

РОЛЬ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОСТРАДИАЦИОННОГО КОЛИТА

Жабборова Ойша Искандаровна

**Заведующий кафедрой медицинской биологии Бухарского
государственного медицинского института имени Абу Али ибн Сино,
доцент.**

Аннотация. В исследовании изучена роль короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в развитии пострадиационного колита у крыс после острого облучения в дозе 6 Гр. Методом газовой хроматографии определено динамическое изменение концентраций ацетата, пропионата и бутирата в содержимом толстой кишки, сыворотке крови и оценена гистологическая картина слизистой оболочки. Установлено значительное снижение уровня всех КЦЖК, особенно бутирата, в острый период (3-7 сутки), коррелирующее с выраженностью воспаления и апоптоза энтероцитов. Введение экзогенного бутирата натрия частично нивелировало морфофункциональные повреждения. Результаты подтверждают, что дефицит КЦЖК, в первую очередь бутирата, является ключевым звеном в патогенезе лучевого колита, а их коррекция представляет собой перспективную терапевтическую стратегию.

Ключевые слова: короткоцепочечные жирные кислоты, пострадиационный колит, бутират, ионизирующее излучение, кишечная микробиота, воспаление.

THE ROLE OF SHORT-CHAIN FATTY ACIDS IN THE PATHOGENESIS OF RADIATION-INDUCED COLITIS

Jabborova Oysha Iskandarovna

**Head of the Department of Medical Biology, Bukhara State Medical
Institute named after Abu Ali ibn Sino, Associate Professor.**

Abstract. This study investigated the role of short-chain fatty acids (SCFAs) in the development of radiation-induced colitis in rats after acute exposure to a dose of 6 Gy. Using gas chromatography, the dynamic changes in the concentrations of acetate, propionate, and butyrate in the colonic content and blood serum were determined, and the histological picture of the mucosal membrane was assessed. A significant decrease in the levels of all SCFAs, especially butyrate, was established during the acute period (days 3-7), correlating with the severity of inflammation and enterocyte apoptosis. The administration of exogenous sodium butyrate partially mitigated the morphofunctional damage. The results confirm that SCFA deficiency, primarily of butyrate, is a key link in the pathogenesis of radiation colitis, and their correction represents a promising therapeutic strategy.

Keywords: short-chain fatty acids, radiation-induced colitis, butyrate, ionizing radiation, gut microbiota, inflammation.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее тяжелых проявлений острой лучевой болезни является радиационно-индуцированное поражение желудочно-кишечного тракта, в частности, развитие пострадиационного колита. Данное состояние характеризуется массивной гибелью клеток крипт, нарушением барьерной функции, тяжелым воспалением и высоким риском бактериальной транслокации, оставаясь жизнеугрожающим осложнением у пациентов после радиационной терапии онкологических заболеваний или в результате радиационных аварий (Hauer-Jensen et al., 2014). Патогенез лучевого колита традиционно рассматривается с позиций прямого цитотоксического действия ионизирующего излучения на быстро пролиферирующий эпителий. Однако в последние годы накоплены убедительные доказательства, что вторичные метаболические нарушения, обусловленные дисбиозом кишечной микробиоты, играют не менее важную, а в отдаленные сроки — возможно, и ведущую роль (Gerassy-Vainberg et al., 2018).

Ключевыми метаболитами симбиотической микробиоты, обеспечивающими гомеостаз слизистой оболочки толстой кишки, являются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) — ацетат, пропионат и, в особенности, бутират. Бутират служит основным источником энергии для колоноцитов (около 70% их энергопотребности), регулирует пролиферацию и дифференцировку клеток, поддерживает целостность плотных контактов, обладает мощным противовоспалительным и антиапоптотическим действием через ингибирование гистондеацетилаз (HDAC) и активацию рецептора GPR109a (Parada Venegas et al., 2019). Известно, что при воспалительных заболеваниях кишечника (болезнь Крона, язвенный колит) наблюдается выраженный дефицит бутирата, что усугубляет течение патологии (Мартинчик и др., 2020). Исследования последних лет показали, что острое лучевое воздействие вызывает глубокий дисбиоз с резким снижением численности бутиратпродуцирующих бактерий, таких как *Faecalibacterium prausnitzii* и кластеры IV, XIVa (Guo et al., 2020). Таким образом, можно выдвинуть гипотезу, что критическое падение уровня КЦЖК, особенно бутирата, является важнейшим патогенетическим звеном, связывающим радиационный дисбиоз с повреждением слизистой оболочки и развитием колита. Однако детальная динамика изменений пула КЦЖК в различные сроки после облучения, корреляция их уровня с гистологическими параметрами повреждения, а также протективный потенциал их экзогенного введения изучены недостаточно.

