



Оригинальная статья

# Возрастная динамика продукции короткоцепочечных жирных кислот микробиотой ротоглотки у пациентов, не имеющих заболеваний респираторного тракта и ротовой полости

Затевалов А.М.<sup>1</sup> • Селькова Е.П.<sup>1</sup> • Гудова Н.В.<sup>1</sup> • Оганесян А.С.<sup>1</sup>

**Актуальность.** Функциональная активность микробиоты верхних дыхательных путей и ротовой полости имеет высокий информативный потенциал для диагностики инфекционных заболеваний и разработки профилактических мероприятий, что обусловлено быстрой изменчивостью и высокой активностью бактерий локуса. **Цель** – определение статистических характеристик концентраций и соотношений короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) ротоглотки (функциональной активности микробиоты ротоглотки) в зависимости от возраста у пациентов, не имеющих инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей и ротовой полости. **Материал и методы.** Методом газожидкостной хроматографии исследованы концентрации КЖК в слюне 683 пациентов в возрасте от 1 месяца до 85 лет, не имеющих инфекционных заболеваний респираторного тракта и ротовой полости. Возрастные интервалы с однородными значениями показателей КЖК в слюне были определены путем выявления постоянных тенденций средних (медианных) значений с точностью до месяца. Полученные выборки

показателей для определенных временных интервалов сравнивали по критерию Манна – Уитни для порога значимости 95% ( $p < 0,05$ ). **Результаты.** Не было выявлено статистически значимых различий медианы суммарной концентрации КЖК (8,04 (интерквартильный размах 4,85–14,22) ммоль/г) и уксусной кислоты (6,27 (3,79–11,21) ммоль/г) в слюне для всех возрастов от 1 месяца до 85 лет. Для других показателей регистрировались 2–3 этапа изменений, происходивших в возрасте 4 месяцев и 14 лет. По достижению 14 лет концентрации пропионовой и масляной кислот статистически значимо увеличивались, а валериановой, капроновой, а также КЖК с разветвленной цепью – снижались. Соответственно, после 14 лет среднее значение структурного индекса увеличивалось с 0,25 до 0,27 ед. ( $p < 0,05$ ). Значение индекса изоокислот с возрастом снижалось, изменяясь в 2 этапа: в 4 месяца с 1,89 до 1,04 ед. ( $p < 0,05$ ) и далее в 14 лет до 0,74 ед. ( $p < 0,05$ ). **Заключение.** Стабилизация концентраций КЖК в слюне происходит по достижении 14 лет. Структурный индекс и индекс изоокислот являются наиболее чувствительными

к интегральному изменению структуры микробиоты. При анализе данных исследования метаболической функции микрофлоры следует использовать аппарат математического моделирования и многомерной статистики в трех возрастных интервалах: с рождения до 4 месяцев, от 4 месяцев до 14 лет, от 14 лет и старше.

**Ключевые слова:** короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК), микробиота ротоглотки, возрастные концентрации КЖК, функциональная активность, дети, взрослые

**Для цитирования:** Затевалов АМ, Селькова ЕП, Гудова НВ, Оганесян АС. Возрастная динамика продукции короткоцепочечных жирных кислот микробиотой ротоглотки у пациентов, не имеющих заболеваний респираторного тракта и ротовой полости. Альманах клинической медицины. 2018;46(8):784–91. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-8-784-791.

Поступила 17.12.2018;  
принята к публикации 18.12.2018

**М**икробиота верхних дыхательных путей выполняет барьерную функцию, защищая хозяина от вирусных и бактериальных возбудителей, поступающих в организм водным, пищевым, контактно-бытовым, воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем [1, 2]. Это объясняет необходимость присутствия устойчивых к факторам внешней среды и биологически активных видов микроорганизмов, способных к протеолитическому метаболизму.

Вследствие анатомически обусловленной разнородности ротовая полость представляет

собой сложный микробиологический локус [1]. Микрофлора, колонизирующая слизистые оболочки и миндалины, поверхности зубов и десневые карманы, значительно различается [3]. В настоящее время получена информация о более 300 родов бактерий, выделенных из слюны и зубных бляшек [3, 4].

