

УДК 616.2+577.125.33+611.018.1

©Коллектив авторов

АССОЦИАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЖИРНЫХ КИСЛОТ С СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Ю.К. Денисенко^{1*}, Т.П. Новгородцева¹, Н.В. Жукова^{2,3}, М.В. Антонюк¹, Е.Г. Лобанова¹, Е.П. Калинина¹

¹Владивостокский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания - Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, ул. Русская 73г, Владивосток; эл. почта: denisenko.imkvl@gmail.com

²Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

³Дальневосточный федеральный университет, Школа биомедицины, Владивосток

Изучен состав жирных кислот (ЖК) плазмы крови и мембран эритроцитов, уровень эйкозаноидов у больных бронхиальной астмой (БА) и хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ) при разном типе воспалительной реакции. Установлено, что течение БА и ХОБЛ в период ремиссии, несмотря на различие иммунологических механизмов регуляции системного воспаления, сопровождается односторонними изменениями состава незатерифицированных жирных кислот плазмы крови и ЖК мембран эритроцитов, уровня эйкозаноидов, характеризующимися повышенной продукцией арахидоновой кислоты (20:4n-6) и её циклооксигеназных и липоксигеназных метаболитов (тромбоксан В₂, лейкотриен В₄) на фоне дефицита функционального антагониста – эйкозапентаеновой кислоты (20:5n-3). Обнаруженная ассоциация между модификацией состава жирных кислот крови и нарушением иммунных механизмов регуляции системного воспаления при ХОБЛ и БА свидетельствует о важном значении жирных кислот и их метаболитов в персистенции воспалительного процесса при заболеваниях бронхолёгочной системы в период ремиссии.

Ключевые слова: жирные кислоты, метаболизм, эйкозаноиды, системное воспаление, заболевания органов дыхания

DOI 10.18097/PBMC20166203341

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее распространёнными воспалительными заболеваниями дыхательных путей являются хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) и бронхиальная астма (БА) [1]. Хроническое воспаление дыхательных путей регулируется сложной сетью медиаторов, ключевую роль среди которых отводится метаболитам полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) – эйкозаноидам (лейкотриены, простагландины, тромбоксаны) и проразрешающим медиаторам (резолвины, протектины, маресины, липоксины), модулирующим иммунный ответ через хемотаксические, аутокринные либо паракринные эффекты [2, 3]. Изучение модификации состава и соотношения жирных кислот (ЖК) цитомембран позволяет выявлять нарушения в цикле эйкозаноидов и прорезолвинов поскольку источником эйкозаноидов и проразрешающих медиаторов являются ПНЖК мембранных фосфолипидов [4]. Синтез жирных кислот происходит с участием ферментов – десатураз и элонгаз, являющихся общими для представителей различных семейств ЖК, что обуславливает конкурентное взаимоотношение между длинноцепочечными жирными кислотами. В свою очередь, соотношение n-6 к n-3 ПНЖК в организме определяет преимущественное образование окси-производных того или иного семейства [2]. Это обстоятельство является важным, поскольку оказывает влияние на проявление присущей ПНЖК регуляторной функции, связанной с образованием эйкозаноидов и прорезолвинов.

Одним из основных предшественников эйкозаноидов является арахидоновая кислота (20:4n-6), метаболиты которой обладают высокой провоспалительной и бронхоконстрикторной активностью, в отличие от эйкозаноидов и прорезолвинов, образующихся из эйкозапентаеновой кислоты (20:5n-3) и проявляющих противовоспалительные эффекты [5]. При этом между арахидоновой и эйкозапентаеновой кислотами существует конкуренция за ферментные системы, а образующиеся из них эйкозаноиды и прорезолвины являются функциональными антагонистами [6]. Известно, что гиперсекреция цистеиновых лейкотриенов и простагландина D₂ в острый период течения БА опосредует обструкцию за счёт воспалительного бронхоспазма с отёком слизистой и плазменной экссудацией в просвет [6]. Значение метаболитов ЖК в патогенезе ХОБЛ менее изучено. Считается, что фармакологический контроль воспаления при бронхолёгочных заболеваниях способствует нормализации многих функций и процессов, в том числе метаболизма жирных кислот. Проблема состояния липидного обмена при заболеваниях органов дыхания в период ремиссии изучена недостаточно. Вместе с тем, уточнение роли жирных кислот и их метаболитов в формировании системного воспаления при заболеваниях органов дыхания позволит своевременно выявлять риски развития и осложнения бронхиальной обструкции.

