck A, Kleerebezem M, Nauta A, Raes J, van Tol EA, Tuohy KM. Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutr Res Rev*. 2015;28(1):42–66. doi: 10.1017/S0954422415000037.
20. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimaraes V, Sokol H, Doré J, Corthier G, Furet JP. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol*. 2009;9:123. doi: 10.1186/1471-2180-9-123.
21. Agans R, Rigsbee L, Kenche H, Michail S, Khamis HJ, Paliy O. Distal gut microbiota of adolescent children is different from that of adults. *FEMS Microbiol Ecol*. 2011;77(2):404–12. doi: 10.1111/j.1574-6941.2011.01120.x.
22. Balamurugan R, Janardhan HP, George S, Chittaranjan SP, Ramakrishna BS. Bacterial succession in the colon during childhood and adolescence: molecular studies in a southern Indian village. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(6):1643–7. doi: 10.3945/ajcn.2008.26511.
23. Midtvedt AC, Carlstedt-Duke B, Midtvedt T. Establishment of a mucin-degrading intestinal microflora during the first two years of human life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1994;18(3):321–6.
24. Derrien M, van Passel MW, van de Bovenkamp JH, Schipper RG, de Vos WM, Dekker J. Mucin-bacterial interactions in the human oral cavity and digestive tract. *Gut Microbes*. 2010;1(4):254–68. doi: 10.4161/gmic.1.4.12778.
25. Lagkouvardos I, Kläring K, Heinzmann SS, Platz S, Scholz B, Engel KH, Schmitt-Kopplin P, Haller D, Rohn S, Skurk T, Clavel T. Gut metabolites and bacterial community networks during a pilot intervention study with flaxseeds in healthy adult men. *Mol Nutr Food Res*. 2015;59(8):1614–28. doi: 10.1002/mnfr.201500125.
26. Gill CI, Heavey P, McConville E, Bradbury I, Fässler C, Mueller S, Cresci A, Dore J, Norin E, Rowland I. Effect of fecal water on an in vitro model of colonic mucosal barrier function. *Nutr Cancer*. 2007;57(1):59–65. doi: 10.1080/01635580701268220.
1. Havenaar R. Intestinal health functions of colonic microbial metabolites: a review. *Benef Microbes*. 2011;2(2):103–14. doi: 10.3920/BM2011.0003.
2. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 2014;121:91–119. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9.
3. Cavaliere M, Feng S, Soyer OS, Jiménez JI. Cooperation in microbial communities and their biotechnological applications. *Environ Microbiol*. 2017;19(8):2949–63. doi: 10.1111/1462-2920.13767.
4. Li M, van Esch BCAM, Henricks PAJ, Garssen J, Folkerts G. Time and concentration dependent effects of short chain fatty acids on lipopolysaccharide- or tumor necrosis factor α -induced endothelial activation. *Front Pharmacol*. 2018;9:233. doi: 10.3389/fphar.2018.00233.
5. Sivaprakasam S, Bhutia YD, Yang S, Ganapathy V. Short-chain fatty acid transporters: role in colonic homeostasis. *Compr Physiol*. 2017;8(1):299–314. doi: 10.1002/cphy.c170014.
6. Sivaprakasam S, Prasad PD, Singh N. Benefits of short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis. *Pharmacol Ther*. 2016;164:144–51. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.04.007.
7. Bruce-Keller AJ, Salbaum JM, Berthoud HR. Harnessing gut microbes for mental health: getting from here to there. *Biol Psychiatry*. 2018;83(3):214–23. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.08.014.
8. Berni Canani R, De Filippis F, Nocerino R, Laiola M, Paparo L, Calignano A, De Caro C, Coretti L, Chiariotti L, Gilbert JA, Ercolini D. Specific Signatures of the Gut Microbiota and Increased Levels of Butyrate in Children Treated with Fermented Cow's Milk Containing Heat-Killed *Lactobacillus paracasei* CBA L74. *Appl Environ Microbiol*. 2017;83(19). pii: e01206–17. doi: 10.1128/AEM.01206-17.
9. Rastelli M, Knauf C, Cani PD. Gut microbes and health: a focus on the mechanisms linking microbes, obesity, and related disorders. *Obesity (Silver Spring)*. 2018;26(5):792–800. doi: 10.1002/oby.22175.
10. Yoshioka K, Kakihana K, Doki N, Ohashi K. Gut microbiota and acute graft-versus-host disease. *Pharmacol Res*. 2017;122:90–5. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.028.
11. Yamada T, Shimizu K, Ogura H, Asahara T, Nomoto K, Yamakawa K, Hamasaki T, Nakahori Y, Ohnishi M, Kuwagata Y, Shimazu T. Rapid and sustained long-term decrease of fecal short-chain fatty acids in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2015;39(5):569–77. doi: 10.1177/0148607114529596.
12. Guarino A, Canani RB. Probiotics in childhood diseases: from basic science to guidelines in 20 years of research and development. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016;63 Suppl 1:S1–2. doi: 10.1097/MPG.0000000000001220.
13. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H, Zhong H, Khan MT, Zhang J, Li J, Xiao L, Al-Aama J, Zhang D, Lee YS, Kotowska D, Colding C, Tremaroli V, Yin Y, Bergman S, Xu X, Madsen L, Kristiansen K, Dahlgren J, Wang J. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):690–703. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.004.
14. Bridgman SL, Azad MB, Field CJ, Haqq AM, Becker AB, Mandhane PJ, Subbarao P, Turvey SE, Sears MR, Scott JA, Wishart DS, Kozyrskyj AL; CHILD Study Investigators. Fecal Short-Chain Fatty Acid Variations by Breastfeeding Status in Infants at 4 Months: Differences in Relative versus Absolute Concentrations. *Front Nutr*. 2017;4:11. doi: 10.3389/fnut.2017.00011.
15. Martin FP, Moco S, Montoliu I, Collino S, Da Silva L, Rezzi S, Prieto R, Kussmann M, Inostroza J, Steenhout P. Impact of breast-feeding and high- and low-protein formula on the metabolism and growth of infants from overweight and obese mothers. *Pediatr Res*. 2014;75(4):535–43. doi: 10.1038/pr.2013.250.
16. Shenderov BA. Probiotic (synbiotic) bacterial languages. *Anaerobe*. 2011;17(6):490–5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.05.009.
17. Ardatskaya MD, Dubinin AV, Minushkin ON. Intestinal dysbiosis: the state-of-the-art, principles of diagnosis and treatment. *Terapevticheskij arkhiv*. 2001;(2):67–72. Russian.
18. Zatevalov AM, Kiseleva IA, Kopanев YuA, Aleshkin AV, Afanasev SS, Selkova EP. Effects of bacteriophages on the colon microbiome. In: *Proceedings of the International Research and Practice Conference “Bacteriophages: theoretical and practical aspects of their use in human and veterinary medicine and food industry”*; Ulyanovsk, 23–25 April 2013. Vol. 2. Ulyanovsk: UGSKHA im. P.A. Stolypina; 2013. p. 9–14. Russian.
19. Verbeke KA, Boobis AR, Chiodini A, Edwards CA, Franck A, Kleerebezem M, Nauta A, Raes J, van Tol EA, Tuohy KM. Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutr Res Rev*. 2015;28(1):42–66. doi: 10.1017/S0954422415000037.
20. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimaraes V, Sokol H, Doré J, Corthier G, Furet JP. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human



