

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Незгода І.І., Науменко О.М., Нікульченко О.В., 2019
УДК 616.34-008.87:619.9-0553:577.115
DOI 10.11603/1681-2727.2019.3.10632

І.І. Незгода, О.М. Науменко, О.В. Нікульченко

ЛЕТКІ ЖИРНІ КИСЛОТИ ЯК МЕТАБОЛІЧНІ МАРКЕРИ ПОРУШЕННЯ МІКРОБІОЦЕНОЗУ КИШЕЧНИКУ ПРИ РОТАВІРУСНІЙ ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Мета дослідження – вивчити стан метаболічної активності кишкової мікрофлори у дітей, хворих на ротавірусну інфекцію (РВІ), шляхом оцінки рівня та спектру летких жирних кислот (ЛЖК) у динаміці хвороби залежно від ступеня тяжкості та віку.

Пацієнти і методи. Під спостереженням перебувало 64 дитини раннього віку, середній вік яких становив $(18,5 \pm 1,2)$ міс., основну групу склали хворі на ротавірусну інфекцію ($n=31$), контрольну ($n=33$) – здорові діти, порівнювані за віком та статтю. Для визначення метаболічної активності мікрофлори та оцінки метаболічно-енергетичних процесів у просвіті кишечника були вивчені основні активні метаболіти – леткі жирні кислоти: масляна, пропіонова та валеріанова кислоти за допомогою газово-рідинної хроматографії випорожнень, на початку захворювання (1-2-а доба хвороби) та в динаміці – на 5-6-й день лікування.

Газово-рідинна хроматографія випорожнень виконувалась на основі розрахунку внутрішнього стандарту, що передбачає додавання до певної маси досліджуваного зразка речовини з відомою масою і площею піка.

Результати. У дітей основної групи був знижений як загальний рівень ЛЖК, так і вміст окремих жирних кислот, тобто мало місце виснаження сумарного пулу мікробних метаболітів. У здорових дітей загальний рівень ЛЖК становив $(0,803 \pm 0,340)$ мг/мл, а у дітей з РВІ – $0,048 \pm 0,008$ мг/мл ($P < 0,05$). Абсолютні концентрації масляної кислоти у копрофільтратах хворих дітей були значно знижені – $(0,017 \pm 0,005)$ проти $(0,69 \pm 0,33)$ мг/мл у здорових дітей ($P < 0,05$); концентрація пропіонової кислоти становила $(0,0267 \pm 0,006)$ мг/мл, а в дітей контрольної групи – $(0,640 \pm 0,020)$ мг/мл ($P < 0,001$). Ці зміни свідчать про зміну метаболізму на рівні слизової оболонки кишечника у вигляді порушення мікроциркуляції та трофічних процесів. У процесі лікування (на 5-6-у добу) концентрація ЛЖК достовірно зросла і становила

$(0,082 \pm 0,0064)$ мг/мл, ($P < 0,05$), що є гарною прогностичною ознакою відновлення нормальних метаболічних процесів у кишечнику. Найнижчий рівень метаболітів був зафіксований при середньому ступеню тяжкості РВІ і становив $(0,038 \pm 0,008)$ мг/мл, причому він був нижчим порівняно зі здоровими дітьми ($P < 0,05$). Загальний рівень ЛЖК у дітей першого року життя становив $(0,045 \pm 0,0078)$ і був нижчим, ніж у дітей старше 1 року, в яких досягав $(0,058 \pm 0,025)$ мг/мл, причому у всіх дітей загальний рівень ЛЖК був нижчий, ніж у здорових – $(0,803 \pm 0,340)$ мг/мл ($P < 0,05$).

Висновки. При РВІ у хворих значно пригнічується активність кишкової мікрофлори, що характеризується вірогідним зниженням як сумарної концентрації ЛЖК – $(0,048 \pm 0,008)$ мг/мл порівняно зі здоровими дітьми – $(0,803 \pm 0,34)$ мг/мл при $P < 0,01$, так і концентрацій окремих кислот: масляної – $(0,017 \pm 0,005)$ мг/мл, пропіонової – $(0,0267 \pm 0,006)$ мг/мл та валеріанової – $(0,041 \pm 0,007)$ мг/мл порівняно зі здоровими дітьми ($P < 0,01$), що свідчить про порушення метаболічних процесів на рівні колоноцитів.

Ключові слова: ротавірусна інфекція, діти, мікробіоценоз кишечника, леткі жирні кислоти.

На сьогодні у всьому світі відзначається тенденція до зростання захворюваності на інфекційну патологію, і однією з важливих проблем охорони здоров'я є гострі кишкові інфекції (ГКІ), особливо у дітей раннього віку [1].

Серед збудників ГКІ в останні роки переважає вірусна етіологія патогенів, адже саме віруси викликають 50-80 % діарей у дітей. Найчастіше серед вірус-асоційованих діарей у дітей реєструється ротавірусна інфекція. За даними ВООЗ, у світі щорічно реєструється до 180 млн діарейних захворювань ротавірусної етіології, з них більше ніж 850 000 випадків закінчується летально [2].

В Україні частота ротавірусного гастроентериту в загальній структурі кишкових інфекцій різної етіології

складає від 23 до 50 %, а серед дітей до 3 років – перевищує 60 % [3]. Таким чином, проблема РВІ є дуже актуальною як у світі, так і в Україні.

Патогенез РВІ складний і до кінця не вивчений. Останнім часом все більше науковців звертає увагу на розвиток дисбіозу при РВІ, адже лактазна недостатність, яка супроводжує РВІ, сприяє збільшенню нерозщепленої лактози, яка є субстратом для симбіотного травлення мікрофлорою кишечника.

Ще І.І. Мечников писав, що сформований у процесі еволюційного (філогенез) та індивідуального (онтогенез) розвитку симбіоз організму людини і його мікробної екологічної системи – це норма і форма життя.