Цель работы: изучить состав незатерифицированных жирных кислот (НЭЖК) плазмы крови и состав жирных кислот (ЖК) мембранных липидов

* - адресат для переписки

эритроцитов, уровень эйкозаноидов в зависимости от характера воспалительной реакции у больных БА и ХОБЛ в период клинической ремиссии; установить взаимосвязь между метаболизмом ЖК и типом воспалительной реакции у больных бронхолегочной патологией.

МЕТОДИКА

В исследовании приняли участие 65 человек, из них 45 пациентов с заболеваниями бронхолегочной системы (21 мужчина и 13 женщин) в возрасте 23-57 лет ($37,4 \pm 2,3$ лет), в том числе 25 пациентов с контролируемой БА лёгкой степени тяжести, принимавших базисную терапию; 20 больных ХОБЛ лёгкой степени тяжести стабильного течения. Обследование пациентов проводили после подписания информированного согласия и в соответствии со стандартами Хельсинкской декларации (2008). Заболевания диагностировали на основании анамнестических данных, объективного осмотра, лабораторных исследований, спирометрии с выполнением бронхолитического теста (спирограф "FUKUDA", Япония) и результатов тестов САТ, АСQ-5. Диагноз ХОБЛ выставляли, согласно Глобальной стратегии: диагностика, лечение и профилактика ХОБЛ (GOLD 2011), диагноз БА – Глобальной стратегии лечения и профилактики БА (GINA 2011). В контрольную группу были включены 20 здоровых добровольцев в возрасте 23-55 лет ($32,2 \pm 8,2$ лет), некурящих и никогда не куривших, без отягощённого аллергического анамнеза. У пациентов с контролируемой БА были нормальные значения показателя объёма форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁, $96,60 \pm 5,77\%$ от должного), пиковой скорости выдоха (ПСВ, $89,00 \pm 2,1\%$ от должного), постбронходилатационный прирост ОФВ₁ составил 100,0 мл и 8,8%, АСQ-5 тест = 0,5 балла. У пациентов с ХОБЛ лёгкой степени тяжести выявлено снижение постбронходилатационного показателя ОФВ₁/ФЖЕЛ ($0,65 \pm 0,03$), ОФВ₁ составил $88,4 \pm 3,38\%$ от должного, результат теста САТ = 8 баллов. Критериями исключения являлись: наличие профессиональных заболеваний бронхолегочной системы, сердечно-сосудистых заболеваний (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь) и их осложнений, сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы, острых патологических состояний и обострений хронических болезней.

Характер воспалительного процесса оценивали по состоянию клеточного иммунитета, уровню секреции про- и противовоспалительных цитокинов, иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови. Параметры клеточного иммунитета определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием набора "BD Multitest 6-color TBNK" ("BD", США). Цитокиновый профиль (фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкин-4 (IL-4), интерферон гамма (IFN- γ)) исследовали методом проточной цитометрии на цитометре "Facsanto II" (тест-системы фирмы "BD"). Обработку данных проводили с использованием программы FCAP Array 3,0 BD. Уровень общего IgE в сыворотке крови определяли

иммуноферментным методом с использованием набора фирмы "ХемаМедика".

Мембраны эритроцитов получали путём гемолиза клеток в дистиллированной воде и центрифугированием на центрифуге Z383K с охлаждением ("HERMLE LaborTechnic", Германия) в течении 15 мин при 14000 об/мин в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS) с трёхкратным промыванием. Липиды из плазмы крови и мембран эритроцитов экстрагировали смесью хлороформ-метанол, 1:2 (по объёму) [7]. Экстракт упаривали досуха в вакууме на роторном испарителе ("IKA", Германия), липиды растворяли в 0,2 мл хлороформа. Для получения НЭЖК плазмы липиды наносили на колонку с силикагелем (1×3 см), промывали хлороформом (15 мл) для отделения нейтральных липидов (эфиров холестерина, триглицеридов и холестерина), затем элюировали НЭЖК подкисленным уксусной кислотой (0,5%) хлороформом (15 мл). Полученные фракции проверяли одномерной тонкослойной хроматографией, применяя смесь растворителей: гексан-диэтиловый эфир : уксусная кислота, 80:20:1 (по объёму). Метилловые эфиры ЖК получали трансметилированием липидного образца, прибавляя 1% раствор метилатнатрия в метаноле и нагревая 15 мин при 50°C, затем добавляя 5% HCl в метаноле и нагревая 15 мин при 50°C [8]. Метилирование НЭЖК проводили только кислым метанолизом, добавляя 5% HCl в метаноле и нагревая 15 мин при 50°C [8]. Метилловые эфиры экстрагировали гексаном. Очистку метилловых эфиров проводили микротонкослойной хроматографией в бензоле. Эфиры элюировали хлороформом, раствор упаривали на роторном испарителе. Перерастворенные в гексане метилловые эфиры ЖК анализировали на газожидкостном хроматографе Shimadzu GC-2010 (Япония), снабжённом пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой (0,25 мм × 30 м) с привитой фазой Supelcowax 10. Температура колонки – 210°C, температура детектора – 250°C. Газ-носитель – гелий. ЖК идентифицировали по относительным временам удерживания и по расчётным значениям эквивалентной длине цепи, так называемым значениям "углеродных чисел". Результаты выражали в процентах от суммы ЖК.