- microbiota changes with age. *BMC Microbiol.* 2009;9:123. doi: 10.1186/1471-2180-9-123.
21. Agans R, Rigsbee L, Kenche H, Michail S, Khamis HJ, Paliy O. Distal gut microbiota of adolescent children is different from that of adults. *FEMS Microbiol Ecol.* 2011;77(2):404–12. doi: 10.1111/j.1574-6941.2011.01120.x.
22. Balamurugan R, Janardhan HP, George S, Chit-taranjan SP, Ramakrishna BS. Bacterial suc-cession in the colon during childhood and adoles-cence: molecular studies in a southern Indian village. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(6):1643–7. doi: 10.3945/ajcn.2008.26511.
23. Midtvedt AC, Carlstedt-Duke B, Midtvedt T. Es-tablishment of a mucin-degrading intestinal microflora during the first two years of human life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1994;18(3): 321–6.
24. Derrien M, van Passel MW, van de Boven-kamp JH, Schipper RG, de Vos WM, Dek-ker J. Mucin-bacterial interactions in the human oral cavity and digestive tract. *Gut Microbes.* 2010;1(4):254–68. doi: 10.4161/gmic.1.4.12778.
25. Lagkouvardos I, Kläring K, Heinzmann SS, Platz S, Scholz B, Engel KH, Schmitt-Kop-plin P, Haller D, Rohn S, Skurk T, Clavel T. Gut metabolites and bacterial community net-works during a pilot intervention study with flaxseeds in healthy adult men. *Mol Nutr Food Res.* 2015;59(8):1614–28. doi: 10.1002/mnfr.201500125.
26. Gill CI, Heavey P, McConville E, Bradbury I, Fässler C, Mueller S, Cresci A, Dore J, Norin E, Rowland I. Effect of fecal water on an in vi-tro model of colonic mucosal barrier func-tion. *Nutr Cancer.* 2007;57(1):59–65. doi: 10.1080/01635580701268220.