Преобладающие таксоны принадлежат к *Firmicutes* (род *Streptococcus*, семейство *Veillonellaceae*, род *Granulicatella*), *Proteobacteria* (род *Neisseria*, *Haemophilus*), *Actinobacteria* (род *Corynebacterium*, *Rothia*, *Actinomyces*), *Bacteroidetes*. В мазках со щек обнаруживается меньшее, а на



поверхности зубов – наибольшее видовое разнообразие [3–5]. Слизистая оболочка щек, миндалин и нёба колонизирована аэробными видами, в основном *Streptococcus* spp., *Neisseria* spp., *Corynebacterium* spp. Десневая бороздка обособлена от полости рта, здесь преобладают анаэробы, нитевидные и извитые формы бактерий. Ротовая жидкость (слюна и жидкость десневой борозды) является своеобразным буфером, который осуществляет взаимосвязь между всеми биотопами ротовой полости и внутреннюю регуляцию. В большом количестве из нее выделяют *Veillonella* spp., *Streptococcus* spp., *Mycoplasma* spp. [5]. Значительное скопление (до  $10^8$  КОЕ/г) микроорганизмов локализуется в зубной бляшке, в основном актиномицеты [6, 7]. Количественное соотношение представителей нормальной микрофлоры ротовой полости зависит от диеты, гигиены полости рта, заболеваний зубов и верхних дыхательных путей.

Подтверждена взаимосвязь между микробиологическим состоянием ротовой полости и заболеваниями пародонта [8]. Колонизация полости рта бактериями с патогенным потенциалом и развитие в ней инфекционного процесса может стать источником инфекций нижних дыхательных путей, септицемии, эндокардита. Имеются убедительные данные, указывающие на корреляцию между состоянием микробиоты ротовой полости и системными заболеваниями, ревматоидным артритом, патологией желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, онкологическими заболеваниями, диабетом [9–13].

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК), продуцируемые микробиотой ротовой полости, играют важную роль, обеспечивая нормальную экологию локуса, препятствуя образованию биопленок потенциально патогенных бактерий [14]. Вместе с тем избыточная их продукция может способствовать развитию пародонтоза [8].

В этой связи дальнейшее изучение биологической роли оральной микрофлоры может быть полезным для определения оптимальных терапевтических вмешательств и профилактики многих заболеваний человека.

Использование определения концентраций КЖК для интегральной оценки состояния микробиоты представляется актуальным, поскольку включает информацию о функциональной активности микроорганизмов из всех экологических ниш как аэробной, так и анаэробной ее части, а применение проекционных методов многомерной статистики позволяет определить прогноз развития заболеваний на ранних стадиях.

**Затевалов Александр Михайлович** – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний<sup>1</sup>  
✉ 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.<sup>1</sup>

**Гудова Наталия Владимировна** – науч. сотр. лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний<sup>1</sup>

**Оганесян Арпине Степановна** – науч. сотр. лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний<sup>1</sup>

Целью данной работы было определение статистических характеристик концентраций и соотношений КЖК ротоглотки (функциональной активности микробиоты ротоглотки) в зависимости от возраста у пациентов, не имеющих инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей и ротовой полости.

## Материал и методы

Проведено обсервационное исследование образцов слюны (из биологического банка данных ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора) 683 пациентов в возрасте от 1 месяца до 85 лет. В исследование включены образцы слюны, собранные у пациентов, обратившихся в консультативно-диагностический центр вышеназванного учреждения в течение 2011–2018 гг. Исследование одобрено независимым этическим комитетом (протокол № 15 от 2010 г.). Перед обследованием пациенты или законные представители несовершеннолетних пациентов подписали добровольное согласие на обработку персональных данных и были информированы о правилах сбора слюны. Слюна собиралась в одноразовые лабораторные пробирки натошак или не раньше двух часов после еды. Для исключения вероятного воспалительного процесса из исследования исключались пациенты с заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей, острыми респираторными заболеваниями и кариесом. Гендерные различия не учитывались.