Мікрофлора основних біотопів організму людини існує у вигляді просвітної та пристінкової популяцій. Пристінкова мікрофлора (мукозна) – це мікроорганізми, тісно асоційовані зі слизовою оболонкою кишечника, розташовані в шарі слизу, в просторі між ворсинками, і утворюють щільний бактерійний шар (біоплівку), в той час як просвітна мікрофлора локалізується у просвіті кишечника. Функціонально активною є пристінкова популяція мікроорганізмів. Вона представлена облигатними і факультативними анаеробами, для яких отримання енергії пов'язано з неповним окисленням органічних сполук, кінцевим результатом якого є утворення великої кількості метаболітів, значну роль серед яких відіграють леткі жирні кислоти [4].

Леткі жирні кислоти – це монокарбонові кислоти з ланцюгом до 8 молекул вуглецю. В англійській літературі їх називають «*short chain fatty acids*» (SCFA). До них належать оцтова кислота (C2), пропіонова кислота (C3), масляна (C4), ізомасляна (iC4), валер'янова кислота (C5), ізовалер'янова (iC5), капронова (C6), та ізокапронова кислота (iC6).

ЛЖК – основний продукт мікробної ферментації вуглеводів. Вони виробляються головню анаеробними бактеріями (бактероїдами, біфідо-, фузо- й еубактеріями, пептострептококами, пептококами, клостридіями та ін.) [5, 6]. Нерозгалужені ЛЖК – оцтова, пропіонова і масляна – утворюються при анаеробному бродінні вуглеводів, тоді як метаболізація білків веде до утворення розгалужених кислот – ізомасляної (із валіну) та ізовалеріанової (із лейцину) [7]. З фекаліями екскретується тільки 2-4 % ЛЖК, частина кислот утилізується епітеліоцитами кишечника як енергетичний субстрат, основна частка кислот всмоктується із нижнього відділу тонкої та з товстої кишки і потрапляє в портальну вену, де концентрація ЛЖК максимальна (до 800 ммоль/л) [4, 8]. Як вказує Н.В. Белобородова, досягнувши печінки, значна частина ЛЖК утилізується в пероксисомах гепатоцитів [9]. Разом з тим ЛЖК можуть вільно екскретуватись нирками [10].

За даними О.А. Кондакової і співавт. (2005), Н.І. Урсової (2006), С.В. Бельмер (2007), Л.Н. Мазанкової (2008), продукти метаболізму кислотоутворювальних бактерій беруть участь у регуляції біоценозу і морфофункціонального стану слизової оболонки товстої кишки. Автори вказують на деякі найбільш важливі функції ЛЖК:

- енергозабезпечення епітелію (ЛЖК, особливо масляна кислота, є основними джерелами трофіки колоноцитів, забезпечуючи їх енергією на 70 % [11];
- регуляція проліферації та диференціації епітелію шляхом підвищення мітотичної активності ентероцитів крипт і швидкості їх міграції по ворсинках [12];
- регуляція моторної активності кишечника (закислення й осмолярність кишкового вмісту стимулює перистальтику) [13];
- підтримка анаеробіозу (абсорбція ЛЖК через слизову оболонку кишечника супроводжується зв'язуванням кисню) [13, 14];
- антибактерійний ефект (в кислому середовищі антагонізм біфідо- і лактобактерій посилюється), противірусний захист (пригнічують реплікацію герпесвірусів і кишкових вірусів, зокрема ротавірусу) [14, 15];
- регуляція іонного обміну та підтримка водно-електролітного балансу (всмоктування масляної кислоти сприяє збільшенню абсорбції Na^+ , секреції K^+ і бікарбонатів у просвіт кишки) [16].

ЛЖК значною мірою забезпечують енергетичні потреби клітин епітелію товстої кишки (до 95 % в дистальних відділах): бутират (масляна кислота) є основним нутрієнтом епітеліоцитів товстої кишки і забезпечує їх киснем більше, ніж глюкоза і глютамін через мікроциркуляторне русло [14]. При цьому з бутирату утворюється основна частина CO_2 , який є важливим регулятором абсорбції натрію на мембранному рівні. У проксимальних відділах товстої кишки останній процес є ЛЖК-залежним, а в дистальних відділах абсорбція натрію регулюється альдостероном [4-6]. Зменшуючи ефективний осмотичний тиск кишкового вмісту, підвищуючи всмоктування води та електролітів, ЛЖК сприяють збереженню рідини в просвіті кишечника. ЛЖК (в основному масляна та валеріанова кислоти) належать до важливих факторів росту і диференціювання колоноцитів: пригнічують проліферацію і стимулюють диференціювання. Численні дослідження показали, що масляна кислота може запобігати появі й розвитку ракової пухлини товстої кишки. Бутират (масляна кислота) володіє протизапальними властивостями, більше того, зменшує кількість Toll-подібних рецепторів епітелію, активація яких є пусковим механізмом запальних процесів різних органів ШКТ [4, 6]. ЛЖК впливають на гастроінтестинальну моторику. Встановлено, що низькі концентрації

ЛЖК мають стимулюючий вплив на гладком'язові клітини кишечника через холінергічний рефлекс, а високі концентрації пригнічують моторику товстої кишки [4-6].

На думку О.А. Кондакової, А.М. Затевалова (2005), Л.Н. Мазанкової (2008), М. Д. Ардатської (2000), всі ефекти нормальних та ізоформ летких жирних кислот концентраційнозалежні, і порушення їх синтезу може негативно впливати на організм [17].