Уровень эйкозаноидов в сыворотке крови оценивали по количеству их стабильных метаболитов – тромбоксана В₂ (ТХВ₂) и лейкотриена В₄ (ЛТВ₄). Для выделения эйкозаноидов использовали миниколонки Minicolumns for Sample Preparation (США), количественный уровень определяли иммуноферментным методом (тест-системы Biotrak EIA system "Amersham Biosciences UK", Великобритания). Измерение проводили в плоскодонных 96-луночных планшетах на спектрофотометре "Biotek Power Wave" (США).

Для анализа полученных данных использовалась прикладная программа "Statistica", версия 6,1 (серия 1203C для Windows). Статистическую значимость различий средних величин определяли по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние иммунной системы у больных БА и ХОБЛ

Анализ иммунологических показателей больных БА и ХОБЛ в период ремиссии выявил наличие различного характера нарушений во всех звеньях иммунной системы (табл. 1).

У всех обследуемых с БА отмечено снижение $CD3^+$ клеток по сравнению с группой ХОБЛ, что указывает на наличие персистирующего воспаления даже при отсутствии контакта с причинно-значимым аллергеном. Абсолютные значения пула $CD3^+CD4^+$ клеток у пациентов БА не имели достоверных различий с контрольной группой, но имели достоверное различие с группой больных ХОБЛ. Абсолютные значения цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) у больных БА были снижены и достоверно значимы по сравнению с группой ХОБЛ. Иммунорегуляторный индекс ($CD4^+/CD8^+$) у больных БА не превышал 2,15 у.е. Содержание В-лимфоцитов ($CD19^+$) у больных БА было повышено по сравнению с группой контроля и больными ХОБЛ, что свидетельствует об активации гуморального звена иммунной системы, которое поддерживается высокой экспрессией IgE и характеризует наличие аллергического воспаления. При исследовании цитокинового профиля у больных с БА выявлены высокие значения TNF- α , IL-4 и низкий уровень IFN- γ .

У больных с ХОБЛ сравнительный анализ субпопуляций Т-лимфоцитов ($CD3^+$) показал увеличение абсолютного количества клеток по сравнению с контрольной группой и группой больных БА. Повышение общей популяции Т-лимфоцитов при ХОБЛ происходит за счёт увеличения пула $CD3^+CD4^+$ лимфоцитов. Содержание лимфоцитов с цитотоксической функцией ($CD3^+CD8^+$) по абсолютным показателям преобладало у больных ХОБЛ по сравнению с группой контроля и больными БА, что отразилось на повышении иммунорегуляторного индекса ($CD4^+/CD8^+$). Содержание В-лимфоцитов ($CD19^+$) у больных ХОБЛ имело тенденцию к снижению по сравнению

с группой контроля. Наряду с изменениями в Т-клеточном звене иммунитета у пациентов ХОБЛ были установлены нарушения иммунорегуляторных соединений – повышение в сыворотке крови уровня провоспалительного цитокина TNF- α и IFN- γ . И, напротив, отмечено снижение уровня противовоспалительного цитокина IL-4 у пациентов с ХОБЛ по сравнению с другими группами.

Полученные результаты исследования свидетельствуют о наличии хронического системного воспаления при заболеваниях органов дыхания в стадии ремиссии. Однако формирование персистирующего воспаления при БА и ХОБЛ происходит в результате нарушения разных регуляторных механизмов иммунного ответа. Так, течение системного воспаления в период ремиссии при БА характеризуется угнетением Т-клеточного звена иммунитета и продукции IFN- γ , повышением синтеза цитокинов (TNF- α , IL-4), что свидетельствует о сохранении воспалительного процесса в период ремиссии за счёт поддержания активированного Th2 типа иммунного ответа. При ХОБЛ характерна активация Т-клеточного звена иммунной системы, угнетение В-клеток, активный эндогенный интерферогенез, что указывает на преобладание Th1 пути иммунной регуляции с привлечением провоспалительных реагенов и цитокинов [9]. Наши данные, полученные на основании анализа иммунограмм лиц с бронхолегочной патологией в стадии ремиссии, дополняют известные факты о том, что воспаление в острый период БА поддерживается активацией Th2 клонов лимфоцитов, при ХОБЛ приоритетным путём иммунопатогенеза является секреция Th1-зависимых цитокинов [10, 11].