Концентрации КЖК в слюне определены методом газожидкостной хроматографии подкисленного супернатанта фильтрата слюны. Хроматография проводилась на газовом хроматографе Кристалл 5000.2 методом прямого ввода подкисленного супернатанта слюны в испаритель. Использовалась капиллярная кварцевая металлизированная колонка с неподвижной фазой FFPA. Диаметр колонки 0,3 мм, длина 30 м. Газ-носитель – азот. Детектор – пламенно-ионизационный. Режим изотерма 150 °С. Расчет концентраций проводился по методу внутреннего стандарта (α-диметилмасляная кислота). Идентификация КЖК выполнялась по временам удержания пиков [15].

Определение концентраций КЖК проводилось методом прямого ввода пробы в испаритель хроматографа. Определяли концентрации в слюне уксусной, пропионовой, изомаляной, масляной, изовалериановой, валериановой, изокапроновой и капроновой кислот. Доля концентраций уксусной, пропионовой, масляной кислот в их сумме характеризует целостность микробного

<sup>1</sup> ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора; 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, Российская Федерация



Показатели абсолютного содержания и соотношения короткоцепочечных жирных кислот в слюне у пациентов разных возрастных групп

Показатель / возраст	Количество исследований	Медиана (интерквартильный размах)	Дисперсия	Стандартная ошибка среднего	Стандартное отклонение
Общий уровень, ммоль/г					
0–85 лет	643	8,038 (4,85–14,22)	242,51	0,615	15,57
Структурный индекс, ед.					
0–13 лет	372	0,25 (0,18–0,35)	0,05	0,01	0,22
14–85 лет	269	0,27 (0,19–0,38)	0,11	0,02	0,33
Индекс изокилот, ед.					
0–3 мес.	74	1,89 (1,25–2,42)	2,35	0,18	1,53
4 мес. – 13 лет	298	1,04 (0,64–1,85)	1,62	1,27	0,07
14–85 лет	269	0,74 (0,4–1,03)	1,14	0,07	1,07
Уксусная кислота, ммоль/г					
0–85 лет	643	6,27 (3,79–11,21)	137,91	0,46	11,74
Пропионовая кислота, ммоль/г					
0–13 лет	372	0,91 (0,42–1,77)	11,42	0,18	3,38
14–85 лет	269	1,19 (0,7–2,2)	5,68	0,15	2,38
Изомасляная кислота, ммоль/г					
0–13 лет	372	0,13 (0,08–0,25)	0,42	0,03	0,65
14–85 лет	269	0,07 (0,03–0,17)	0,07	0,02	0,27
Масляная кислота, ммоль/г					
0–13 лет	372	0,1 (0,06–0,24)	0,49	0,04	0,7
14–85 лет	269	0,22 (0,1–0,5)	0,96	0,06	0,98
Изовалериановая кислота, ммоль/г					
0–13 лет	372	0,09 (0,05–0,16)	0,12	0,02	0,35
14–85 лет	269	0,07 (0,03–0,17)	0,03	0,01	0,18
Валериановая кислота, ммоль/г					
0–13 лет	372	0,07 (0,03–0,17)	0,2	0,02	0,45
14–85 лет	269	0,01 (0–0,04)	0,02	0,01	0,12
Изокапроновая кислота, ммоль/г					
0–13 лет	372	0,03 (0,01–0,1)	0,22	0,02	0,47
14–85 лет	269	0 (0–0,01)	0,002	0,002	0,04
Капроновая кислота, ммоль/г					
0–13 лет	372	0,02 (0,01–0,04)	0,02	0,01	0,15
14–85 лет	269	0 (0–0,01)	0,001	0,002	0,03



