

О.В. Головенко, И.Л. Халиф, А.О. Головенко
ФГБУ «ГНЦ колопроктологии» Минздравсоцразвития России

Лечение заболеваний кишечника масляной кислотой

Введение

В ходе ферментации пищевых углеводов бактериями толстой кишки вырабатываются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), из которых ключевой является масляная кислота или бутират [1]. Это соединение оказывает широкий спектр воздействия на эпителий толстой кишки, являясь основным энергетическим субстратом для эпителиоцитов [2]. Кроме того, в последние годы было подробно изучено его действие и при различных патологических процессах, таких как неспецифическое воспаление, канцерогенез и окислительный стресс, а специально разработанные лекарственные препараты масляной кислоты стали успешно применяться как в научных исследованиях, так и в клинической практике.

Начало разработки препаратов масляной кислоты положили эпидемиологические исследования, в которых было изучено благоприятное влияние приема пищевых волокон – источника масляной кислоты – на частоту возникновения колоректального рака [3–4], воспалительных заболеваний толстой кишки [5–6] и колита отключенной кишки [7]. Поскольку современная западная диета содержит относительно небольшую долю пищевых волокон, с 1990-х гг были предприняты попытки терапевтического применения как пищевых волокон, так и самой масляной кислоты [8]. Для лечения заболеваний кишечника масляная кислота первоначально вводилась ректально, так как при пероральном употреблении она быстро разлагалась и всасывалась в желудке. Кроме того, местное применение препарата ограничивали его специфический запах, а также невозможность доставить вещество в более проксимальные отделы толстой кишки. В связи с этим, в 1999 г был разработан препарат в форме таблеток, содержащих бутират натрия в полимерной оболочке, обеспечивающей рН-зависимое высвобождение молекулы активного вещества. В попытке увеличить выделение лекарственного вещества в дистальных отделах толстой кишки, где масляная кислота оказывает максимальный эффект, компанией Cosmo в 2009 г был разработан препарат Закол (Zacol), содержащий масляную кислоту в форме бутирата кальция и пребиотик инулин [5], а в 2011 году Закол появился на отечественном фармацевтическом рынке под торговым названием Закофальк.

В таблетках Закофальк реализована полимерная мультиматриксная система (NMX) [108], использующая липофильные и гидрофильные вспомогательные вещества, заключенные в оболочку с рН-зависимым высвобождением. После распада этой оболочки в терминальном отделе подвздошной кишки жидкость, содержащаяся в просвете кишки, взаимодействует с таблеткой, приводя к набуханию ядра и образованию вязкой внешней гелеобразной массы. По мере продвижения таблетки по толстой кишке эта вязкая масса постепенно отделяется от ядра таблетки, доставляя масляную кислоту к слизистой оболочке. Липофильные компоненты замедляют проникновение воды к ядру клетки, тем самым пролонгируя действие препарата. Эффективное распределение препаратов, заключенных в NMX – оболочку, подтверждается результатами скинтиграфии, по данным которой радиоактивная метка ($^{152}\text{Sm}2\text{O}_3$) через 7,5 ч после приема препарата обнаруживалась во всех отделах толстой кишки [109]. Пролонгированное действие лекарственных средств в такой оболочке позволяет назначать таблетки один или два раза в день, а не многократно.

Таблетка Закофальк содержит 250 мг масляной кислоты (в виде кальциевой соли), а также 250 мг инулина – природного неперевариваемого пищевого волокна, являющегося пребиотиком, стимулирующим рост нормофлоры, а также источником эндогенной масляной кислоты, выделяющейся при ферментации инулина бактериями.

В данной статье будут представлены патогенетические обоснованные подходы к терапии органических и функциональных заболеваний кишечника, а также результаты клинических испытаний этого перспективного лекарственного средства.

