

На правах рукописи



**Коваленко Иван Сергеевич**

**РЕГУЛЯЦИЯ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ  
ЭКЗОГЕННЫМИ ЭТАНОЛАМИНАМИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПРИ ЛЕГКОЙ  
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ**

3.3.3. – Патологическая физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Благовещенск –2025

Работа выполнена во Владивостокском филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательском институте медицинской климатологии и восстановительного лечения

**Научный руководитель:**

Новгородцева Татьяна Павловна - доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по научной работе Владивостокского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательского института медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток.

**Официальные оппоненты:**

Дюйзен Инесса Валерьевна – доктор медицинских наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии имени А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток.

Момот Татьяна Викторовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), г. Москва.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Иркутск.

Защита состоится «23» апреля 2025 г. в 13:00 часов на заседании объединенного диссертационного совета 99.0.062.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, д.95.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» <https://cfpd.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 202\_ г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук



Приходько Анна Григорьевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Бронхиальная астма (БА) представляет собой распространенное хроническое патологическое состояние респираторной системы, которое затрагивает от 1 до 18% населения в различных странах мира. В последние годы наблюдается постоянное увеличение заболеваемости, что придает БА статус значимой медико-социальной проблемы глобального масштаба. Болезнь отличается значительной гетерогенностью клинических проявлений, разнообразием триггерных факторов и сложной патофизиологией. У значительной части пациентов с бронхиальной астмой наблюдается недостаточный контроль над заболеванием, что усложняет лечебный процесс и способствует прогрессированию болезни, повышая риск инвалидизации и летального исхода (GINA, 2024). Для большинства пациентов симптомы заболевания могут контролироваться комбинированным применением ингаляционных кортикостероидов и бронходилататоров. Однако от 5 до 10 % пациентов страдают рефрактерной к лечению БА, поэтому для разработки новых и эффективных терапевтических подходов к лечению данной патологии требуется дальнейшее изучение механизмов, приводящих к хронизации воспаления и развитию бронхоспазма (Ray A. et al., 2017).

Одним из важных патофизиологических механизмов бронхиальной астмы является комплексное и многоаспектное хроническое воспаление, включающее воспалительные процессы в дыхательных путях и системное воспаление. Центральным звеном системного воспаления являются цитокины, эйкозаноиды (или оксипирины), эндоканнабиноиды и другие липидные медиаторы, состав и взаимодействие которых определяет характер воспалительной реакции. Цитокины играют ключевую роль в регуляции воспалительных ответов при БА. Исследования показывают, что содержание в крови цитокинов и соотношение между различными их представителями оказывают влияние на механизм и тип воспалительного ответа при БА и, соответственно, на эффективность терапии данного заболевания (Xie Y. et al., 2022). Решающую роль в индукции и регуляции системного воспалительного ответа играют эйкозаноиды – биологически активные липидные соединения, синтезируемые в ходе окислительных процессов полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Эти сигнальные молекулы образуют комплексную сеть, включающую в себя мощные медиаторы воспалительных процессов, которые оказывают влияние на метаболические пути и сигнальные каскады в иммунных клетках. Взаимодействие эйкозаноидов с клеточными рецепторами и сигнальными путями тесно коррелирует с развитием патогенетических механизмов БА и других аллергических патологий. Фармакологическая регуляция провоспалительной активности эйкозаноидов широко используется в лечении БА и аллергических заболеваний (Sokolowska M. et al., 2021). Важными сигнальными молекулами в патогенезе бронхиальной астмы являются этаноламины жирных кислот (ЖК), или N-ацилэтанолоамины (NAE) – липидные соединения, принадлежащие к группе каннабиноидов. N-ацилэтанолоамины участвуют в разнообразных процессах организма. Они играют ключевую роль в регуляции когнитивных способностей, артериального давления, гликемии, а также в управлении процессом разрешения воспаления. Предполагается, что нарушение эндогенного синтеза этих медиаторов может играть ключевую роль в развитии системного воспаления при астме. Метаболизм N-ацилэтанолоаминов при хронической патологии дыхательных путей остается недостаточно изученным, что мешает полностью понять их роль и значимость в регуляции иммунных реакций. Эти вещества могут влиять на выработку провоспалительных цитокинов и эйкозаноидов, и в то же время являются

источником для синтеза липидных сигнальных молекул с противовоспалительным и проразрешающим эффектом. Эти свойства N-ацилэтанолламинов представляют интерес с позиций их применения для регуляции хронического воспаления и ускорения процесса его разрешения.

Таким образом, исследование особенностей воспалительной реакции при БА, установление роли липидных медиаторов в формировании и разрешении воспаления, детализация молекулярных механизмов действия экзогенных NAE для регуляции иммунных процессов остаётся крайне актуальным в связи с ростом заболеваемости, многообразием патогенетических механизмов, участвующих в развитии и течении БА, а также недостаточной эффективностью существующих терапевтических подходов.

