

СООТНОШЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АРАХИДОНОВОЙ И ЭЙКОЗАПЕНТАЕНОЙ КИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЛИПОПРОТЕИДАХ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ИЗМЕНЕНИЕ ЭТОЙ ВЕЛИЧИНЫ ПРИ РАЗГРУЗОЧНО-ДИЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

М.В.ЛИЗЕНКО, В.И.ПЕТРОВСКИЙ, А.М.БАХИРЕВ,

Кафедра факультетской терапии, Петрозаводский госуниверситет, пр. Ленина, 33, Петрозаводск. Республика Карелия, 185640, Россия. Факс (8142) 771021. Эл.почта postmaster@mampgu.karelia.ru.

Проведен анализ динамики жирнокислотного состава фосфолипидов и эфиров в сыворотке и липопротеидах низкой плотности (ЛПНП) больных бронхиальной астмой (БА) под влиянием разгрузочно-диетической терапии (РДТ). В сыворотке и ЛПНП, особенно - в фосфолипидах увеличивается насыщенность жирных кислот и возрастает отношение содержания арахидоновой кислоты (АК), к эйкозапентаеновой кислоте (ЭПК). 14-дневная РДТ приводила к резкому снижению соотношения содержания АК/ЭПК. Лечение голоданием снижало выход биологически активных веществ, многие из которых являются медиаторами аллергии, что приводило к замедлению воспалительного процесса.

Ключевые слова: арахидоновая, эйкозапентаеновая кислоты, бронхиальная астма, голодание.

ВВЕДЕНИЕ. Арахидоновой кислоте (АК) при бронхиальной астме (БА) отводится особая роль. Она является предшественником биологически активных веществ (БАВ), образующихся двумя путями: циклооксигеназным (простагландины, простациклины) и липооксигеназным (лейкотриены). Перечисленные производные, особенно полученные липооксигеназным путем, имеют непосредственное отношение к заболеванию и развитию приступов БА. Известны работы, в которых установлено увеличение содержания АК в фосфолипидах (ФЛ) лейкоцитарных мембран у детей с атонической формой БА, в которых подъем уровня АК рассматривается как определенная метаболическая готовность лейкоцитов к синтезу липидных медиаторов аллергии. Известно также, что в синтезе АК и эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК) существует определенный антагонизм, реципрокность, т.е. в случае повышения синтеза АК соответственно снижается синтез ЭПК, которая вносит в биологические мембраны необходимую стабильность. Эта кислота обладает эффективным антисклеротическим действием и повышение ее концентрации благоприятно сказывается на свойствах мембран.

Целью нашей работы было исследование жирнокислотного состава сыворотки и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) больных БА, чтобы установить сходство и различие больных и доноров, особенно в атерогенной фракции - ЛПНП, проследить действие двух кислот АК и ЭПК у больных и доноров, а также отметить влияние разгрузочно-диетической терапии (РДТ) на полученные данные.

МЕТОДИКА. Исследование содержания липидов в сыворотке и ЛПНП проводили у здоровых доноров (25 человек), которые служили контролем и у больных инфекционнозависимой БА - 40 человек, причем у 15 из них до РДТ и после 14-дневной РДТ.

Кровь брали натошак из локтевой вены в центрифужные пробирки, оставляли в термостате при 37°C на 1 час, после чего центрифугировали в течение 15-30 мин. при 5000 оборотах в минуту.