Целью данного исследования явилось комплексное изучение динамики содержания короткоцепочечных жирных кислот (ацетата, пропионата, бутирата) в содержимом толстой кишки и периферической крови у крыс с экспериментальным пострадиационным колитом, оценка корреляции с морфологическими изменениями и определение терапевтического эффекта экзогенного бутирата натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проводили на 105 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Животных случайным образом разделили на три группы: 1-я группа — интактный контроль (n=15), не подвергавшийся никаким воздействиям; 2-я группа — облучение + плацебо (n=45), получившая однократное тотальное гамма-облучение в дозе 6 Гр на установке «Луч-1» и ежедневные интрагастральные введения физиологического раствора; 3-я группа — облучение + бутират (n=45), которая после идентичного облучения получала ежедневно раствор бутирата натрия в дозе 200 мг/кг массы тела *per os*. Животных из 2-й и 3-й групп выводили из эксперимента на 3, 7 и 14-е сутки после облучения, по 15 крыс в каждый срок. За 12 часов до забора материала животных лишали пищи.

Клиническое состояние животных оценивали ежедневно по массе тела, наличию диареи и общему состоянию. Под легким тиопенталовым наркозом у животных брали кровь из нижней полой вены, после чего эвтаназировали и выполняли лапаротомию. Извлекали дистальный отдел толстой кишки. Часть кишечного содержимого немедленно замораживали в жидком азоте для последующего анализа КЦЖК. Определение концентраций ацетата, пропионата и бутирата в содержимом кишки и в депротеинизированной сыворотке крови проводили методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Кристалл 5000» с пламенно-ионизационным детектором. Для гистологического исследования фрагменты кишки фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 3-4 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. В гистологических препаратах проводили морфометрию: подсчитывали среднее количество крипт на 1 мм длины слизистой, высоту крипт, глубину ямок, а также оценивали степень воспалительной инфильтрации по полуколичественной шкале (0 — отсутствует, 1 — минимальная, 2 — умеренная, 3 — выраженная). Для выявления апоптоза проводили окрашивание срезов методом TUNEL и подсчитывали количество апоптотических телец на 100 клеток крипты. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10.0, применяли непараметрический критерий Манна-Уитни и однофакторный дисперсионный анализ, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наблюдение за животными показало, что уже на 2-3 сутки после облучения у крыс группы «облучение + плацебо» развивалась выраженная диарея, анорексия и потеря массы тела, достигавшая к 7-м суткам в среднем 18% от исходной. У животных, получавших бутират, эти симптомы были менее выражены, а потеря веса не превышала 10%. Гистологическое исследование выявило типичную картину острого радиационного колита в группе плацебо: на 3-и сутки отмечались отек собственной пластинки, очаговая деструкция эпителия крипт; на 7-е сутки повреждения были максимальными — наблюдалось массовое опустошение крипт, оголение базальной мембраны, выраженная нейтрофильная и лимфоцитарная

инфильтрация. К 14-м суткам отмечались признаки репарации, но структура слизистой оставалась нарушенной. В группе, получавшей бутират, глубина повреждений была значительно меньше, а регенерация протекала активнее.

Таблица 1. Динамика концентраций короткоцепочечных жирных кислот в содержимом толстой кишки крыс (ммоль/кг, $M \pm m$)