Состав НЭЖК плазмы крови больных БА и ХОБЛ

Определяющее значение в регуляции персистенции и разрешения воспалительного процесса при заболеваниях бронхолегочной системы выполняют жирные кислоты и их метаболиты [2, 12-14]. В данном исследовании метаболизм жирных кислот оценивали

Таблица 1. Показатели иммунного статуса у пациентов с БА и ХОБЛ (M \pm m)

Показатели	Контрольная группа (n=20)	Группа больных БА (n=25)	Группа больных ХОБЛ (n=20)
Лейкоциты Г/л	5,66 \pm 0,11	5,57 \pm 0,13	7,90 \pm 0,21**
Лимфоциты, абс.	1727,73 \pm 102,31	1776,05 \pm 86,75	2313,89 \pm 95,11**
$CD3^+$, абс.	1217,72 \pm 91,21	1122,72 \pm 46,31	1956,25 \pm 95,11**
$CD3^+CD4^+$, абс.	763,13 \pm 28,69	723,47 \pm 35,28	1385,75 \pm 51**
$CD3^+CD8^+$, абс.	426,83 \pm 21,27	336,99 \pm 14,10	582,83 \pm 16,19**
$CD4^+/CD8^+$, у.е.	2,01 \pm 0,03	2,15 \pm 0,09	2,40 \pm 0,04**
$CD19^+$, абс.	203,33 \pm 19,11	359,91 \pm 16,14*	237,87 \pm 14,71*
$CD19^+CD56^+$, абс.	257,86 \pm 10,25	215,12 \pm 14,13	328,75 \pm 18,12**
TNF- α , пг/мл	18,32 \pm 1,20	40,29 \pm 1,34*	48,51 \pm 1,35**
IFN- γ , пг/мл	59,17 \pm 1,54	26,99 \pm 1,41*	78,69 \pm 2,10**
IL4, пг/мл	56,41 \pm 1,24	90,42 \pm 5,21*	43,95 \pm 1,02**
IgE, пг/мл	184,75 \pm 14,13	515,92 \pm 41,12*	200,04 \pm 17,14*

Примечание: * - статистическая значимость различий относительно контрольной группы ($p < 0,001$); # - относительно группы пациентов с БА ($p < 0,001$).

МЕТАБОЛИЗМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

по характеру модификации НЭЖК плазмы крови, ЖК эритроцитов, уровню эйкозаноидов крови больных БА и ХОБЛ.

В составе НЭЖК плазмы крови обследованных групп больных БА и ХОБЛ выделено 37 индивидуальных насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных жирных кислот, нормального и изостроения с длиной цепи от C₁₂ до C₂₄, как с чётным, так и нечётным числом углеродных атомов. В таблице 2 представлены наиболее значимые жирные кислоты плазмы крови. Результаты исследования показали существенные различия в содержании насыщенных НЭЖК плазмы крови у пациентов с БА по сравнению с группой контроля (табл. 2). Выявлено уменьшение содержания лауриновой (12:0), миристиновой (14:0), пентадекановой (15:0), пальмитиновой (16:0) и стеариновой (18:0) кислот. В спектре моноеновых НЭЖК у больных БА обнаружено снижение доли пальмитолеиновой кислоты из семейства n-7 (16:1n-7) и n-9 (16:1n-9), олеиновой кислоты (18:1n-9), октадекамоноеновой кислоты из семейства n-7 (18:1n-7). В плазме крови больных БА снижено содержание α-линоленовой кислоты (18:3n-3). В пуле НЭЖК этой группы больных установлено

повышение доли n-6 ПНЖК: дигомо-γ-линолевой (20:3n-6), арахидоновой (20:4n-6) и её метаболитов – докозатетраеновой (22:4n-6) и докозапентаеновой (22:5n-6) по сравнению с контрольной группой. Среди n-3 ПНЖК показано накопление эйкозапентаеновой ЖК (20:5n-3).

В группе больных ХОБЛ изменение содержания насыщенных жирных кислот имело ту же направленность, что и у пациентов с БА (снижение доли 12:0, 15:0, 16:0, 18:0 по сравнению с группой здоровых лиц). Вместе с тем у больных ХОБЛ в плазме крови выявлено значимое увеличение доли 12:0, 14:0, 16:0 по сравнению с группой больных БА. У больных ХОБЛ, так же как и у пациентов с БА наблюдается уменьшение уровня НЭЖК 16:1n-9 и 18:1n-9 относительно группы контроля. В составе ПНЖК плазмы крови у пациентов с ХОБЛ выявлено увеличение доли 20:3n-6, 20:4n-6, 22:4n-6 по сравнению с группой контроля. У больных ХОБЛ отмечено уменьшение эйкозапентаеновой ЖК (20:5n-3) относительно группы пациентов с БА, докозагексаеновой ЖК (22:6n-3) как по сравнению с группой контроля, так и относительно больных БА (табл. 3).