Для получения ЛПНП к свежеприготовленной сыворотке (минимальное количество около 5 мл) приливали из расчета на 1 мл 0,04 мл гепарина и 0,06 мл 28% CoSO₄, тщательно перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 20 мин. Далее раствор подвергали центрифугированию на рефрижераторной центрифуге К-24 при 3000-4000 об/мин, и 4 °C в течение 1 часа. 1 мл сыворотки и полученный осадок ЛПНП заливали хлороформом-метанолом (2:1 по объему) и экстрагировали из них липиды методом Фолча [1]. Полученные липиды разделяли на тонкослойных пластинках Силуфол в системе растворителей: петролейный эфир-серный, эфир-уксусная кислота (90:10:1). Снимали с пластинок полосы силикагеля с ФЛ и эфирами холестерина (ЭХС) и подвергали их прямому метанолизу в хлористом ацетиле для получения метиловых эфиров жирных кислот [2]. Полученные эфиры жирных кислот (ЖК) разделяли на хроматографе "Хром-4" с пламенно-ионизационным детектором, снабженным стеклянной колонкой 2,4 м и внутренним диаметром 3 мм. В качестве жидкой фазы использовали 15% полиэтиленгликоль-адипат. Идентификацию ЖК наших объектов проводили с использованием метчиков жирных кислот в качестве внутреннего стандарта. Количественное соотношение ЖК на хроматограммах вычисляли методом триангуляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Для исследования связанных ЖК в сыворотке и ЛПНП крови больных и доноров были взяты две фракции липидов : ФЛ, анализ которых позволил бы разобраться в изменении общего состава или соотношений ацильных остатков в структурных липидах, и ЭХС, как компонента с высокой концентрацией которых в сыворотке и ЛПНП связывают сердечно-сосудистую патологию. В табл.1 приведены значения суммы основных насыщенных, моноеновых и полиеновых ЖК, ФЛ и ЭХС в сыворотке больных и доноров. Для обеих групп отмечена одинаковая, более высокая насыщенность ФЛ по сравнению с ЭХС, так как в сумме насыщенных кислот ФЛ около 30 % составила пальмитиновая и около 13 % - стеариновая кислота, тогда как в ЭХС преобладали полиеновые ЖК, главным - образом, линолевая (около 50%). До 80% сывороточных ЭХС является результатом реакции, проходящей с участием фермента лецитин: холестеринацилтрансферазы (ЛХАТ), связанного с ЛПВП. Причем, наиболее предпочтительной кислотой в этой реакции является линолевая [3]. Именно по этой причине в сывороточных ЭХС как доноров, так и больных, преобладает линолевая кислота.

В ФЛ и ЭХС было снижено содержание суммы ненасыщенных ЖК, что наиболее заметно из отношения содержания суммы ненасыщенных ЖК к насыщенным.

В ФЛ больных ($p < 0,05$) падал уровень линолевой и эйкозапентаеновой кислот и почти в 9 раз увеличивалось отношение АК к ЭПК при практически почти одинаковом содержании АК у больных и доноров. Кроме того как в ФЛ, так и в ЭХС больных увеличено отношение содержания эйкозапентаеновой (предшественник арахидоновой) к эйкозатетраеновой (арахидоновой) кислоте, что позволяет предполагать усиление синтеза АК. Все перечисленное дает основание считать, что в полиеновых кислотах обеих фракций липидов больных происходят определенные нарушения, вероятно, связанные с отклонением от нормы общей ферментативной системы синтеза и преобразования ЖК, характерной для доноров. В ЛПНП больных и доноров прослеживалась закономерность, аналогичная таковой в сыворотке. В ФЛ в 2-3 раза выше, чем в ЭХС содержалось насыщенных ЖК с преобладанием пальмитиновой, а основное количество полиеновых, главным образом, линолевой, сосредоточено в ЭХС.

По общему количеству насыщенных ЖК в ФЛ ЛПНП между больными и донорами не было различий, однако у больных наблюдалась тенденция к повышению уровня пальмитиновой и понижению уровня стеариновой кислот. В полиеновых кислотах сни

Таблица 1. Жирнокислотный состав фосфолипидов и эфиров холестерина сыворотке крови больных БА и доноров в % от суммы кислот.

Жирные кислоты	фосфолипиды		эфиры холестерина	
	доноры	БА	доноры	БА
Сумма насыщенных:	43,7	45,6	16,7	18,8
16:0	30,0±0,4	30,8±1,4	13,5±0,7	15,3±0,98
17:0	0,5±0,1	0,9±0,2	0,7±0,1	0,97±0,3
18:0	12,5±0,7	12,5±0,9	1,5±0,1	2,6±0,2
Сумма моноеновых:	17,9	16,4	22,5	19,9
16:1	1,7±0,1	1,2±0,3	3,2±0,1	2,1±1,1
17:1	0,7±0,2	0,2±0,01	0,9±0,1	0,2±0,1
18:1	14,8±0,2	13,8±0,8	16,0±0,2	17,1±0,3
Сумма полиеновых:	38,4	37,8	60,8	58,0
18:2(n-6)	21,4±1,1	19,9±0,5	46,4±0,8	48,1±3,3
18:3(n-3)	3,6±1,1*	0,4±0,1*	1,0±0,2*	0,5±0,1*
20:3(n-6)	4,6±0,6	5,4±1,0	4,2±0,4	3,6±0,3
20:4 (n-6)	6,4±0,4	6,4±0,8	5,7±0,4*	2,9±0,3*
20:4(n-3)	0,2±0,1*	1,8±0,4*	-	-
20:5(n-3)	1,6±0,2*	0,2±0,01*	-	-
22:6(n-3)	0,3±0,1*	1,0±0,2*	1,02±0,2	-
Ненасыщ./насыщ	1,3	0,9	5,0	3,5
Полиен./насыщ	0,9	0,8	3,4	3,0
АК/ЭПК 4,0	4,0	35,5	-	-

* - достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$)

жалась концентрация линолевой, эйкозапентаеновой, докозагексаеновой и эйкозатриеновой кислот. Закономерность изменений в ЛПНП была аналогична таковой в сыворотке, т.е. в ФЛ падал уровень, в основном, тех полиеновых кислот, которые преимущественно расположены во втором положении углеродного атома в молекуле ФЛ, что подтверждает увеличение активности фосфолипазы A_2 . Уровень арахидоновой кислоты в ФЛ и ЭХС в ЛПНП больных был повышен, в 2 раза в ФЛ возрастало отношение содержания АК к ЭПК. В ЭХС ЛПНП больных возрастал уровень насыщенных ЖК за счет пальмитиновой и 17:0 жирных кислот и снижалась концентрация полиеновых кислот (линолевой и арахидоновой). Голодание внесло определенные изменения в состав связанных жирных кислот ФЛ и ЭХС сыворотки крови, причем в ФЛ эти изменения были выражены больше. Так, в ФЛ повышалось содержание суммы основных насыщенных ЖК за счет достоверного подъема уровня пальмитиновой кислоты. В процессе голодания достоверно снижался уровень моноеновых кислот, особенно олеиновой, но повышалась сумма полиеновых кислот за счет эйкозапентаеновой и докозагексаеновой (ДГК). Имелась тенденция к повышению содержания кислот линолевой и арахидоновой. Но падал уровень кислот линоленовой и 20:4 (n-3). РДТ способствовала снижению в ФЛ отношения содержания АК/ЭПК в 3 раза, что давало основание рассматривать этот процесс как положительный в отношении стабилизации мембран. Кроме того, было снижено отношение содержания линолевой кислоты к арахидоновой, линоленовой к эйкозапентаеновой и докозагексаеновой, в определенной степени доказывающее, что голодание ускоряет синтез одних по-

лиеновых кислот за счет других (арахидоновая из линолевой, ЭПК и ДГК из линоленовой), а в итоге увеличивается ненасыщенность жирнокислотного состава и снижается отношение АК/ЭПК.

По общему содержанию суммы насыщенных, моноеновых и полиеновых ЖК в ЭХС не было различий до и после голодания также, как и не было достоверной разницы между отдельными жирными кислотами. Наблюдалась только тенденция к снижению содержания 20:3 (п-6) и увеличение концентрации арахидоновой кислоты ($p < 0,05$). Изменение жирнокислотного состава в ФЛ и ЭХС ЛПНП происходило неоднозначно (табл.2). В ФЛ, которые имели, почти в 3 раза более насыщенный состав, чем ЭХС,

Таблица 2. Жирнокислотный состав фосфолипидов и эфиров холестерина ЛПНП больных БА при РДТ в %.

Жирные кислоты	фосфолипиды		эфиры холестерина	
	доноры (контроль)	БА	доноры (контроль)	БА
Сумма насыщенных:	45,2	48,3	17,5	16,8
15:0	0,3±0,002	0,1±0,001	0,6±0,1	0,6±0,004
16:0	33,5±1,9	39,5±0,6*	13,4±1,2	14,6±1,4
17:0	0,6±0,2	0,3±0,1	1,3±0,1	0,6±0,1
18:0	10,7±1,3	8,3±0,9	2,3±0,7	1,2±0,5
Сумма моноеновых:	12,1	13,2	23,9	16,5
15:1	0,2±0,001	0,6±0,003	1,3±0,4	0,5±0,04
16:1	1,0±0,01	1,3±0,7	2,5±0,4	1,6±0,2
17:1	0,1±0,2	0,7±0,2	0,7±0,1	0,6±0,1
18:1	10,7±0,7	10,7±0,9	19,4±0,9	13,8±0,8
Сумма полиеновых	39,2	36,8	60,3	65,6
18:2(п-6)	23,6±0,7	20,6±0,9	47,8±1,3*	54,2±1,6*
18:3(п-3)	следы	0,5±0,04	0,9±0,1	0,6±0,1
18:3(п-6)	следы	0,6±0,2	1,0±0,2	0,6±0,02
20:3(п-6)	6,1±0,5	2,5±0,6	5,4±0,5*	1,5±0,4*
20:4(п-6)	8,3±0,4	8,5±0,8	4,3±0,5*	7,1±0,7*
20:5(п-3)	0,4±0,01*	1,6±0,4*	0,9±0,03	1,6±0,01
22:6(п-3)	2,8±0,8	2,3±0,9	следы	следы
АК/ЭПК	19,2	5,2	4,8	4,5
Полиен./насыщ	0,9	0,8	3,5	3,9