Доля уксусной кислоты в сумме «уксусная, пропионовая, масляная кислота», %					
0–13 лет	372	86,59 (80,92–89,58)	61,13	0,41	7,82
14–85 лет	269	80,3 (75,37–85,73)	74,95	0,53	8,66
Доля пропионовой кислоты в сумме «уксусная, пропионовая, масляная кислота», %					
0–3 мес.	74	12,46 (9,66–17,6)	58,4	0,89	7,64
4 мес. – 13 лет	298	11,25 (7,93–16,16)	38,23	0,36	6,18
14–85 лет	269	16,09 (11,81–19,81)	40,89	0,39	6,39
Доля масляной кислоты в сумме «уксусная, пропионовая, масляная кислота», %					
0–3 мес.	74	1,4 (0,62–2,24)	4,15	0,24	2,04
4 мес. – 13 лет	298	1,72 (1,1–2,83)	18,84	0,25	4,34
14–85 лет	269	2,73 (1,54–4,9)	30,28	0,34	5,5
Уксусная кислота, %					
0–13 лет	372	79,99 (73,97–85,05)	83,7	0,47	9,15
14–85 лет	269	78,55 (72,23–83,71)	95,75	0,6	9,79
Пропионовая кислота, %					
0–13 лет	372	10,78 (7,62–15,65)	38,18	0,32	6,18
14–85 лет	269	15,63 (11,45–19,27)	34,21	0,36	5,85
Изомаляная кислота, %					
0–13 лет	372	1,61 (1,04–3,14)	3,82	0,1	1,95
14–85 лет	269	0,94 (0,52–1,65)	2,15	0,09	1,47
Масляная кислота, %					
0–13 лет	372	1,56 (0,99–2,54)	14,07	0,19	3,75
14–85 лет	269	2,71 (1,51–4,75)	26,71	0,32	5,17
Изовалериановая кислота, %					
0–13 лет	372	1,09 (0,7–1,75)	1,89	0,07	1,38
14–85 лет	269	0,92 (0,45–1,43)	1,12	0,06	1,06
Валериановая кислота, %					
0–13 лет	372	0,93 (0,35–2,04)	6,89	0,14	2,63
14–85 лет	269	0,11 (0,05–0,44)	2,35	0,09	1,53
Изокапроновая кислота, %					
0–13 лет	372	0,35 (0,14–1,27)	2,99	0,09	1,73
14–85 лет	269	0,05 (0,03–0,09)	0,48	0,04	0,69
Капроновая кислота, %					
0–13 лет	372	0,29 (0,13–0,62)	0,24	0,03	0,49
14–85 лет	269	0,05 (0,03–0,08)	0,45	0,04	0,67

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



сообщества [16]. Характеристикой функциональной активности симбионтной микробиоты служит структурный индекс, который рассчитывается как отношение суммы концентраций всех компонентов гомологического ряда карбоновых кислот от пропионовой до капроновой к концентрации уксусной кислоты [16]. Протеолитическая активность микробиоты ротоглотки оценивается по индексу изокилот, который рассчитывается как отношение суммы концентраций изомаляной, изовалериановой, изокапроновой кислот к сумме концентраций масляной, валериановой, капроновой кислот в слюне [16].

**Статистический анализ.** Полученные результаты определения концентраций и соотношений КЖК (функциональной активности микробиоты ротоглотки) 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 медианное значение и нанесли на графики по возрастам. В результате анализа графиков были выделены области, в которых по медианным значениям определялись тенденции и отличающийся уровень исследуемого показателя. Далее каждую последующую выборку сравнивали с предыдущей по U-критерию Манна – Уитни для порога значимости 95% ( $p < 0,05$ ). Если показатель не отличался от предыдущего ( $p > 0,05$ ), временные интервалы объединяли и рассматривали как один временной интервал. Описательная статистика по показателям абсолютной концентрации КЖК, расчетных индексов представлена в виде среднего (медианы), нижнего и верхнего квартилей, стандартного отклонения, стандартной ошибки и дисперсии. Для расчетов использовали программу Microsoft Excel из пакета программ Microsoft Office 2007.

## Результаты

Показатели функциональной активности микробиоты ротоглотки для разных возрастных групп отражены в таблице. Оказалось, что концентрации КЖК в слюне имеют высокую дисперсию и большой разброс значений. Суммарная концентрация КЖК и концентрация уксусной кислоты, составляющая 80% в пуле КЖК, не имели статистически значимых различий во всех возрастных интервалах всей исследованной выборки.