Таблица 2. Содержание неэтерифицированных (свободных) жирных кислот в плазме крови больных БА и ХОБЛ

Свободные жирные кислоты, % от суммы СЖК	Контрольная группа (n=20)	Группа больных БА (n=25)	Группа больных ХОБЛ (n=20)
Насыщенные жирные кислоты			
12:00	0,65±0,14	0,11±0,02***	0,15±0,06***#
14:00	0,96±0,16	0,61±0,06***	0,95±0,14##
15:00	0,63±0,08	0,16±0,01***	0,17±0,03***
16:00	28,25±0,94	20,35±0,46***	22,59±0,31***#
18:00	8,32±0,28	7,03±0,24**	6,06±0,75**
Мононенасыщенные жирные кислоты			
16:1n-9	0,78±0,08	0,46±0,03*	0,53±0,03*
16:1n-7	2,37±0,27	1,29±0,07***	2,14±0,34##
18:1n-9	25,03±1,85	15,28±0,56***	17,52±1,14***
18:1n-7	2,04±0,19	1,63±0,04*	1,74±0,80
18:1n-5	0,28±0,03	0,23±0,02	0,28±0,01
Полиненасыщенные жирные кислоты			
18:2n-6	37,53±1,68	38,86±1,05	36,55±1,23
18:3n-3	0,94±0,08	0,60±0,04**	0,54±0,07**
20:3n-6	0,20±0,01	1,07±0,05***	1,17±0,93***
20:4n-6	3,60±0,11	6,71±0,30***	5,47±5,77***
20:5n-3	0,49±0,05	1,02±0,17***	0,66±0,08###
22:4n-6	0,11±0,01	0,21±0,03***	0,15±0,08*
22:5n-6	0,05±0,01	0,08±0,01*	0,06±0,04
22:5n-3	0,61±0,02	0,50±0,02	0,42±0,03
22:6n-3	2,94±0,18	2,68±0,18	1,64±0,10***###

Примечание. Здесь и в таблице 3 * - статистическая значимость различий относительно контрольной группы: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001. # - статистическая значимость различий относительно группы пациентов с БА: # - p<0,05; ## - p<0,01; ### - p<0,001. В таблицу не внесены отдельные представители ЖК, содержание которых не превышает 0,1%. В основном это насыщенные ЖК нормального строения (10:0, 19:0, 22:0), некоторые моноеновые (14:1, 22:1), диеновые (18:2n-5/9) и триеновые (20:3n-3) ЖК, полиеновые C24 ЖК.

Таблица 3. Состав жирных кислот мембран эритроцитов у пациентов с БА и ХОБЛ

Жирные кислоты, % от суммы ЖК	Контрольная группа, (n=20)	Больные БА, (n=25)	Больные ХОБЛ, (n=20)
Насыщенные жирные кислоты			
12:0	0,13±0,01	0,27±0,04***	—
14:0	0,39±0,03	0,44±0,04	0,34±0,01 [#]
15:0	0,17±0,01	0,18±0,01	1,08±0,01***###
16:0	23,98±1,28	22,22±0,51	23,16±0,28
17:0	0,35±0,02	0,32±0,01	0,25±0,03***
18:0	13,40±0,75	17,52±0,28**	16,78±0,40*
20:0	0,150±0,035	0,110±0,007	0,46±0,04***###
Мононенасыщенные жирные кислоты			
16:1n-9	0,21±0,05	0,33±0,02**	0,21±0,05 [#]
16:1n-7	0,39±0,03	0,37±0,02	0,53±0,05***###
18:1n-9	14,84±0,84	13,89±0,27	15,49±0,73
18:1n-7	1,53±0,08	1,53±0,05	1,76±0,05
18:1n-5	0,32±0,02	0,40±0,03	0,36±0,14
20:1	0,34±0,07	0,26±0,01	0,23±0,03
Полиненасыщенные жирные кислоты [14]			
18:2n-6	15,75±0,28	13,88±0,37*	12,21±0,61**
18:3n-3	0,20±0,02	0,15±0,01*	0,13±0,03**
20:3n-6	1,29±0,02	1,21±0,03*	1,52±0,02*
20:4n-6	12,95±0,25	14,16±0,29**	18,26±0,50***###
20:5n-3	1,23±0,04	0,77±0,03***	0,56±0,06***
22:4n-6	2,37±0,09	2,83±0,15*	3,18±0,11 [#]
22:5n-6	0,37±0,01	0,23±0,01***	0,46±0,07***###
22:5n-3	1,99±0,02	2,04±0,09	1,72±0,05 [#]
22:6n-3	4,67±0,85	5,45±0,31	5,87±0,39