• - достоверное отличие от контроля

прослеживалась тенденция к еще большему увеличению насыщенности за счет достоверного увеличения концентрации пальмитиновой кислоты. При этом содержание стеариновой кислоты, как и в сыворотке, имело тенденцию к снижению. В обоих случаях у больных после голода пальмитиновая кислота преобладала над стеариновой. В сумме полиеновых ЖК наблюдалась тенденция к снижению за счет небольшой убыли кислот линоленовой, эйкозатриеновой и эйкозатетраеновой. Аналогично происходившему в сы-

воротке, в ФЛ ЛПНП отмечалось более чем в 3 раза снижение отношения АК/ЭПК. В ЭХС ЛПНП, наоборот, увеличивалась сумма полиненасыщенных ЖК, особенно за счет достоверного увеличения содержания линолевой кислоты и АК. Таким образом, РДТ приводила к еще большему повышению насыщенности ФЛ в ЛПНП (подъем уровня пальмитиновой кислоты) и ненасыщенности ЭХС (подъем уровня полиеновых кислот).

Подводя итог вышеизложенному, можно сказать что как в сыворотке, так и в ЛПНП больных, по сравнению с донорами, отношение содержания суммы ненасыщенных ЖК к насыщенным снижено как в ФЛ, так и в ЭХС; резко сокращено содержание линоленовой, эйкозапентаеновой кислот, при почти одинаковом с донорами содержании линолевой кислоты. Уровень арахидоновой кислоты в ФЛ сыворотки крови, ЛПНП менялся мало в связи с тем, видимо, что потребность в ней при БА очень велика, но в обоих случаях отмечался значительный рост отношения АК/ЭПК, особенно - в ФЛ. Как показали наши исследования, при БА наблюдалось снижение концентрации ЭПК, что свидетельствует об ослаблении ее синтеза в пользу АК. И хотя явного нарастания уровня АК не происходило, это не означает, что замедлялся ее синтез. Из литературных источников известно, что при БА усиливается синтез АК [4,5]. Наши данные подтверждают тот факт, что убыль АК в некоторых случаях связана с высоким использованием ее на синтез БАВ, а рост соотношения АК/ЭПК лишь подтверждает наличие реципрокного механизма в синтезе этих кислот. Резкое понижение концентрации АК отмечено в ЭХС сыворотки и ЛПНП больных ($p < 0,05$). К настоящему времени имеются сообщения, в которых показано, что окисление АК липоксигеназой с образованием липоперекисей может происходить не только в ФЛ, но и в ЭХС. Так, липоксигеназа ретикулоцитов очень эффективно окисляет холестериларахидонат и холестериллинолеат в различных клетках крови. По-видимому, при БА' (исходя из наших данных) происходит активное окисление АК как в составе ФЛ, так и в ЭХС.

В последние годы взаимовлиянию АК и ЭПК придается очень большое значение. Установлено, что ЭПК обладает высоко активным противосклеротическим действием, и повышение ее концентрации благоприятно сказывается на свойствах мембран клеток. АК, как уже указывалось выше, дает начало целой серии БАВ и, если метаболизм ее больше направляется по липооксигеназному пути, то из нее увеличивается синтез веществ, являющихся медиаторами аллергических и воспалительных реакций [4,10,11]. Интересны данные о роли ЭПК в метаболизме легких. При скормливания крысам рыбьего жира с высоким содержанием ЭПК содержание у них ЭПК возрастало в 50 раз при одновременном снижении на 60% АК в сыворотке крови, что значительно улучшало состояние животных при гипоксии. Параллельно происходившим изменениям в легких снижался уровень некоторых тромбоксанов, а также агрегация тромбоцитов [7,8]. Потребление ЭПК в составе пищевых продуктов и в виде фармакологических препаратов сопровождалось гиполипидемическим и гипохолестеринемическим эффектами. При этом соотношение между АК и ЭПК в сыворотке смещалось в сторону последней [9].