Дисперсии концентраций пропионовой, масляной, валериановой, капроновой кислот и их изомеров существенно ниже, что позволило выявить статистически значимые различия в двух возрастных интервалах: до 13 лет включительно и 14–85 лет. Установлено увеличение концентраций пропионовой и масляной кислот и уменьшение продукции кислот с разветвленной цепью (валериановой, капроновой и изокилот) после достижения 14 лет. Наиболее значительно снизилась концентрация изокапроновой (в 5 раз), валериановой (в 12,7 раза) и капроновой (в 4,4 раза) кислот.

Соотношение уксусная/пропионовая/масляная кислота в возрастном аспекте имело 3 временных интервала, для которых значения медиан были относительно постоянными: до 4 месяцев, с 4 месяцев до 14 лет, 14 лет и старше. Доля уксусной кислоты по достижении 14 лет снижалась с 87 до 80%, а доли пропионовой и масляной кислот соответственно повышались. Снижались также доли кислот с разветвленной цепью и их изомеров, что приводило к синхронным изменениям соответствующих индексов (повышению структурного и снижению индекса изокилот).

## Обсуждение

Микрофлора ротовой полости начинает формироваться внутриутробно и развивается параллельно желудочно-кишечному тракту [3]. Младенцы колонизируются бактериями вскоре после рождения – вертикально (от матери) и горизонтально (из непосредственного окружения). Отсутствие зубных рядов у детей (необходимо условие для существования строгих анаэробов) определяет микробиоценоз с повышенной продукцией уксусной кислоты. В возрасте до 4 месяцев в полости рта преобладают аэробные микроорганизмы и факультативные анаэробы *S. salivarius*, *Lactobacillus* spp., *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp., *Candida albicans*, обнаруживается незначительное количество анаэробов, преимущественно *Veillonella* spp., *Fusobacterium* spp. [17, 18]. Резкое изменение качественного состава микроорганизмов в момент прорезывания зубов и введения прикорма приводит к появлению строгих анаэробов и быстрому нарастанию их количества, что отражается на увеличении доли продуктов их ферментации. С появлением зубов микроорганизмы перераспределяются по новым нишам соответственно анатомическому строению, снижается интегральная протеолитическая активность микрофлоры ротоглотки, как следствие – уменьшается индекс изокилот.



Образованию многочисленных микробных ниш с относительно стабильными микробными популяциями на слизистой оболочке щек, десен, языка, в десневых карманах и на зубах способствует прежде всего доступность пищевого субстрата. Эти факторы создают благоприятные условия для адгезии, колонизации и размножения аэробных и анаэробных микроорганизмов, преимущественно стрептококков (*S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mutans*), лактобацилл (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*), грамотрицательных анаэробных и микроаэрофильных бактерий семейства *Bacteroidaceae* (*B. melaninogenicus* и *B. gingivalis*), *Fusobacterium* и *Propionibacteriaceae*. Количество бактерий родов *Spirochaetales* и *Bacteroides* увеличивается в полости рта примерно к 14 годам, что может быть связано с окончанием смены зубов, возрастными сдвигами гормонального фона и/или увеличением контактов в подростковом возрасте.

Как показали результаты настоящего исследования, в слюне доля уксусной кислоты в общем пуле КЖК составляет 80%, что выше, чем в кишечнике, так как в данном локусе больше аэробных бактерий, продуцирующих уксусную кислоту. По достижении 14 лет доля уксусной кислоты снижалась с 87 до 80%. Это указывает на увеличение анаэробных бактерий и отражает микробиологические данные, полученные другими методами [3, 4]. К этому же возрасту происходило статистически значимое снижение как абсолютной концентрации валериановой, капроновой и изоокислот, так и их доли в общем пуле КЖК. Продуцентами изоформ КЖК являются анаэробные протеолитические бактерии, активность которых подавляется в условиях более разнообразной и устойчивой микробиоты.