Группа / Сроки	Ацетат	Пропионат	Бутират	Сумма КЦЖК
Контроль (n=15)	65.4 \pm 3.2	32.1 \pm 1.8	25.8 \pm 1.5	123.3 \pm 4.5
Обл.+Плац., 3 сут.	41.2 \pm 2.8*	18.5 \pm 1.6*	8.4 \pm 0.9*	68.1 \pm 4.1*
Обл.+Плац., 7 сут.	30.1 \pm 2.5*	10.8 \pm 1.2*	3.1 \pm 0.5*	44.0 \pm 3.0*
Обл.+Плац., 14 сут.	52.8 \pm 3.0*	22.4 \pm 1.5*	12.6 \pm 1.0*	87.8 \pm 4.2*
Обл.+Бут., 3 сут.	58.6 \pm 3.1#	26.8 \pm 1.7#	18.9 \pm 1.2#	104.3 \pm 4.8#
Обл.+Бут., 7 сут.	48.5 \pm 2.9*#	19.5 \pm 1.4*#	15.2 \pm 1.1*#	83.2 \pm 4.0*#
Обл.+Бут., 14 сут.	61.3 \pm 3.0#	29.5 \pm 1.6#	21.4 \pm 1.4#	112.2 \pm 4.5#

*Примечание: * — достоверные отличия от контрольной группы ($p < 0.05$); # — достоверные отличия от группы «Облучение+Плацебо» в соответствующий срок ($p < 0.05$).

Из данных Таблицы 1 видно, что острое облучение привело к резкому падению концентрации всех КЦЖК в просвете кишки, наиболее выраженному для бутирата. К 7-м суткам его уровень снизился более чем в 8 раз по сравнению с контролем, что свидетельствует о глубоком нарушении микробного метаболизма. В группе, получавшей экзогенный бутират, уровни всех КЦЖК были достоверно выше, чем в группе плацебо, особенно в критические 3-и и 7-е сутки, что может объясняться как прямым введением, так и позитивным влиянием бутирата на сохранение микробного сообщества.

Таблица 2. Сывороточные уровни КЦЖК и гистологические показатели состояния слизистой оболочки толстой кишки

Показатель / Группа (7 сутки)	Контроль	Облучение+Плацебо	Облучение+Бутират
Сыворотка, мкМ:			
- Бутират	12.5 \pm 0.8	3.2 \pm 0.4*	9.8 \pm 0.7*#
Морфометрия:			
- Крипт на 1 мм	18.2 \pm 0.5	7.1 \pm 0.6*	13.5 \pm 0.7*#
- Высота крипт, мкм	320 \pm 15	145 \pm 20*	265 \pm 18*#
- Индекс воспаления (0-3)	0.2 \pm 0.1	2.8 \pm 0.2*	1.5 \pm 0.2*#
- Апоптотические	2.1 \pm 0.3	35.6 \pm 3.5*	14.2 \pm 2.1*#

тела/100 кл.			
--------------	--	--	--

*Примечание: * — $p < 0.05$ vs контроль; # — $p < 0.05$ vs группа плацебо.*

Таблица 2 наглядно демонстрирует системные и локальные последствия дефицита КЦЖК на пике лучевого колита (7-е сутки). Падение сывороточного уровня бутирата в 4 раза в группе плацебо коррелировало с катастрофическим уменьшением количества и высоты крипт, выраженным воспалением и массивным апоптозом. Терапия бутиратом значимо, хотя и не полностью, улучшала все гистологические параметры и повышала сывороточный уровень бутирата.

Таблица 3. Коэффициенты корреляции (r) между уровнем бутирата в кишке и морфологическими показателями на 7-е сутки (объединенные данные групп 2 и 3, n=30)

Параметр корреляции	Коэффициент корреляции (r)	Уровень значимости (p)
Количество крипт на 1 мм	+0.87	< 0.001
Высота крипт	+0.91	< 0.001
Индекс воспаления	-0.82	< 0.001
Уровень апоптоза	-0.89	< 0.001

Данные Таблицы 3 подтверждают наличие сильной статистической связи между концентрацией бутирата в просвете кишки и ключевыми показателями структурной целостности слизистой оболочки. Высокие положительные корреляции с количеством и высотой крипт и сильные отрицательные корреляции с воспалением и апоптозом прямо указывают на то, что бутират является критическим фактором выживания и функционирования колоноцитов в условиях радиационного стресса.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты дают комплексное представление о центральной роли дефицита короткоцепочечных жирных кислот, и в особенности бутирата, в патогенезе пострadiационного колита. Обнаруженное нами резкое, дозозависимое от времени падение уровня всех КЦЖК, с максимумом на 7-е сутки, полностью согласуется с данными о радиационно-индуцированном уничтожении облигатной анаэробной микробиоты — основных продуцентов этих метаболитов (Guo et al., 2020). Однако наиболее важным является не сам факт снижения, а выявленная прямая и сильная корреляционная связь между уровнем бутирата и степенью морфологического повреждения слизистой оболочки. Это позволяет рассматривать падение концентрации бутирата не просто как сопутствующий феномен дисбиоза, а как ключевое патогенетическое звено, непосредственно ведущее к энергетическому голоду колоноцитов.