Полученные результаты исследования состава НЭЖК плазмы крови больных БА и ХОБЛ показали однонаправленные изменения в количественной и качественной характеристике жирных кислот: падение доли насыщенных ЖК на фоне повышения уровня предшественников и метаболитов арахидоновой кислоты. Одним из механизмов повышения уровня предшественников и метаболитов арахидоновой кислоты, снижения доли эйкозапентаеновой ЖК является изменение их метаболизма в мембранах и нарушение синтеза про- и противовоспалительных эйкозаноидов, протрезолвинов.

Состав ЖК мембраны эритроцитов больных БА и ХОБЛ

Для подтверждения вышесказанного изучен состав ЖК мембран эритроцитов у лиц с БА и ХОБЛ.

Состав ЖК мембран эритроцитов у обследуемых групп представлен 31 компонентом индивидуальных жирных кислот с длиной углеродной цепи от C₁₂ до C₂₄, как с чётным так и нечётным числом углеродных атомов, нормального и изостроения, насыщенных, моноеновых и полиеновых. Анализ количественного состава ЖК липидов мембран эритроцитов пациентов с БА выявил увеличение доли

насыщенных жирных кислот (12:0, 18:0 по сравнению с группой здоровых лиц) и снижение уровня эссенциальной линолевой (18:2n-6) и α-линоленовой (18:3n-3) ПНЖК. У больных БА отмечено увеличение содержания арахидоновой кислоты (20:4n-6) – главного субстрата синтеза провоспалительных и бронхоконстрикторных эйкозаноидов, по сравнению с группой здоровых лиц. Напротив, доля основного антагониста арахидоновой ЖК – эйкозапентаеновой ЖК (20:5n-3) – снижалась в 1,6 раза относительно контрольной группы.

Результаты исследования состава ЖК мембраны эритроцитов больных ХОБЛ были описаны ранее [14]: показана модификация состава жирных кислот мембран эритроцитов, характеризующаяся увеличением содержания насыщенных (15:0, 18:0, 20:0), п6 полиненасыщенных (20:4n-6, 22:4n-6), дефицитом п3 полиненасыщенных (20:5n-3, 22:5n-3) жирных кислот у лиц с ХОБЛ.

Обобщая данные анализа состава ЖК мембраны эритроцитов можно заключить, что, как при БА, так и при ХОБЛ, хроническое воспаление приводит к значительным и сходным изменениям состава жирных кислот клеточных мембран – накоплению насыщенных ЖК, арахидоновой ЖК, истощению

пула эйкозапентаеновой кислоты. Накопление насыщенных жирных кислот в мембране клетки способствует увеличению жесткости липидного бислоя, что приводит к нарушению структурных и функциональных характеристик клетки, уменьшению ее текучести и активности мембрансвязанных ферментов, торможению связывания рецепторов с лигандами, повышает риск мембранодеструкции и гибели клетки по механизму апоптоза или некроза [4]. Известно, что при БА усиливается синтез арахидоновой кислоты, что приводит к её увеличению в клеточных мембранах. Активация метаболических превращений в ряду ЖК семейства n-6 при бронхолегочной патологии подтверждается одновременным истощением уровня 18:2n-6 на фоне увеличения синтеза 20:4n-6 и 22:4 n-6. В исследовании Шилиной и соавт. [12] показано уменьшение уровня 20:4n-6 в клеточной мембране при острых воспалительных заболеваниях, в частности при БА, аллергии, что объясняется интенсификацией расходования данной ЖК на синтез провоспалительных эйкозаноидов. В нашем исследовании состав жирных кислот мембран эритроцитов был изучен в период ремиссии заболеваний бронхолегочной системы. Однако, несмотря на клиническую ремиссию БА и ХОБЛ, сохраняется воспалительный процесс, поддерживаемый высоким содержанием n-6 ПНЖК. Повышенное содержание арахидоновой кислоты и её метаболитов в мембране эритроцитов у обследованных лиц с хронической патологией бронхолегочной системы свидетельствует об увеличении субстрата для образования медиаторов воспаления (лейкотриен V_4), бронхоспазма (простагландин D_2 , тромбоксан B_2). К тому же повышенный синтез арахидоновой кислоты происходил на фоне значительного дефицита её основного ингибитора и конкурента за циклооксигеназные и липоксигеназные метаболические пути – эйкозапентаеновой кислоты (20:5n-3). Эндогенный недостаток в клетках n-3 ПНЖК приводит к изменению физико-химических свойств плазматических мембран, активации синтеза эйкозаноидов с провоспалительной и бронхоконстрикторной активностью [3, 4].