Вивченню ролі ЛЖК при різних фізіологічних і патофізіологічних станах присвячені дослідження багатьох зарубіжних вчених, але в нашій країні таких досліджень дуже мало. Зазначені роботи вказують на можливість використовувати ЛЖК як біохімічні маркери для діагностики ряду захворювань. Так, М.Д. Ардатская (2000) вивчала роль ЛЖК при різних патологіях ШКТ [18], хронічних неспецифічних захворюваннях легень. Дослідження Н.В. Белобородової, В.А. Курчавова (2003) свідчать про значну роль ЛЖК при анаеробній і грибовій інфекції у дітей [9], Л.Н. Мазанкової (2005) – при вторинній лактазній недостатності у дітей раннього віку [17]. Роботи Л.Д. Кунецевич (2006) вказують на зміни ЛЖК при інфекційних урогенітальних захворюваннях у жінок, а В.Ф. Баликіна зі співавт. (2007) – при гепатиті А у дітей. Н.Н. Дудина (2007) визначала рівень бактерійних метаболітів при сальмонельозі, А.В. Можаяев (2007) – при гострих захворюваннях респіраторного тракту у дітей. Дослідження інших авторів вказують на те, що при різних патофізіологічних станах ШКТ процес утворення, всмоктування та утилізації ЛЖК порушується, тому загальна концентрація й, особливо, співвідношення окремих ЛЖК в фекаліях змінюються [6]. Відповідно, різноспрямовані відхилення від фізіологічної норми рівнів і спектрів цих метаболітів можуть слугувати біохімічними маркерами структурних і функціональних порушень кишкового мікробіоценозу [5].

Застосування з цією метою методу ГРХ дозволяє в режимі реального часу за рівнями і спектрами ЛЖК отримати інформацію про гіперколонізацію, або пригнічення нормальної мікрофлори кишечника, включаючи анаеробні та пристінкові популяції, інфраструктуру мікробіоценозу (співвідношення анаеробних і аеробних популяцій), структуру та метаболічну активність анаеробних популяцій, переважаючий тип бродіння, енергозабезпеченість епітеліоцитів, порушення вуглеводного обміну [4].

Метод детекції мікроорганізмів за жирно-кислотними маркерами відповідає генетичному, оскільки склад жирних кислот детермінований в ДНК і відтворюється шляхом реплікації ділянки геному транспортною РНК із подальшим синтезом кислот у мітохондріях [6].

При гострих кишкових інфекціях порушується мікробіоценоз кишечника та виникає метаболічний дисбаланс

основних кишкових метаболітів – летких жирних кислот. Встановлено, що при ГКІ порушується процес утворення, всмоктування і утилізації ЛЖК, тому загальна концентрація і співвідношення окремих жирних кислот змінюється. Відхилення від норми рівня цих метаболітів можуть слугувати маркером порушень кишкової мікрофлори у дітей з ГКІ [16].

Визначення метаболічної активності кишкової мікрофлори за рівнями і спектрами ЛЖК в гострий період кишкових інфекцій у дітей має важливе діагностичне значення для виявлення ступеня мікроекологічних порушень в кишечнику та контролю ефективності терапії.

Досі не дана комплексна оцінка метаболічних порушень при РВІ, не уточнена роль окремих мікробних метаболітів і не розроблені шляхи корекції при метаболічних порушеннях, що виникають на фоні захворювання, тому детекція ЛЖК є пріоритетним напрямком вивчення метаболічних процесів у просвіті кишечника при РВІ у дітей.

Тому метою роботи стало оцінити рівні та спектри летких жирних кислот і дослідити стан метаболічної активності кишкової мікрофлори у дітей, хворих на РВІ.

Пацієнти і методи

Дослідження виконувалось на кафедрі дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, на базі Вінницької обласної клінічної дитячої інфекційної лікарні (головний лікар – Бровінська Л.М).

Для визначення метаболічної активності мікрофлори та оцінки метаболічно-енергетичних процесів у просвіті кишечника були вивчені основні активні метаболіти – леткі жирні кислоти (масляна, пропіонова та валеріанова кислоти) у 31 дитини з РВІ за допомогою газово-рідинної хроматографії випорожнень, на початку захворювання (1-2-а доба хвороби) та в динаміці на 5-6-й день лікування. Контрольну групу склали 33 здорові дитини, порівнювані за віком та статтю.

Для розрахунку концентрації використовували метод внутрішнього стандарту, що передбачає додавання до певної маси досліджуваного зразка речовини з відомою масою і площею піка. Таким чином, концентрація ЛЖК (мг/мл) – це відношення маси ЛЖК до маси зразка. Дослідження проводились на базі ДП «Вінницький науково-виробничий центр стандартизації, метрології та сертифікації». ГРХ аналіз проводили на газово-рідинному хроматографі «Кристал 2000», свідоцтво про повірку №240/116, ДСЗУ 022.167-2008 (за пропіоновою кислотою), СЗП 61-2014 (за масляною кислотою), СЗП 62-2014 (за валеріановою кислотою). За результатами дослідження в пакеті електронних таблиць MS Excel 2010 була сформована база даних, на основі якої за допомогою програм IBM SPSS Statistics вер-

сія 12 (20) (ліцензійний номер № 9593869) проводили статистичний аналіз. Розраховувалась середня величина (M), її помилка (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами при правильному розподілі визначали за допомогою критерію Ст'юдента для незалежних величин. Статистично значимим вважали значення $P < 0,05$. Для визначення сили та напрямку зв'язку між показниками в досліджуваних групах застосовували кореляційний аналіз (при параметричному розподілі даних – парну кореляцію Пірсона, а при непараметричному розподілі ознак – рангову кореляцію Спірмена).

Результати досліджень та їх обговорення

У процесі наукового дослідження виявили зміни в концентрації основних ЛЖК у хворих на РВІ порівняні зі здоровими дітьми.