Полипоз толстой кишки и профилактика колоректального рака

Влияние масляной кислоты на патогенез опухолевого роста

Опухолевые клетки, по сравнению со здоровой слизистой оболочкой толстой кишки, имеют сниженное количество переносчиков масляной кислоты (MCT1 и SMCT1) [22] и рецепторов к этому соединению (GPR43) [23]. Это наблюдение заставило многих исследователей изучить влияние масляной кислоты на клеточные линии раковых опухолей. Масляная кис-

лота, как было продемонстрировано *in vitro*, вызывает подавление пролиферации [24], запускает апоптоз [25] и повышает степень дифференцировки опухолевых клеток [26]. В то же время бутират является мощным стимулятором физиологической пролиферации в базальных криптах слизистой оболочки толстой кишки [27] и препятствует распространению зоны пролиферации в сторону поверхности крипт, обнаруживаемому при тенденции к злокачественному росту.[28] Бутират также снижает число и размер aberrантных крипт-фокусов (микроаденом), являющихся наиболее рано выявляемыми очагами кишечной неоплазии [29].

В основе действия масляной кислоты лежит ингибирование гистоновой деацетилазы (HDAC), избыточная активность которой приводит к нарушению транскрипции и «выключению» генов, ответственных за контроль клеточного цикла. Раковые клетки более восприимчивы к действию ингибиторов HDAC, чем доброкачественные клетки [30]. Подавление активности HDAC под действием масляной кислоты вызывает гиперацетилирование гистонов, что, во-первых, делает нуклеосомальную ДНК более доступной для факторов транскрипции [31], а во-вторых, через изменение синтеза белка p21WAF1/Cip1, блокирует клеточный цикл в точке G1. При такой остановке цикла ферменты репарации ДНК получают возможность исправить дефекты нуклеиновой кислоты [32].

Нормальная слизистая оболочка толстой кишки экспрессирует GPR109A – рецептор к никотиновой кислоте, сцепленный с G-белками, обладающий сродством к бутирату[37] и ответственный за инициацию апоптоза. Экспрессия этого рецептора в раковых опухолях подавляется за счет метилирования ДНК. Масляная кислота, как было продемонстрировано в ходе исследования [38], предотвращает метилирование ДНК и тем самым увеличивает экспрессию GPR109A, что запускает клеточно-специфичный апоптоз.

Кроме того, бутират угнетает активность Нейропиллина-1 (NRP-1) [34] – основного регулятора ангиогенеза и апоптоза раковых клеток, усиливающего миграцию опухолевых клеток под действием эндотелиального сосудистого фактора роста (VEGF). При этом, как было продемонстрировано *in vitro*, апоптоз под действием бутирата осуществляется не за счет прямого повреждения клеток, а путем повышения экспрессии иницирующего апоптоз белка BAK (Bcl-2) [35] и угнетения активности BclxL [36] – молекулы, экспрессированной на поверхности митохондрий и обладающей антиапоптотической активностью. Наконец, бутират также усиливает транскрипцию генов глутатион-S-трансферазы – фермента, повышающего устойчивость клеток к генотоксичным канцерогенам, таким как H₂O₂ и 4-гидроксиноненал (HNE) [40–41].

Эпидемиологические исследования

Клинические исследования терапевтического применения масляной кислоты с целью профилактики колоректального рака при полипозе толстой кишки на сегодняшний момент не проводились. Однако многочисленные эпидемиологические исследования пищевых

волокон – предшественников бутирата – продемонстрировали их благоприятное влияние на риск злокачественных новообразований толстой кишки. Так при анализе пациентов с колоректальным раком в Испании за 1995–2000 гг. была выявлена обратная зависимость смертности, обусловленной этим заболеванием, от уровня потребления пищевых волокон [105]. Аналогичная закономерность наблюдалась и для японской популяции [106]. Малое потребление фруктов, овощей и других источников пищевых волокон по результатам исследования 500 000 американцев также было признано значимым фактором риска рака толстой кишки. Мета-анализ публикаций, посвященных факторам риска рака толстой кишки, опубликованных к 2006 г, продемонстрировал благоприятное профилактическое воздействие пищевых волокон [107].