Age-related changes in production of short-chain fatty acids by gut microbiome in patients without gastroenterological diseases

A.M. Zatevalov¹ • E.P. Selkova¹ • N.V. Gudova¹ • A.S. Oganessian¹

Rationale: Multiple biological effects of short chain fatty acids (SCFA) and the possibility to modify their composition by probiotics and prebiotics is in the focus of attention of researchers and clinicians. However, big studies with assessment of the whole spectrum of SCFA produced by gut microbiome and calculated indexes of their relative content are lacking. **Aim:** To determine concentrations and ratios of fecal SCFA (functional activity of the gut microbiome) depending on the age of patients without gastrointestinal disorders. **Materials and methods:** SCFA fecal concentrations were measured by gas liquid chromatography in 6836 patients aged from 1 month to 85 years without any functional or chronic gastrointestinal pathology, infectious diseases and/or obesity. The time periods with homogenous values of the parameters were determined by identification of constant trends of their means (medians) with 1-month accuracy in children below 5 years of age and with 1-year accuracy in the patients above 1 years of age. The results obtained for the chosen time intervals were compared with Mann-Whitney's test at 95% significance level ($p < 0.05$). **Results:** We performed descriptive statistics for absolute and relative content of SCFA and their structural indexes. It was shown that the parameters

characterizing functional activity of gut microbiome have different critical stages in their age-related changes. For each parameter, 2 or 3 stages of changes were identified that occurred at early age, mainly before the age of two. The final SCFA structure was stable by 2 years and 5 months of age. Total SCFA levels reached those typical for adults by the age of 12. The structural index was most sensitive to integrated changes of the microbiome structure. **Conclusion:** Age-related characteristics of gut microbiome should be taken into account when performing clinical studies on effectiveness of therapeutic interventions and assessing the parameters in a given patient.

Key words: short chain fatty acids (SCFA), gut microbiome, age-related SCFA changes, children, adults

For citation: Zatevalov AM, Selkova EP, Gudova NV, Oganessian AS. Age-related changes in production of short-chain fatty acids by gut microbiome in patients without gastroenterological diseases. *Almanac of Clinical Medicine.* 2018;46(2):109–17. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-2-109-117.

Received 2 May 2018; accepted 10 May 2018

Alexander M. Zatevalov – PhD, Doctor of Biol. Sci., Chief Research Fellow, Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases¹

✉ 11–5 Detskaya ul., Zheleznodorozhny town, Moscow Region, 143985, Russian Federation. Tel.: +7 (905) 714 91 14. E-mail: 89057149114@mail.ru

Eugenia P. Selkova – MD, PhD, Head of the Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases, Chief Research Fellow¹

Natalia V. Gudova – Research Fellow, Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases¹

Arpine S. Oganessian – Research Fellow, Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases¹

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

¹Gabricevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 10 Admirala Makarova ul., Moscow, 125212, Russian Federation