У дітей основної групи був знижений як загальний рівень ЛЖК, так і вміст окремих жирних кислот, тобто мало місце виснаження сумарного пулу мікробних метаболітів. У здорових дітей загальний рівень ЛЖК становив $(0,803 \pm 0,340)$ мг/мл, а у дітей з РВІ – $(0,048 \pm 0,008)$ мг/мл ($P < 0,05$), тобто був достовірно нижчим. Таким чином, можна зробити висновок, що при РВІ знижується загальна концентрація ЛЖК у хворих, що призводить до зниження енергоживлення ентероцитів та, відповідно, – до порушень регуляції абсорбції натрію на мембран-

ному рівні, а, отже, сприяє тривалому діарейному синдрому при РВІ (табл. 1).

Як відомо, масляна кислота (С4) є енергосубстратом для епітеліоцитів товстої кишки, і її показники характеризують стан слизової оболонки кишечника [66, 54]. Абсолютні концентрації масляної кислоти у копрофільтратах хворих дітей на початку хвороби були значно знижені, що свідчить про порушення метаболічних процесів на рівні колоноцитів і розвиток дистрофії слизової оболонки за рахунок енергодефіциту, адже рівень масляної кислоти в гострий період РВІ становив лише $(0,017 \pm 0,005)$ проти $(0,69 \pm 0,33)$ мг/мл у здорових дітей ($P < 0,05$).

При оцінці рівня пропіонової кислоти (С3), продуцентами якої є *Veilonella*, *Propionobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium* у більшості дітей відзначали її зниження відносно показників контрольної групи: $(0,0267 \pm 0,006)$ мг/мл проти $(0,640 \pm 0,02)$ мг/мл ($P < 0,001$). Ці зміни свідчать про зміну метаболізму на рівні слизової оболонки кишечника у вигляді порушення мікроциркуляції та трофічних процесів.

Що стосується валеріанової кислоти, яку продукують *Clostridium*, *Megasphaera*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, то її концентрація у дітей з РВІ становила $(0,041 \pm 0,007)$, а у здорових – $(0,048 \pm 0,003)$ мг/мл, статистично значимої різниці ми не встановили (табл. 1).

Таблиця 1

Загальний рівень і концентрація окремих ЛЖК у копрофільтратах здорових дітей та дітей з РВІ в динаміці (M \pm m)

Показник (мг/мл)	Контрольна група (n=33)	Основна група на 1-2-у добу хвороби (n=31)	Основна група на 5-6-у добу хвороби (n=31)	P1-2	P1-3	P2-3
Загальний рівень ЛЖК	$0,803 \pm 0,340$	$0,048 \pm 0,008$	$0,082 \pm 0,0064$	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,05$
Масляна кислота (С4)	$0,690 \pm 0,330$	$0,017 \pm 0,005$	$0,032 \pm 0,0042$	$< 0,05$	$> 0,05$	$< 0,05$
Пропіонова кислота (С3)	$0,640 \pm 0,020$	$0,0267 \pm 0,006$	$0,039 \pm 0,0047$	$< 0,001$	$< 0,001$	$> 0,05$
Валеріанова кислота (С5)	$0,048 \pm 0,003$	$0,041 \pm 0,007$	$0,011 \pm 0,0027$	$> 0,05$	$< 0,01$	$< 0,05$

Примітки: P1-2 – різниця показників у дітей контрольної та основної групи на 1-2-у добу хвороби; P1-3 – на 5-6-у добу хвороби; P2-3 – різниця показників у дітей основної групи на 1-2-у добу та 5-6-у добу хвороби.

Особливості взаємозв'язків різних метаболітів у структурі ЛЖК, що відображають біохімічну активність мікрофлори кишечника були досліджені з допомогою кореляційного аналізу. Встановили, що в обох групах вміст загального рівня ЛЖК у копрофільтратах позитивно зв'язаний з абсолютною концентрацією масляної кислоти ($r=0,917$, $P < 0,01$ і $r=0,503$ $P < 0,01$ відповідно). Але тільки у дітей з РВІ виявлений прямий зв'язок між загальним вмістом ЛЖК та абсолютною концентрацією

пропіонової кислоти ($r=0,654$, $P < 0,01$), у здорових дітей такого зв'язку не було. Тобто при РВІ збільшується роль пропіонової кислоти у формуванні сумарного пулу ЛЖК за рахунок збільшення активності її продуцентів *Veilonella*, *Propionobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, які, як відомо, є облигатними представниками анаеробної мікрофлори, що формує приепітеліальний (глибокий) шар біоплівки кишечника. Таким чином, при РВІ шари біоплівки, обернені до просвіту кишечника, пошкоджу-

ються, натомість відзначається проліферація приепітеліального шару, що свідчить про дисбаланс кишкової мікрофлори на тлі РВІ.

У процесі лікування (на 5-6-у добу) ми повторно визначили вміст метаболітів і кореляцію між основними метаболітами. З'ясувалось, що концентрація ЛЖК в кишечнику на 5-у добу лікування достовірно збільшилась і становила $(0,082 \pm 0,0064)$ мг/мл ($P < 0,05$), що є доброю прогностичною ознакою відновлення нормальних метаболічних процесів у кишечнику, але цей показник все ж був достовірно нижчим, ніж у здорових дітей, тобто до 5-6-ї доби при РВІ метаболічні процеси у просвіті кишечника почали відновлюватись, але не в повному обсязі. Концентрація масляної кислоти до 5-6-ї доби підвищувалась незначно і становила $(0,032 \pm 0,0047)$ мг/мл, причому різниця в її концентрації на початку хвороби та в динаміці захворювання була достовірною ($P < 0,05$). Однак показник масляної кислоти на 5-6-у добу РВІ був нижчим, ніж у контрольній групі дітей, становлячи $(0,690 \pm 0,330)$ мг/мл (табл. 1).