Воспалительные заболевания толстой кишки

Противовоспалительное действие масляной кислоты

Подавление воспаления под действием масляной кислоты происходит в первую очередь за счет снижения активности гистоновой ацетилазы, что сопровождается ингибированием активации ядерного фактора NF-κB в клетках слизистой оболочки кишки. Ядерный фактор κB (NF-κB) в отсутствие воспаления связан с ингибирующим белком (IκB) и присутствует в цитоплазме в неактивной форме. Воспаление приводит к распаду его комплекса с IκB и перемещению свободного ядерного фактора в ядро, где он активирует экспрессию генов, ответственных за синтез различных белков иммунного ответа: ИЛ-1b, ФНО-α, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, индуцибельной NO-синтазы (iNOS), циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1), молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM-1), T-клеточного рецептора-α и молекулы MHC II класса. Нарушение активности NF-κB лежит в основе воспалительных заболеваний кишечника, таких как язвенный колит и болезнь Крона [44–45].

Другие механизмы действия бутирата связаны с усилением экспрессии γ-рецепторов, активируемых пролифератом пероксисом (PPARγ) [48], а также с ингибированием продукции интерферона-γ [49]. Экспрессия белка PPARγ у больных язвенным колитом в стадии ремиссии оказывается на 60% ниже, чем у здоровых лиц из контрольной группы [50], а сам белок является естественным модулятором воспаления, подавляющим выработку C-реактивного белка и оксида азота [51]. Масляная кислота также способна воздействовать на иммунные клетки при помощи специфических сцепленных с G-белками рецепторов к КЦЖК: GPR41 (или FFA3) и GPR43 (или FFA2), экспрессируемых различными иммунными клетками, в том числе полиморфоядерными, что указывает на участие бутирата в регуляции активации лейкоцитов [52].

Клинические испытания масляной кислоты при воспалительных заболеваниях кишечника

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – язвенный колит и болезнь Крона – являются тяжелыми

патологиями, нередко приводящими к инвалидизации и хирургическому удалению толстой кишки. Все пациенты, страдающие ВЗК, вынуждены получать постоянную терапию противовоспалительными препаратами, многие из которых (в первую очередь, глюкокортикостероиды) обладают выраженными побочными эффектами. В попытках расширить терапевтический арсенал для профилактики обострений ВЗК многие исследователи применяли препараты масляной кислоты.

В 2003 г *Vernia с соавт.* опубликовали результаты двойного слепого плацебо-контролируемого мультицентрового испытания [87], в ходе которого 51 пациент с дистальной формой язвенного колита, резистентной к местной терапии 5-аминосалицилатами/гидрокортизоном случайным образом получали местный препарат 5-АСК в дозе 2 г, а также 80 ммоль/л бутирата натрия дважды в день, либо эту же дозу 5-АСК с плацебо в течение 6 недель. Группе пациентов, получавших комбинированную терапию соответствовала большая частота клинической ремиссии (6 из 24 против 1 из 27), более интенсивное снижение частоты стула, меньшая частота возникновения недержания.

Позднее *Scheppach с соавт.* успешно применили клизмы с масляной кислотой (100 мМ/л) у больных дистальными формами язвенного колита в стадии обострения [88]. На фоне лечения отмечалось существенное уменьшение частоты стула, выделения крови и снижение показателей эндоскопической активности. При более длительном применении – в течение 6 недель – масляная кислота при язвенном проктите, оказывалась сопоставимой по эффективности с микроклизмами с аминосалицилатами и даже глюкокортикостероидами [89]. Эти результаты позднее были неоднократно воспроизведены у пациентов с проктитом и проктосигмоидитом умеренной или выраженной активности [88–92].

Разработка новых средств доставки лекарственных средств в толстую кишку, сделала возможным применение пероральных препаратов масляной кислоты для лечения воспалительных заболеваний кишечника. Испытание первого такого препарата, выпущенного под маркой Закол, было проведено на базе 19 гастроэнтерологических отделений в Италии и включило 216 пациентов с неустойчивой ремиссией на фоне стандартной противорецидивной терапии при помощи перорального месалазина в дозе 2,4 г [93]. У пациентов, получавших дополнительно по три таблетки, содержащих 300 г бутирата и 250 мг инулина, отмечалось значительное снижение клинической и эндоскопической активности язвенного колита. Применение 4 г масляной кислоты в форме пероральных таблеток у пациентов с легкими и средне-тяжелыми обострениями болезни Крона на фоне стандартной противорецидивной терапии позволило добиться клинической ремиссии у 53% [94]. Прием препарата сопровождался значительным снижением эндоскопической и гистологической активности, уменьшения уровня лейкоцитов, СОЭ, а также содержания NFκB и ИЛ-1 β в слизистой оболочке илеоцекальной зоны.