Уровень эйкозаноидов плазмы крови больных БА и ХОБЛ

Полученные результаты исследования состава жирных кислот плазмы и клеток крови свидетельствуют о нарушении метаболизма ПНЖК, дисбалансе между продукцией про- и противовоспалительных эйкозаноидов. В пользу патогенетической значимости выявленных нарушений состава жирных кислот свидетельствуют результаты изучения эйкозаноидов у больных с респираторной патологией. Выявлено увеличение уровня тромбоксана B_2 и лейкотриена V_4 в сыворотке крови у больных БА и ХОБЛ в стадии ремиссии (рисунок). Причём больные БА контролируемого течения имели более выраженное повышение лейкотриена V_4 . Следовательно, течение хронического воспаления в период ремиссии у больных ХОБЛ и БА опосредуется интенсивной продукцией провоспалительных и

бронхоконстрикторных эйкозаноидов. Смещение динамического равновесия в сторону накопления предшественника провоспалительных эйкозаноидов инициирует патогенетические механизмы развития и прогрессирования иммунных нарушений при ХОБЛ и БА, становится одной из главных причин формирования системного воспаления.

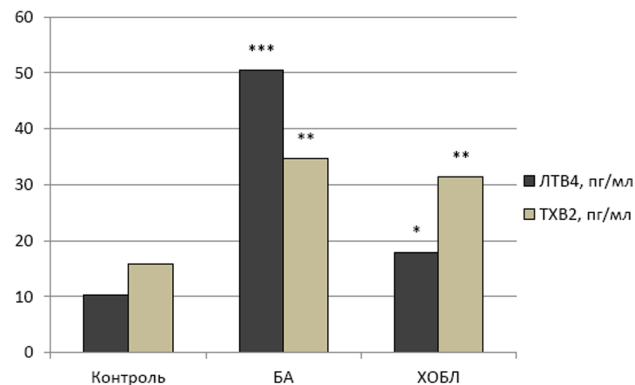


Рисунок. Уровень эйкозаноидов в сыворотке крови больных БА и ХОБЛ. * - статистическая значимость различий относительно контрольной группы: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленные в данной работе изменения состава НЭЖК плазмы крови, ЖК эритроцитов свидетельствуют о важном значении жирных кислот и их метаболитов в иммуннометаболических механизмах формирования системной воспалительной реакции при хронических заболеваниях органов дыхания. Показано, что течение хронических заболеваний бронхолегочной системы сопровождается развитием системного воспаления по Th1 пути иммунной регуляции при формировании ХОБЛ и Th2 пути иммунного ответа при БА. Однако, несмотря на различие иммунологических механизмов регуляции системного воспаления, течение БА и ХОБЛ ассоциируется с однонаправленными изменениями состава НЭЖК плазмы и ЖК эритроцитарной мембраны, играющими ключевую роль в механизме формирования заболеваний лёгких. При отсутствии клинических симптомов у больных БА и ХОБЛ сохранялись метаболические нарушения в синтезе ЖК и эйкозаноидов, характеризующиеся чрезмерной продукцией арахидоновой кислоты и её циклооксигеназных и липоксигеназных метаболитов (тромбоксан B_2 , лейкотриен V_4) на фоне дефицита её функционального антагониста – эйкозапентаеновой кислоты. Патогенетическая значимость выявленной модификации ЖК эритроцитов обусловлена функциональной ролью липидов в клеточных структурах. ПНЖК выполняют в клетках главные функции – структурную и регуляторную. Известно, что дефицит в организме ПНЖК n-3 приводит к изменению физико-химических свойств клеточных мембран, нарушению функционирования мембраносвязанных ферментов и рецепторов, что приводит к ухудшению структурно-функциональной состоятельности клетки.

В нашей работе показана связь между функционированием иммунной системы и нарушением жирнокислотного состава клеточных мембран. Так, показано, что компенсация дефицита ПНЖК n-3 при заболеваниях органов дыхания с помощью алиментарного потребления рыбьего жира способствует восстановлению оксилипинового баланса и нормальному функционированию клеток местного иммунитета [3]. Регуляторная функция ПНЖК состоит в том, что они служат предшественниками для биосинтеза мощных клеточных биорегуляторов – эйкозаноидов, прорезолвинов. Эйкозаноиды локально регулируют функции эндотелия, гладкомышечных клеток, реакцию вазодилатации, агрегацию тромбоцитов, микроциркуляцию и воспаление [5]. Появились данные о новых эндогенных специализированных проразрешающих медиаторах – производных эйкозапентаеновой, докозагексаеновой кислот – резолвинов, маресинов, протектинов, липоксинов [5]. Предполагается, что эти медиаторы играют ключевую роль в сдерживании и разрешении воспаления. Обнаруженное нами снижение содержания 20:5n-3 в мембранах эритроцитов и в плазме больных БА и ХОБЛ указывает на дефицит субстрата синтеза простаноидов 3-й серии и лейкотриенов 5-й серии, прорезолвинов, что формирует дисбаланс между про- и противовоспалительными, бронхоконстрикторными и бронходилатационными медиаторами ЖК.