Таким чином, в динаміці РВІ рівень основного метаболіту кишкової мікрофлори – масляної кислоти, на частку якої припадає 60-70 % енергозабезпечення колоноцитів, залишався значно нижчим, ніж у здорових дітей. Це свідчить про повільне відновлення метаболічних процесів у кишечнику, а також про тривалий енергодефіцит колоноцитів, що у свою чергу сприяє уповільненню репарації слизової оболонки кишечника. Крім того, повільне наростання концентрації масляної кислоти в динаміці хвороби означає дефіцит мікроорганізмів-продукентів, до яких належать *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Coprococcus*, *Bacteroides*, *Megasphaera*, *Clostridium*, *Peptococcus*, які належать до облигатної анаеробної флори кишечника.

Вміст пропіонової кислоти в динаміці захворювання, порівняно з її концентрацією на початку хвороби, зріс і становив $(0,039 \pm 0,0047)$ мг/мл, однак не досягав рівня здорових дітей. Отже, вміст пропіонової кислоти, яка впливає на процеси мікроциркуляції, у процесі лікування збільшувався інтенсивніше порівняно з масляною кислотою.

Концентрація валеріанової кислоти на 5-6-у добу достовірно зменшувалась порівняно з 1-2-ю добою РВІ і становила $(0,011 \pm 0,0027)$ мг/мл ($P < 0,05$), що свідчить про поглиблення дефіциту основних субстратів і продукентів (*Peptostreptococcus*, *Peptococcus*) цієї кислоти (табл. 1).

Таким чином, при РВІ спостерігається підвищення концентрації масляної, пропіонової ЛЖК та загального рівня мікробних метаболітів на 5-6-у добу хвороби. Причому жоден з показників у цей період не досягнув рівня значень здорових дітей. Найшвидше відновлювався

вміст пропіонової кислоти, концентрація масляної кислоти наростала дуже повільно, підтримуючи енергодефіцит слизової оболонки. Що стосується валеріанової кислоти, то її концентрація з тривалістю хвороби навпаки зменшувалась, а це може вказувати на подальше поглиблення дефіциту мікроорганізмів-продукентів на тлі РВІ.

Проаналізувавши різниці концентрацій основних ЛЖК та їх загального рівня на 5-6-у добу хвороби, ми повторно вивчили зв'язки між окремими ЛЖК.

Так, в динаміці зберігався прямий зв'язок між загальною концентрацією основних ЛЖК та абсолютними концентраціями масляної та пропіонової кислот ($r = 0,568$, $P < 0,01$; $r = 0,771$, $P < 0,01$ відповідно). Крім того, в процесі лікування ми виявили зворотну кореляцію між абсолютною концентрацією масляної та валеріанової кислот ($r = -0,383$, $P < 0,05$), тобто різке збільшення концентрації масляної кислоти уповільнює відновлення вмісту валеріанової кислоти, чим створює несприятливі умови для репарації слизової оболонки кишечника та відновлення метаболічних процесів при РВІ.

У процесі наукового дослідження ми порівняли концентрацію окремих жирних кислот залежно від ступеня тяжкості РВІ. Загальний рівень ЛЖК був знижений у дітей з різними ступенями інфекції. Найнижчий рівень метаболітів був зафіксований при середньому ступеню РВІ і становив $(0,038 \pm 0,008)$ мг/мл, причому він був достовірно нижчим порівняно зі здоровими дітьми ($P < 0,05$). Достовірної різниці зменшення загального пулу ЛЖК при наростанні ступеня тяжкості РВІ ми не встановили, що дає змогу вважати, що ступінь тяжкості інфекції не відіграє вагомої ролі в активності мікробної мікрофлори і при РВІ пул ЖК буде зменшуватись.

Мінімальний рівень масляної кислоти спостерігався при легкому ступеню тяжкості РВІ і становив $(0,009 \pm 0,0023)$ мг/мл, з наростанням тяжкості інфекції зростав рівень масляної кислоти. Так, при середньому ступеню він становив $(0,0124 \pm 0,0039)$, а при тяжкому – $(0,0404 \pm 0,2200)$ мг/мл. Це може бути маркером наростання лактазної недостатності при РВІ.

Рівень пропіонової кислоти був найнижчим при середньому ступеню захворювання і становив $(0,0204 \pm 0,057)$ мг/мл, причому він був нижчим порівняно зі здоровими дітьми – $(0,64 \pm 0,02)$ мг/мл ($P < 0,05$). Найвищий вміст цієї кислоти був зафіксований у дітей з легким ступенем недуги – $(0,0385 \pm 0,172)$ мг/мл, однак він теж був нижчим порівняно з показниками контрольної групи ($P < 0,05$).

Вміст валеріанової кислоти був нижчим у дітей з легким ступенем недуги і становив $(0,0027 \pm 0,00028)$ порівняно із середнім ступенем РВІ – $(0,0059 \pm 0,0014)$ мг/мл ($P < 0,05$).

Дослідивши загальний рівень мікробних метаболітів, зміни концентрації кислот та кореляцію при різних ступенях тяжкості РВІ, ми вирішили відстежити показники залежно від віку дітей.

Так, у дітей першого року життя загальний рівень ЛЖК становив $(0,045 \pm 0,0078)$ і був нижчим, ніж у дітей старше 1 року – $(0,058 \pm 0,025)$ мг/мл, причому у всіх загальний рівень ЛЖК був достовірно нижчий, ніж у здорових – $(0,803 \pm 0,34)$ мг/мл ($P < 0,05$).

Концентрація масляної кислоти у дітей першого року життя становила $(0,019 \pm 0,0074)$ і була достовірно нижчою, ніж у контрольної групи дітей – $(0,69 \pm 0,33)$ мг/мл ($P < 0,05$). Отже у зазначеної вікової групи дітей мав місце значніший енергодефіцит у товстій кишці.