Изменения функциональной активности микробиоценоза ротоглотки происходят в соответствии с периодами становления иммунной системы, продукции IgA и секреции слюнных желез [3, 4]. Концентрация КЖК в слюне значительно ниже, чем в желудочно-кишечном тракте [19], что связано с меньшим количеством

бактерий, небольшим количеством и сроком пребывания пищевых субстратов в ротовой полости. Эволюционно сложившаяся необходимость микробиоты ротовой полости быстро приспосабливаться к резким изменениям температурного режима, pH среды, большому количеству чужеродных бактерий, грибов и вирусов, служит причиной высокой дисперсии концентраций КЖК в слюне [7, 20]. Устойчивость средних значений концентраций КЖК в слюне для разных возрастных групп может быть обусловлена значительным влиянием внешних факторов (постоянным попаданием новых микроорганизмов).

При проведении клинических исследований эффективности терапевтических вмешательств и при оценке показателей у конкретного пациента для выбора терапии необходимо опираться на относительные показатели (профили и соотношения концентраций КЖК), индексы изоокислот и структурный индекс, а также использовать аппарат математического моделирования и многомерной статистики в 3 возрастных интервалах: 0–4 месяца, 14 месяцев – 14 лет, 14 лет и старше.

## Заключение

Концентрации КЖК, их относительное содержание и структурные индексы, отражающие функциональную активность микробиоценоза ротоглотки, характеризуются различными критическими этапами динамических возрастных изменений. Для конкретных показателей регистрируется 2–3 этапа изменений, происходящих до 4 месяцев, от 4 месяцев до 14 лет и от 14 лет и старше. Достаточно стабильная структура функциональной активности микробиоты ротоглотки устанавливается в 14 лет. Суммарная концентрация КЖК и концентрация уксусной кислоты в слюне имеют высокую дисперсию значений, что не позволяет разделить их концентрации на возрастные интервалы. Структурный индекс и индекс изоокислот наиболее чувствительны к интегральному изменению структуры микробиоты. ©

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

## Литература

1. Алешкин ВА, Афанасьев СС, Караулова АВ, ред. Микробиоценозы и здоровье человека: руководство для врачей. М.: Династия; 2015. 548 с.
2. Медведева ЕА, Мескина ЕР. Метаболическая активность микрофлоры ротоглотки у детей с бронхитом и внебольничной пневмонией. Альманах клинической медицины. 2015;42:72–8. doi: 10.18786/2072-0505-2015-42-72-78.
3. Zaura E, Keijsers BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities. *BMC Microbiol.* 2009;9:259. doi: 10.1186/1471-2180-9-259.
4. Xian P, Xuedong Z, Xin X, Yuqing L, Yan L, Ji-yao L, Xiaoquan S, Shi H, Jian X, Ga L. The oral microbiome bank of China. *Int J Oral Sci.* 2018;10(2):16. doi: 10.1038/s41368-018-0018-x.
5. Li K, Bihan M, Methé BA. Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. *PLoS One.* 2013;8(5):e63139. doi: 10.1371/journal.pone.0063139.