РДТ оказала глубокое влияние на жирнокислотный состав сыворотки и ЛПНП. Наиболее важным было повышение уровня полиеновых жирных кислот в ФЛ и ЭХС. Это связано с более ненасыщенными ЭХС в ЛПНП, которые проникают в стенки кровеносных сосудов легких, делают их менее атерогенными, препятствуя фиброзированию тканей. Поднятие же уровня пальмитиновой кислоты в сыворотке и ЛПНП можно считать фактором благоприятным с тех позиций, что эти частицы, проникая в сосуды легкого, поставляют пальмитат для сурфактанта. РДТ создавала условия для наиболее благоприятного соотношения двух ключевых кислот - арахидоновой и эйкозапентаеновой, первая из которых является источником медиаторов аллергии, а вторая стабилизирует мембраны, приводя к условиям, более близким к нормальному физиологическому функционированию. Благоприятные изменения в соотношении АК и ЭПК наблюдались как в ФЛ так и в ЭХС. Таким образом, на фоне РДТ снижалось расходование АК (как субстрата для

синтеза БАВ), а это, в свою очередь, приводило к реципрокному увеличению синтеза ЭПК. Не исключено, что действовал обратный механизм: первоначальное усиление на фоне РДТ синтеза ЭПК с реципрокным подавлением синтеза АК. В составе ЛПНП в легочную ткань попадает не только пальмитат, но ЭПК и АК, из которой синтезируются БАВ. Чем более оптимальным будет соотношение АК/ЭПК (РДТ приводит это соотношение к уровню доноров), тем меньше синтезируется медиаторов воспаления, аллергии и лучше стабилизируется мембранная система клеток бронхолегочной ткани. Снижение отношения АК/ЭПК создает противовоспалительный, противоаллергический фон, способствует улучшению реологии крови.

ЛИТЕРАТУРА.

1. *Folch J., Lees M., Sloane-Stenley G.* (1957) *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509.
2. *Цыганов Э.П.* (1971). Лаб. дело, **8** 490-493.
3. *Glomset J.* (1968) *J. Lipid Res.* **9**, 2, 155-167.
4. *Вельтищев Ю.Е., Святкина О.Б.* (1981) *Вопр. мед. химии*, **27**, 441-447.
5. *Гальцер Б. И.* (1991). *Терап. архив*. №3, 33-37.
6. *Некрасов А.С., Панкин В.З., Вухерт А.М.* (1986) *ДАН СССР*, **290**, 755-758.
7. *Ли Хва Рен, Васильева А.Р., Орехов А.Н., Тутельян В.А.* (1989). *Вопр. питания*, №3, 20-22.
8. *Archer S.L., Johonson G.J., Gebhard R.L. et al.* (1989) *J. Appl. Physiol.*, **66**, 662-667.
9. *Самсонов М.А., Левачев М.М., Погожева А.В., Корф И.И., Абакумов А.С.* (1992). *Вопр. мед. химии*, **38**, №3, 22-25.
10. *Half C.M. and Rosen P.* (1987) *Et Biophys. Acta*, **921**, 2, 356-363.
11. *Kobayashi T., Lavine L.* (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 9116-9121.

PROPORTION OF TWO POLIENIC ACIDS (ARACHIDONIC AND EYCOSAPENTAENIC) IN BLOOD SERUM CONTENTS IN BRONCHIAL ASTHMA PATIENTS DURING LOW-DIET THERAPY.

M.LIZENKO, V.PETROVSKIY, A.BAKHIREV.

Department of Internal Medicine Petrozavodsk State University. Lenina 33, Petrozavodsk, 185640, Karelia, Russia, E-mail: postmaster@mainpgu.karelia.ru

Lipid metabolism in patients with infection-dependend bronchial asthma was compared before and after 14 days low-diet therapy. After therapy the proportion AA/EPA in blood serum and in low density lipoproteins considerably decreased to ($p < 0.05$).

Key words: arachidonic and eicosapentaenic acids, serum, lipoproteins, bronchial asthma.