Диарея различного генеза

Влияние масляной кислоты на трансэпителиальный транспорт ионов и барьерные механизмы толстой кишки

Переносчики масляной кислоты преимущественно осуществляется за счет активного транспорта кислоты при помощи белка MCT1, сцепленного с трансмембранным H⁺-градиентом [15], а также SLC5A8, зависящего от Na⁺-градиента [16]. Эта взаимосвязь абсорбции жирных кислот с транспортом ионов объясняет тот факт, что масляная кислота оказывает существенное влияние на всасывание NaCl и на баланс электролитов в целом, что было неоднократно подтверждено *in vitro* и *in vivo* [17].

Масляная кислота является мощным ингибитором транспорта NaCl через эпителиальный барьер и, кроме того, оказывает антисекреторное действие за счет подавления секреции ионов хлора в просвет кишки. Бутират успешно подавляет секрецию ионов хлора, вызываемую простагландином E₂, токсином холеры и фосфохолином. Этот эффект опосредуется снижением продукции внутриклеточного цАМФ, достигающимся за счет изменения экспрессии и активности аделинатциклазы [18]. Кроме того, масляная кислота способна увеличивать активность бутират/Cl⁻-обменника [20], а также регулировать правильный фолдинг (сворачивание в третичную структуру) Cl⁻/HCO₃ белка-переносчика SLC26A3 [21], мутация которого является причиной редкого генетического заболевания – врожденной хлоридной диареи.

Кроме того, масляная кислота благоприятно влияет и на неспецифические барьерные свойства кишечной стенки. Бутират усиливает экспрессию гена MUC2 [54], вызывающего увеличение продукции муцина – основного компонента слизи, дефицит которой выявляется при язвенном колите [55]. Повышение экспрессии гена MUC2 и продукции слизи под действием бутирата было подтверждено на примере клеточной линии колоноцитов (LS174T) [56–57], а также в изолированной перфузируемой кишке крысы [58]. В ходе еще одного эксперимента на крысах была продемонстрирована корреляция толщины слоя слизи с концентрацией КЦЖК в слепой кишке и в стуле [55].

Другим важным компонентом слизи, отвечающим за ее вязко-эластичные свойства, являются муцин-ассоциированными пептиды – факторы трилистника (TTF), – секретируемые бокаловидными клетками кишечника [59] и подавляющие миграцию воспалительных клеток в слизистую оболочку [60]. Масляная кислота значительно усиливает экспрессию этого фактора, что было продемонстрировано в эксперименте, в ходе которого крысам в кишку вводилась тринитробензолсульфоновая кислота – токсичное соединение, вызывающее явления колита и существенное угнетение синтеза TTF. Ректальное введение бутирата приводило к нормализации экспрессии фактора и увеличивало слой слизи [61].

Другим составляющим защитного барьера толстой кишки, является транслугаминаза, необходимая для физиологической регенерации слизистой оболочки. Активность этого фермента снижается на фоне тя-

желого воспаления при язвенном колите [64]. Как было показано на модели химически индуцированного колита у крыс, масляная кислота при местном применении нормализует уровень трасглутаминазы [65]. Белки теплового шока (HSP). Кроме того, бутират ускоряет экспрессию белков теплового шока HSP-70 и HSP-25 [72], оказывающих противовоспалительное действие и подавляющих выработку модуляторов воспаления.

Наконец, масляная кислота усиливает экспрессию кателицидина (LL-37) и дефенсинов – антибактериальных белков, препятствующих прикреплению и инвазии бактерий через слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта [66] [67]. Молекулярный механизм этого действия, вероятно, связан с усилением ацетилирования гистонов и сигнальным путем, включающим митоген-активируемую протеинкиназу [68–69].