6. Berni Canani R, De Filippis F, Nocerino R, Laio-la 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.
7. Bozzetto S, Pirillo P, Carraro S, Berardi M, Cesca L, Stocchero M, Giordano G, Zanconato S, Baraldi E. Metabolomic profile of children with recurrent respiratory infections. *Pharmacol Res.* 2017;115:162–7. doi: 10.1016/j.phrs.2016.11.007.
8. Shirasugi M, Nishioka K, Yamamoto T, Nakaya T, Kanamura N. Normal human gingival fibroblasts undergo cytotaxis and apoptosis after long-term exposure to butyric acid. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;482(4):1122–8. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.11.168.
9. Jenkinson HF. Beyond the oral microbiome. *Environ Microbiol.* 2011;13(12):3077–87. doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02573.x.
10. Fan X, Alekseyenko AV, Wu J, Peters BA, Jacobs EJ, Gapstur SM, Purdue MP, Abnet CC, Stolzenberg-Solomon R, Miller G, Ravel J, Hayes RB, Ahn J. Human oral microbiome and prospective risk for pancreatic cancer: a population-based nested case-control study. *Gut.* 2018;67(1):120–7. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312580.
11. Jorth P, Turner KH, Gumus P, Nizam N, Buduneli N, Whiteley M. Metatranscriptomics of the human oral microbiome during health and disease. *MBio.* 2014;5(2):e01012–14. doi: 10.1128/mBio.01012-14.
12. Lohavanichbutr P, Zhang Y, Wang P, Gu H, Nagana Gowda GA, Djukovic D, Buas MF, Raftery D, Chen C. Salivary metabolite profiling distinguishes patients with oral cavity squamous cell carcinoma from normal controls. *PLoS One.* 2018;13(9):e0204249. doi: 10.1371/journal.pone.0204249.
13. Ohshima M, Sugahara K, Kasahara K, Katakura A. Metabolomic analysis of the saliva of Japanese patients with oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2017;37(5):2727–34. doi: 10.3892/or.2017.5561.
14. Huang CB, Alimova Y, Myers TM, Ebersole JL. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Arch Oral Biol.* 2011;56(7):650–4. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.01.011.
15. Алешкин ВА, Ардатская МД, Бабин ВН, Дубинин АВ, Иконников НС, Кондракова ОА, Минушкин ОН, авторы; НИФ «Ультрасан», заявитель и патентообладатель. Способ разделения смеси жирных кислот фракции C<sub>2</sub>–C<sub>7</sub> методом газожидкостной хроматографии. Пат. 2145511 Рос. Федерация. Оpubл. 20.02.2000.
16. Алешкин ВА, Селькова ЕП, Затевалов АМ, Миронов АЮ, Волчецкий АЛ, Гудова НВ. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника. Федеральные клинические рекомендации. Нижний Новгород: Ремедиум Приволжье; 2016. 40 с.
17. Алешкин ВА, Галимзянов ХМ, Афанасьев СС, Караулов АВ, Рубальский ОВ, Несвижский ЮВ, Воропаева ЕА, Афанасьев МС. Нарушения микробиоценозов у детей: Многоцентровое исследование. Сообщение I. Микробиоценоз и дисбактериоз ротоглотки у детей. *Астраханский медицинский журнал.* 2010;5(3):9–13.
18. Анурова АЕ, Величко ЭВ, Косырева ТФ, Стуров НВ. Влияние микрофлоры полости рта матерей на формирование микробиоценоза полости рта у детей с врожденными расщелинами верхней губы и нёба. *Трудный пациент.* 2017;15(1–2):59–63.
19. 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): 109–17. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-2-109-117.
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.
11. Jorth P, Turner KH, Gumus P, Nizam N, Buduneli N, Whiteley M. Metatranscriptomics of the human oral microbiome during health and disease. *MBio.* 2014;5(2):e01012–14. doi: 10.1128/mBio.01012-14.
12. Lohavanichbutr P, Zhang Y, Wang P, Gu H, Nagana Gowda GA, Djukovic D, Buas MF, Raftery D, Chen C. Salivary metabolite profiling distinguishes patients with oral cavity squamous cell carcinoma from normal controls. *PLoS One.* 2018;13(9):e0204249. doi: 10.1371/journal.pone.0204249.
13. Ohshima M, Sugahara K, Kasahara K, Katakura A. Metabolomic analysis of the saliva of Japanese patients with oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2017;37(5):2727–34. doi: 10.3892/or.2017.5561.
14. Huang CB, Alimova Y, Myers TM, Ebersole JL. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Arch Oral Biol.* 2011;56(7):650–4. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.01.011.
15. Алешкин ВА, Ардатская МД, Бабин ВН, Дубинин АВ, Иконников НС, Кондракова ОА, Минушкин ОН, авторы; НИФ «Ультрасан», assignee. The method to separate the mixture of fatty acids C<sub>2</sub>–C<sub>7</sub> by gas liquid chromatography. Russian Federation patent 2145511. 2000 Feb 20.