Можно заключить, что поддержание системного хронического воспаления при заболеваниях лёгких осуществляется биологически активными метаболитами полиненасыщенных жирных кислот – провоспалительными эйкозаноидами. Выявленная ассоциация между модификацией состава жирных кислот и нарушением иммунных механизмов регуляции системного воспаления при ХОБЛ и БА

свидетельствует о важном значении жирных кислот и их окси-производных в персистенции воспалительного процесса при заболеваниях бронхолёгочной системы в период ремиссии.

Анализ жирных кислот поддержан грантом Российского научного фонда (проект №14-50-00034).

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Белевский А.С., Леценко И.В., Меццержакова Н.Н., Овчаренко С.И., Шмелев Е.И. (2014) Пульмонология, №3, 15-54.
2. Calder P.C. (2013) Br. J. Clin. Pharmacol., **75**, 645-662.
3. Giudetti A., Cagnazzo R. (2012) Prostaglandins and Other Lipid Mediators, **99**, 57-67.
4. Novgorodtseva T.P., Denisenko Yu.K., Zhukova N.V., Antonyuk M.V., Knyshova V.V., Gvozdenko T.A. (2013) Lipids in Health and Disease, **12**, DOI: 10.1186/1476-511X-12-117.
5. Haworth O., Levy B.D. (2007) Eur. Respir. J., **30**, 980-992.
6. McMillan R.M. (2001) Paediatr. Respir. Rev., **2**, 238-244.
7. Bligh E.C., Dyer W.J. (1959) Can. J. Biochem. Physiol., **37**, 911-917.
8. Carreau J.P., Dubacq J.P. (1978) J. Chromatogr., **151**, 384-390.
9. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Кнышова В.В., Антонюк М.В., Гельцер Б.И., Денисенко Ю.К., Гвозденко Т.А. (2014) Пульмонология, **6**, 5-10.
10. Barnes P.J. (2008) J. Clin. Invest., **11**, 3546-3556.
11. Gangopadhyay S., Vijayan V.K., Bansal S.K. (2012) COPD, **9**, 322-331.
12. Шилина Н.М., Дубровская М.И., Комарова О.Н., Медведев Ф.А., Конь И.Я. (2011) Биомед. химия, **57**, 571-579.
13. Караман (Денисенко) Ю.К., Лобанова Е.Г., Юбицкая Н.С. (2010) Клиническая медицина, №3, 46-49.
14. Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К., Антонюк М.В., Жукова Н.В. (2013) Бюллетень СО РАМН, **33**, 64-69.

Поступила: 25. 12. 2015.
Принята к печати: 05. 04. 2016.

ASSOCIATION OF FATTY ACID METABOLISM WITH SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE IN CHRONIC RESPIRATORY DISEASES

Y.K. Denisenko¹, T.P. Novgorodtseva¹, N.V. Zhukova^{2,3}, M.V. Antonuk¹, E.G. Lobanova¹, E.P. Kalinina¹

¹Vladivostok Branch of the Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration - Institute of Medical Climatology and Rehabilitation,

73g Russkaya str., Vladivostok, 690105 Russia; e-mail: denisenko.imkvl@gmail.com

²Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

³School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

We examined composition of plasma non-esterified fatty acids (NFAs), erythrocyte fatty acids, levels of eicosanoids in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with different type of the inflammatory response. The results of our study show that asthma and COPD in remission are associated with changes in the composition NFAs of plasma, FA of erythrocytes, level eicosanoid despite the difference in the regulation of immunological mechanisms of systemic inflammation. These changes are characterized by excessive production of arachidonic acid (20:4n-6) and cyclooxygenase and lipoxigenase metabolites (thromboxane B₂, leukotriene B₄) and deficiency of their functional antagonist, eicosapentaenoic acid (20:5n-3). The recognized association between altered fatty acid composition and disorders of the immune mechanisms of regulation of systemic inflammation in COPD and asthma demonstrated the important role of fatty acids and their metabolites in persistence of inflammatory processes in diseases of the respiratory system in the condition of remission.

Key words: fatty acid, metabolism, eicosanoids, systemic inflammation, respiratory disease