Клинические испытания масляной кислоты при различных видах диарей

Клинические исследования, проведенные у детей с острой диареей, вызванной *V.cholerae*, продемонстрировали значимое снижение объема стула и меньшую продолжительность заболевания у пациентов, получавших, помимо стандартной пероральной регидратации, устойчивые пищевые крахмалы, являющиеся предшественниками бутирата [95]. Эти результаты позднее были воспроизведены и при других видах инфекционной диареи у детей и на многочисленных животных моделях [96–97]. Имеются доказательные данные и об успешном применении пероральной таблетированной формы масляной кислоты и инулина при диарее, ассоциированной с анти-*H.pylori*-терапией [98].

Синдром раздраженного кишечника

Влияние масляной кислоты на моторику толстой кишки и висцеральную чувствительность

В основе функциональных расстройств толстой кишки лежит нарушение возбудимости кишечных нейронов. Как было продемонстрировано в работе Soret *in vivo* и *in vitro*, масляная кислота значительно повышает число иммунореактивных нейронов, активизирующихся под воздействием холинацетилтрансферазы, и уменьшает число нейронов, активизируемых NO-синтазой. Подобные изменения сопровождаются усилением сократительной способности кишечной мускулатуры, опосредуемой ацетилхолином [73]. Измерение висцеральной чувствительности методом баллонографии показало, что ректальное введение 50–100 ммоль/л бутирата повышает порог переносимого давления и уменьшает боль, дискомфорт и интенсивность позыва на дефекацию. Бутират увеличивает высвобождение серотонина (5-HT) [74] – медиатора висцеральной чувствительности, – а также усиливает апоптоз клеток микроглии [75]. Активность масляной кислоты в отношении гладкомышечных клеток была продемонстрирована на примере кишечника крысы, где введение бутирата вызывало фазные и тонические сокращения. Этот эффект проявлялся только при нанесении препарата со стороны слизистой оболочки и исчезал при механическом удалении эпителия [76–77].

Клинические испытания масляной кислоты при синдроме раздраженного кишечника

Эффективность масляной кислоты в качестве монотерапии была подтверждена при синдроме раздраженного кишечника с преобладанием диареи [101]. Бутират значительно уменьшал интенсивность болей и диареи, а также степень вздутия живота. Аналогичные результаты получены и при использовании псиллиума – разновидности пищевых волокон с наибольшим спектром терапевтического действия, большая часть эффектов которого объясняется его функцией источника эндогенной масляной кислоты. Применение псиллиума при синдроме раздраженного кишечника рекомендовано Национальным институтом повышения клинической квалификации Великобритании (NICE). Доказательной базой для применения предшественников масляной кислоты послужили результаты нескольких открытых [102–103] и рандомизированных испытаний [104].

Масляная кислота как компонент сбалансированной диеты

Слизистая оболочка толстой кишки содержит эндокринные L-клетки, секретирующие глюкагоноподобный пептид (GLP-1), пептид YY (PYY) и оксинтомодулин – белки, участвующие в регуляции аппетита [78]. Любопытно, что эти L-клетки на своей поверхности экспрессируют GPR43 – рецептор к масляной кислоте [84]. Поэтому добавление в корм лабораторных животных предшественников масляной кислоты – инулина и фруктоолигосахаридов – приводит к ускорению насыщения, снижению массы тела и увеличению эндогенной продукции GLP-1 и/или PYY [79], и, главное, предотвращает развитие ожирения, вызываемого избыточным питанием и вторичную резистентность к инсулину [85]. Позднее эти результаты были воспроизведены и у человека: фруктоолигосахариды также ускоряли насыщение и повышали уровень GLP-1 [80]. Механизм этого действия масляной кислоты, вероятно, связан с усилением расходования энергии клеткой за счет усиления функции митохондрий. Кроме того, масляная кислота подавляет экспрессию девяти ключевых генов, ответственных за биосинтез холестерина в кишечнике, который становится источником около половины всего холестерина на фоне голодания [86].

Заключение

Таргетированный препарат масляной кислоты Закофальк представляет передовое патогенетически обоснованное неагрессивное средство терапии и профилактики воспалительных заболеваний кишечника, диареи различного генеза, синдрома раздраженного кишечника, ожирения и гиперхолестеринемии, колоректального рака, а также являются важным компонентом научно обоснованной диеты.

Список литературы находится в редакции.