Вміст пропіонової кислоти також був нижчим у дітей різного віку порівняно з контрольною групою – $(0,640 \pm 0,02)$ мг/мл, але у дітей першого року життя відносна концентрація цієї кислоти була вищою порівняно з дітьми старше 1 року: $(0,022 \pm 0,0034)$ та $(0,013 \pm 0,004)$ мг/мл відповідно. Це пояснюється різними видами субстратів ферментації, що залежать від особливостей харчування дітей різних вікових груп.

Найнижчий рівень валеріанової кислоти також був зафіксований у дітей першого року життя – $(0,0038 \pm 0,007)$, і статистично значимо відрізнявся від показника у здорових дітей – $(0,048 \pm 0,003)$ мг/мл ($P < 0,05$).

Таким чином, в усіх дітей відзначали збіднення загального пулу ЛЖК. Крім того, у дітей першого року життя відносні концентрації масляної та валеріанової кислот були нижчими, ніж у старших пацієнтів, а відносна концентрація пропіонової кислоти в останніх була нижчою, ніж у дітей першого року життя. Виявлені особливості дають змогу зрозуміти, що характер метаболічних процесів залежить від основних продуцентів ЛЖК та відповідно до характеру ферментуючих субстратів. У дітей першого року життя не завершений процес колонізації кишечника облігатною анаеробною мікрофлорою, яка, як відомо, є основним продуцентом активних метаболітів (С3-С5), тому у них значніший дефіцит досліджуваних сполук при РВІ.

Отже, при РВІ незалежно від ступеня тяжкості та віку хворих знижується функціональна активність мікробної мікрофлори кишечника, особливо мікроорганізмів-продуцентів активних метаболітів ЛЖК, що харак-

теризується виснаженням загального пулу метаболітів і зменшенням абсолютних концентрацій основних летких жирних кислот, які виконують важливі фізіологічні функції. Крім того, при РВІ виявляється значний енергодефіцит ентероцитів внаслідок зменшення вмісту масляної кислоти та порушення мікроциркуляції на рівні слизової оболонки кишечника через дефіцит пропіонової та масляної кислот, що разом призводить до порушення метаболічних процесів у кишечнику. В динаміці хвороби концентрації більшості показників мікробного метаболізму зростали, але не досягали нормального рівня, тобто мало місце повільне відновлення активності нормальної мікрофлори.

Висновки

1. При РВІ порушується мікробіоценоз кишечника і виникає метаболічний дисбаланс, що відображається змінами концентрацій основних мікробних метаболітів – летких жирних кислот: масляної, пропіонової та валеріанової, а також загального пулу ЛЖК.

2. У дітей з РВІ знижується загальний рівень ЛЖК порівняно зі здоровими дітьми ($P < 0,05$), що призводить до зниження енергоживлення ентероцитів і відповідно до порушень регуляції абсорбції натрію на мембранному рівні, а, отже, сприяє тривалому діарейному синдрому при РВІ. Абсолютні концентрації масляної, пропіонової та валеріанової кислот при РВІ значно нижчі порівняно зі здоровими дітьми ($P < 0,01$), що свідчить про порушення метаболічних та енергетичних процесів на рівні колоноцитів.

3. У процесі лікування РВІ (на 5-6-у добу) концентрація ЛЖК збільшується ($P < 0,05$), що є доброю прогностичною ознакою відновлення нормальних метаболічних процесів у кишечнику.

4. Найнижчий рівень метаболітів зафіксовано при середньому ступеню РВІ, причому він був нижчим порівняно зі здоровими дітьми ($P < 0,05$).

5. Загальний рівень ЛЖК у дітей до одного року був нижче, ніж у дітей старшого віку, причому у всіх хворих загальний рівень ЛЖК був нижчий, ніж у здорових ($P < 0,05$).

6. Концентрація масляної і валеріанової кислоти у дітей першого року життя була нижчою, ніж у контрольної групи дітей ($P < 0,05$). Отже у цієї вікової групи дітей має місце значніший енергодефіцит у товстій кишці.

Література

1. Крамарев С.А. Острые кишечные инфекции у детей: клиника, диагностика, лечение / С.А. Крамарев // *Здоров'я України*. – 2013. – № 2. – С. 25-26.
2. Dennehy P. H. Treatment and prevention of rotavirus Infection in children / P. H. Dennehy // *Curr. Infect. Dis. Rep.* – 2013. – Vol. 15 (3). – P. 242-250.
3. Забігайло Ю.Ю. Особливості ротавірусної інфекції, що перебігає з дисахаридазною недостатністю, у дітей: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01.10 «педіатрія» / Ю.Ю. Забігайло. – Запоріжжя, 2015. – 21 с.
4. Коган Н.В. Ротавирусная инфекция у детей: значение изменений маркеров метаболической активности анаэробной микрофлоры кишечника: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01.09 «педіатрія» / Н.В. Коган. – Красноярск, 2009. – 21 с.
5. Мазанкова Л.Н. Ротавирусная инфекция у детей раннего возраста: обоснование пробиотической терапии / Л.Н. Мазанкова, Г.Ю. Яковлева, М.Д. Ардатская // *Детские инфекции*. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 52-56.
6. Урсова Н.И. Дисбактериозы кишечника у детей: рук. для практ. врачей / Н.И. Урсова. – М., 2006. – 240 с.
7. Украинцев С.Е. Динамика спектра короткоцепочных жирных кислот в кале у детей с вирусными диареями на фоне применения смеси с пробиотиками / С.Е. Украинцев // *Педиатрия: журнал им. Г.Н. Сперанского*. – 2008. – № 6, Т. 87. – С. 83-86.
8. Мескина Е.Р. Особенности микробиоты у детей с отягощенным преморбидным состоянием при вирусных диареях. Способы коррекции нарушений / Е.Р. Мескина // *Русский медицинский журнал*. – 2011. – Т. 19, № 18. – С. 1126-1130.
9. Белобородова Н.В. Метаболиты анаэробных бактерий (летучие жирные кислоты) и реактивность макроорганизма / Н.В. Белобородова, С.М. Белобородова // *Антибиотики и химиотерапия*. – 2000. – № 2. – С. 28-36.