## References



16. Aleshkin VA, Selkova EP, Zatevalov AM, Mironov AYU, Volchetsky AL, Gudova NV. Definition of dysbiotic changes of gastrointestinal tract on bowel contents markers. *Nizhniy Novgorod: Remedium Privolzh'e*; 2016. 40 p. Russian.
17. Aleshkin VA, Galimzyanov HM, Afanasyev SS, Karaulov AV, Rubalskiy OV, Nesvijskiy YuV, Voropaeva EA, Afanasyev MS. The deviation of microbiocynosis in children: multicentral investigation. Report I. Microbiocynosis and dysbacteriosis of stomatopharynx in children. *Astrakhan Medical Journal*. 2010;5(3):9–13. Russian.
18. Anurova AE, Velichko EV, Kosyreva TF, Sturov NV. Influences of maternal oral microflora on specific characteristics of oral microbiocenosis in children with congenital cleft lip and palate. *Difficult Patient*. 2017;15(1–2): 59–63. Russian.
19. 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): 109–117. Russian. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-2-109-117.
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.

## Age-related changes in production of short chain fatty acids by oropharyngeal microbiota in patients without respiratory tract and oral disorders

A.M. Zatevalov<sup>1</sup> • E.P. Selkova<sup>1</sup> • N.V. Gudova<sup>1</sup> • A.S. Oganessian<sup>1</sup>

**Rationale:** Functional activity of upper respiratory tract and oral microbiota has a high informational potential for diagnostics of infectious disease and for development of preventive measure, which is to be explained by rapid variability and high activity of bacteria in this location. **Aim:** To determine statistical characteristics of concentrations and ratios of the oropharyngeal short chain fatty acids (SCFA) (i.e., functional activity of oropharyngeal microbiota) depending on age of patients without infectious disorder of upper respiratory tract and oral cavity. **Materials and methods:** Gas liquid chromatography was used to measure SCFA concentrations in saliva from 683 patients aged from 1 month to 85 years who did not have any infections of respiratory tract and oral cavity. Age intervals with homogenous salivary SCFA levels were determined with constant trends in their means (medians) with one-month accuracy. The resulting parameters for the identified age intervals were compared with Mann-Whitney test at 95% significance level ( $p < 0.05$ ). **Results:** There were no significant differences between median total SCFA levels (8.04 [4.85; 14.22] mmol/G) and median acetic acid levels (6.27 [3.79; 11.21] mmol/G) in saliva from patients of all ages from 1 month to 85 years. For all other parameters, from 2 to 3 steps of changes were found that occurred at the age of 4 months and 14 years. After the age of 14, the concentrations of propionic

and butyric acid significantly increased, whereas those of valeric and caproic acids, as well as of the branched chain SCFA decreased. Correspondingly, after the age of 14, the mean structural index increased from 0.25 to 0.27 U ( $p < 0.05$ ). The isoacid index decreased with age in two steps: at the age of 4 months from 1.89 to 1.04 U ( $p < 0.05$ ) and later at the age of 14 years to 0.74 U ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Salivary SCFA levels become stable at the age of 14. The structural index and the isoacid index are most sensitive to the integral changes in the microbiota composition. Analysis of the results of studies on metabolic functioning of microflora should be based on mathematic modeling and multifactorial statistics in three age intervals: from birth to 4 months of age, from 4 months to 14 years and over 14 years.

**Key words:** short chain fatty acids (SCFA), oropharyngeal microbiota, age-related SCFA levels, functional activity, children, adults

**For citation:** Zatevalov AM, Selkova EP, Gudova NV, Oganessian AS. Age-related changes in production of short chain fatty acids by oropharyngeal microbiota in patients without respiratory tract and oral disorders. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(8):784–91. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-8-784-791.

Received 17 December 2018;  
accepted 18 December 2018

**Alexander M. Zatevalov** – PhD, ScD in Biology, Chief Research Fellow, Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases<sup>1</sup>

✉ 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 Fellow<sup>1</sup>

**Natalia V. Gudova** – Research Fellow, Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases<sup>1</sup>

**Arpine S. Oganessian** – Research Fellow, Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases<sup>1</sup>

### Conflict of interests

The authors declare that they have no conflicts of interest.

<sup>1</sup>G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 10 Admirala Makarova ul., Moscow, 125212, Russian Federation