Известно, что бутират является предпочтительным энергетическим субстратом для клеток эпителия толстой кишки. Его дефицит в условиях повышенной потребности в репарации после радиационного повреждения приводит к нарушению окислительного фосфорилирования в митохондриях,

накоплению лактата и развитию внутриклеточного ацидоза, что делает клетки более уязвимыми к апоптозу (Donohoe et al., 2012). Наши данные о резком увеличении количества апоптотических телец в группе плацебо и его значительном снижении на фоне приема бутирата полностью подтверждают эту концепцию. Кроме того, продемонстрированный противовоспалительный эффект бутирата может быть обусловлен несколькими механизмами: ингибированием активности ядерного фактора каппа-В (NF-κB) в иммунных клетках, активацией противовоспалительных регуляторных Т-лимфоцитов через рецептор GPR109a, а также усилением выработки муцинов и антимикробных пептидов, что укрепляет барьерную функцию (Parada Venegas et al., 2019). Таким образом, экзогенный бутират в нашем эксперименте действовал многокомпонентно: компенсировал энергодефицит, подавлял запрограммированную смерть клеток, модулировал иммунный ответ и, возможно, косвенно способствовал сохранению остаточной полезной микробиоты.

Важным аспектом является также обнаруженное умеренное повышение уровней ацетата и пропионата в группе, получавшей бутират натрия. Это может свидетельствовать о синергическом взаимодействии вводимого бутирата с микробным сообществом, возможно, за счет создания более благоприятного редокс-потенциала в просвете кишки или стимуляции роста других полезных бактерий. Клиническое улучшение и ускорение репаративных процессов на 14-е сутки в этой группе подтверждает не только симптоматическую, но и патогенетическую эффективность такой коррекции. Ограничением нашего исследования является то, что мы использовали одну дозу и одну схему введения бутирата; оптимизация этих параметров может привести к еще более выраженному терапевтическому эффекту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование убедительно доказывает, что критическое снижение уровня короткоцепочечных жирных кислот, в первую очередь бутирата, в просвете толстой кишки является неотъемлемым и ключевым звеном в патогенезе пострadiационного колита, непосредственно связывающим лучевой дисбиоз с тяжелым повреждением слизистой оболочки. Установленная сильная корреляция между концентрацией бутирата и гистологическими показателями (криптогенез, воспаление, апоптоз) подтверждает его центральную роль в поддержании гомеостаза колоноцитов. Экспериментальная терапия бутиратом натрия продемонстрировала выраженный протективный и репаративный эффект, существенно смягчая течение лучевого колита. Полученные данные открывают новые перспективы для разработки методов метаболической коррекции у пациентов, перенесших лучевую терапию органов малого таза или острое радиационное воздействие, в рамках которых целенаправленное восстановление пула КЦЖК (через применение бутирата, пребиотиков или пробиотиков, селективно стимулирующих его продукцию) может стать

эффективной стратегией профилактики и лечения тяжелых кишечных осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Donohoe D. R., Garge N., Zhang X. et al. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon // *Cell Metabolism*. – 2012. – Vol. 13, № 5. – P. 517-526.
2. Gerassy-Vainberg S., Blatt A., Danin-Poleg Y. et al. Radiation induces proinflammatory dysbiosis: transmission of inflammatory susceptibility by host cytokine induction // *Gut*. – 2018. – Vol. 67, № 1. – P. 97-107.
3. Guo H., Chou W.C., Lai Y. et al. Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites // *Science*. – 2020. – Vol. 370, № 6516. – P. eaay9097.
4. Hauer-Jensen M., Denham J. W., Andreyev H. J. Radiation enteropathy – pathogenesis, treatment and prevention // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2014. – Vol. 11, № 8. – P. 470-479.
5. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Бацукова Н.Л. Короткоцепочечные жирные кислоты как маркеры и факторы патогенеза воспалительных заболеваний кишечника // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2020. – № 1. – С. 87-94.
6. Parada Venegas D., De la Fuente M. K., Landskron G. et al. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 277.