References

1. Kramarev, S.A. (2013). Ostrye kishhechnye infektsii u detey: klinika, diagnostika, lecheniye [Acute intestinal infections in children: clinic, diagnosis, treatment]. *Zdorovia Ukrainy – Health of Ukraine*, 2, 25-26 [in Russian].
2. Dennehy, P.H. (2013). Treatment and prevention of rotavirus Infection in children. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 15 (3), 242–250.
3. Zabihailo, Yu.Yu. (2015). Osoblyvosti rotavirusnoi infektsii, shcho perebihaiye z dysakharydnoiu nedostatnisiu u ditei [Features of rotavirus infection with disaccharidase deficiency in children]. *Candidate's Extended abstract. Zaporizhzhia* [in Ukrainian].
4. Kohan, N.V. (2009). Rotavirusnaya infektsiya u detey: znacheniye izmeneniye markerov metabolicheskoy aktivnosti anaerobnoy mikroflory kishhechnika [Rotavirus infection in children: the significance of changes in the markers of metabolic activity of anaerobic intestinal microflora]. *Candidate's Extended abstract. Krasnoyarsk* [in Russian].
5. Mazankova, L.N., Yakovleva, G.Yu., & Ardatskaya, M.D. (2011). Rotavirusnaya infektsiya u detey rannego vozrasta: obosnovaniye probioticheskoy terapii [Rotavirus infection in young children: rationale for probiotic therapy]. *Detskiye infektsii – Children's Diseases*, 2, 52-56 [in Russian].
6. Ursova, N.I. (2006). *Dysbakteriozy kishhechnika u detey: ruk. dlya prakt. vrachey [Intestinal dysbiosis in children]*. Moscow [in Russian].

10. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism / K. van Eunen, A.K. Groen, K. Venema [et al.] // *J. Lipid Res.* – 2013. – N 54(9). – С. 2325-2340.
11. The warburg effect dictates the mechanism of butyrate-mediated histone acetylation and cell proliferation / D. R. Donohoe, L. B. Collins, A. Wali [et al.] // *Mol. Cell.* – 2012. – Vol. 48. – P. 612-626.
12. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice / M. H. Kim, S. G. Kang, J. H. Park [et al.] // *Gastroenterology*. – 2013. – Vol. 145. – P. 396-406, e391-310.
13. Regulation of inflammation by short chain Fatty acids / M. A. Vinolo, H. G. Rodrigues, R. T. Nachbar [et al.] // *Nutrients*. – 2011. – Vol. 3. – P. 858-876.
14. Lactate and short chain fatty acids produced by microbial fermentation downregulate proinflammatory responses in intestinal epithelial cells and myeloid cells / C. Iraporda, A. Errea, D. E. Romanin [et al.] // *Immunobiology*. – 2015. – Vol. 220. – P. 1161-1169.
15. Peterson L. W. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis / L. W. Peterson, D. Artis // *Nat. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 14. – P. 141-153.
16. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition / P. V. Chang, L. Hao, S. Offermanns [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2014. – Vol. 111. – P. 2247-2252.
17. Мазанкова Л.Н. Характеристика метаболической активности кишечной микрофлоры и методы пробиотической коррекции при вирусных диареях у детей / Л.Н. Мазанкова, Н.О. Ильина, Л.В. Бегиашвили // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2009. – №4. – С. 44-48.
18. Ардатская М.Д. Летучие жирные кислоты и их диагностическое и прогностическое значение в гастроэнтерологической клинике / М.Д. Ардатская, О.Н. Минушкин, Н.И. Прихно // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол.* – 2000. – Т. X, № 3. – С. 63-70.

7. Ukraintsev, S.E. (2008). Dinamika spektra korotkotsepochnykh zhyrnykh kislot v kale u detey s virusnymi diareyami na fone primeniye smesi s probiotikami [The dynamics of the spectrum of short-chain fatty acids in feces in children with viral diarrhea with the use of a mixture with probiotics]. *Pediatriya: Zhurnal im. G.N. Speranskogo – Pediatrics: Journal by G.N. Speranskogo*, 6 (87), 83-86 [in Russian].
8. Meskina, E.R. (2011). Osobnosti mikrobioty u detey s otyagoshchennym premorbidnym sostoyaniem pri virusnykh diareyakh. Sposoby korrektsii narusheniye [Features of microbiota in children with a burdened premorbid state with viral diarrhea. Ways to correct violations]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal – Russian Medical Journal*, 18, 1126-1130 [in Russian].
9. Beloborodova, N.V., & Beloborodova, S.M. (2000). Metabolity anaerobnykh bakteriy (letuchiye zhyrnye kisloty) i reaktivnost makroorganizma [Metabolites of anaerobic bacteria (volatile fatty acids) and macroorganism reactivity]. *Antibiotiki i khimioterapiya – Antibiotics and Chemotherapy*, 2, 28-36 [in Russian].
10. Eunen, K., Groen, A.K., Venema, K., Reijngoud, D.J., Bakker, B.M., & Besten, G. (2013). The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J. Lipid. Res.*, 54(9), 2325-2340.

11. Donohoe, D.R., Collins, L.B., Wali A., Bigler, R., Sun, W., & Bultman, S.J. (2012). The Warburg effect dictates the mechanism of butyrate-mediated histone acetylation and cell proliferation. *Mol. Cell.*, 48, 612–626.
12. Kim, M.H., Kang, S.G., Park, J.H., Yanagisawa, M., & Kim, C.H. (2013). Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice. *Gastroenterology*, 145, 396–406.
13. Vinolo, M.A., Rodrigues, H.G., Nachbar, R.T., & Curi R. (2011). Regulation of inflammation by short chain Fatty acids. *Nutrients*, 3, 858-876.
14. Iraporda, C., Errea, A., Romanin, D.E, Cayet, D., Pereyra, E., Pignataro, O., ... Rumbo, M. (2015). Lactate and short chain fatty acids produced by microbial fermentation downregulate proinflammatory responses in intestinal epithelial cells and myeloid cells. *Immunobiology*, 220, 1161-1169.
15. Peterson, L.W., Artis, D. (2014). Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.*, 4, 141-153.
16. Chang, P.V., Hao, L., Offermanns, S., & Medzhitov, R. (2014). The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111, 2247-2252.
17. Mazankova, L.N. (2009). Kharakteristika metabolicheskoy aktivnosti kishhechnoy mikroflory i metody probioticheskoy korreksii pri virusnykh diareyakh u detey [Characterization of the metabolic activity of intestinal microflora and methods of probiotic correction for viral diarrhea in children]. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii – Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 4, 44-48 [in Russian].
18. Ardatskaia, M.D. (2000). Letuchiye zhyrnye kisloty i ikh diagnosticheskoye i prognosticheskoye znachenie v gastroenterologicheskoy klinike [Fatty acids and their diagnostic and prognostic value in the gastroenterological clinic]. *Ros. zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii – Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology*, 3, 63-70 [in Russian].

VOLATILE FATTY ACIDS AS METABOLIC MARKERS OF INTESTINAL MICROBIocenosis IN CHILDREN WITH ROTAVIRUS INFECTION

I.I. Nezhoda, O.M. Naumenko, O.V. Nikulchenko
M. Pyrohov Vinnytsia National Medical University

SUMMARY. *The aim of the study* – to estimate the level of metabolic activity of intestinal microbiocenosis in children with rotavirus infection by assessing the level and spectrum of volatile fatty acids in the dynamics of the disease, depending on the severity degree of infection and age of the sick children.

Patients and Methods. *There were 64 young children under observation who had an average age of (18.5±1.2) months, the main group was formed with children with rotavirus infection (n=31), control group (n=33) – healthy children, compared by the age and gender. To determine the metabolic activity of the microflora and evaluate the metabolic and energetic processes in the lumen of the intestine were studied the main active metabolites – volatile fatty acids: butyric, propionic and valeric acids using gas-liquid chromatography of the defecation, at the beginning of the disease (1–2 days of disease) and in dynamics at 5–6 days of treatment.*

Gas-liquid chromatography of the faeces was performed on the basis of the calculation of an internal standard, which involves the addition of a substance of known mass and peak area to a certain mass of the test sample.

Results. *The total level of VFA and the content of individual fatty acids was reduced in the children of the main group, so there was a depletion of the pool of microbial metabolites. In healthy children, the total level of VFA was (0.803±0.340) mg/ml, and in children with RVI – (0.048±0.008) mg/ml (P<0.05). Absolute concentrations of butyric acid in coprophylates of sick children were significantly reduced (0.017±0.005) versus (0.69±0.33) mg/ml in healthy children (P<0.05); the concentration of propionic acid was (0.0267±0.006) mg/ml, and in children of the control group – (0.640±0.02) mg/ml (P<0.001). These variances indicate changes in metabolism at the basic of the intestinal mucosa in the form of impaired microcirculation and trophic processes. In the course of treatment (5–6 days), the concentration of VFA significantly increased and amounted to (0.082±0.0064) mg/ml, (P<0.05), which is a good prognostic sign of the restoration of normal metabolic processes in the intestine. The lowest level of metabolites was recorded in patients with moderate degree of RVI and was (0.038±0.008) mg/ml, it was significantly lower compared to healthy children (P<0.05). The total VFA in children of the first year of life was (0.045±0.0078) and was lower than in children aged 1 year and older which was (0.058±0.025) mg/ml, and in all children total VFA was significantly lower than in healthy (0.803±0.34) mg/ml (P<0.05).*

Conclusions. *The RVI in patients significantly inhibited activity of the intestinal microflora, which is characterized by a likely decreasing of the total concentration of VFA*

– (0.048±0.008) mg/ml compared to healthy children – (0.803±0.34) mg/ml at $P<0.01$, and concentrations of individual acids: butyric – (0.017±0.005) mg/ml, propionic – (0.0267±0.006) mg/ml and valeric acids – (0.041±0.007) mg/ml compared to healthy children ($P<0.01$), which indicates impaired metabolic processes at the level of colonocytes.

Key words: rotavirus infection; children; gut microbiocenosis; volatile fatty acids.

Відомості про авторів:

Незгода Ірина Іванівна – д. мед. н., професор, завідувач кафедри дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; e-mail: nezgoda59@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-7925-3398>

Науменко Ольга Миколаївна – кандидат медичних наук, асистент кафедри дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; e-mail: naumenko0807@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9771-4071>

Нікульченко Олег Володимирович – асистент кафедри дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; e-mail: doctorolegnick@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3477-0495>

Information about authors:

Nezhoda I.I. – MD, Professor, the Head of Children's Infectious Diseases Department of M. Pyrohov Vinnytsia National Medical University; e-mail: nezgoda59@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-7925-3398>

Naumenko O.M. – PhD, assistant of Children's Infectious Diseases Department of M. Pyrohov Vinnytsia National Medical University; e-mail: naumenko0807@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9771-4071>.

Nikulchenko O.V. – assistant of Children's Infectious Diseases Department of M. Pyrohov Vinnytsia National Medical University; e-mail: doctorolegnick@gmail.com; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3477-0495>

Конфлікт інтересів: немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 19.09.2019 р.