**Степень разработанности темы исследования.** Изучение патофизиологии бронхиальной астмы занимает ключевую позицию в научных исследованиях. Обусловлено это многогранностью и сложностью механизмов, регулирующих развитие данного заболевания. Несмотря на значительный прогресс в области медицины, до сих пор не разработаны достаточно эффективные методы терапии бронхиальной астмы. В арсенале медицинских препаратов, применяемых для контроля астматических проявлений, присутствует ограниченное количество фармакологических классов. Воздействуя на молекулярные механизмы, инициирующие первичную фазу иммунного ответа, данные фармакологические агенты могут подавлять эндогенные защитные реакции организма, что негативно сказывается на их клинической эффективности. В этом контексте, разработка инновационных подходов к управлению бронхиальной астмой приобретает особую значимость. Актуальным на сегодняшний день является поиск и изучение патогенетического действия природных биомодуляторов системного воспаления. К таковым могут быть отнесены производные насыщенных и ненасыщенных жирных кислот – N-ацилэтанолламины, которые включены во многие физиологические процессы организма. Биосинтез и физиологическая роль этих молекул уже достаточно хорошо исследованы, а пути их биосинтеза подтверждены экспериментально (Liu J. et al., 2006; Zhu C. et al 2011; Mock E. et al, 2023). N-ацилэтанолламины являются лигандами для множества рецепторных систем. Они взаимодействуют с рецепторами, активируемыми пролифераторами пероксисом (PPARs), которым отводится ключевая роль в регуляции гомеостаза липидов и воспалительных процессов. NAE взаимодействуют с рецепторами, сопряженными с G-белком (GPCRs), и представляющими обширный класс рецепторов, участвующих в передаче сигналов в клетке. Также NAE взаимодействуют с каннабиноидными рецепторами (CB), которые являются частью эндоканнабиноидной системы и влияют на множество физиологических процессов, а также ионными каналами с транзитным рецепторным потенциалом (TRPs) (Petrosino S et al, 2017; de Bus. I. et al, 2019; Navarro G et al, 2020; Etemad L et al, 2022). Наиболее подробно изученными представителями класса NAE являются этанолламины, производные арахидоновой (NAE 20:4n-6, известный также как анандамид), пальмитиновой (NAE 16:0) и олеиновой (NAE 18:1) жирных кислот. Биологические и фармакологические характеристики этих N-ацилэтанолламинов демонстрируют значительное разнообразие в эффектах, которые они оказывают на организм. Так, этанолламины насыщенных и моноеновых ЖК, такие как NAE 16:0 и NAE 18:1, не обладают каннабиноидной активностью и классифицируются как неканнабиноидные N-ацилэтанолламины (Tsuboi K et al 2018). Противовоспалительные и анальгетические свойства этих соединений обусловлены их высоким сродством к рецепторам GPR18, GPR119, GPR55, а также к PPAR $\alpha$  и ванилоидному рецептору типа 1 (TRPV1) (Meijerink J. et al., 2013; de Bus I. et al, 2021). В отличие от насыщенных и моноеновых NAE, NAE 20:4n-6 способны активировать каннабиноидные

рецепторы, включая CB1, присутствующие в центральной нервной системе, и CB2, находящиеся в периферических тканях, в том числе в иммунных клетках, что делает его частью эндоканнабиноидной системы организма. При широком спектре биологического действия каннабиноидов, они обладают рядом побочных эффектов, что ограничивает их высокий терапевтический потенциал. Необходим поиск соединений с каннабиномиметической активностью среди N-ацилэтанололаминов, которые могут быть терапевтически более перспективными, чем каннабиноиды. Такими соединениями могут быть этаноламины n-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) – эйкозапентаеновой и докозагексаеновой. Данный класс соединений остается недостаточно изученным. Изучение функции N-ацилэтанололаминов в качестве регулятора воспалительных реакций представляет собой перспективное направление в научных исследованиях, которое может способствовать разработке инновационных подходов к терапии и улучшению контроля БА.

**Цель исследования:** установить патофизиологическую значимость этаноламинов n-6 и n-3 ПНЖК и обосновать применение экзогенных N-ацилэтанололаминов для регуляции системного воспаления при БА легкой степени тяжести.

**Задачи исследования:**

1. Оценить характер воспалительного ответа у пациентов с БА легкой степени тяжести по содержанию в крови интерферона (INF) гамма, интерлейкинов (IL) 17a, -2, -10, -4, -6, фактора некроза опухоли (TNF) альфа и эйкозаноидов – тромбоксана (Tx) B2, простагландина (PG) E2 - PGE2, лейкотриена (LT) B4, липоксина (LX) A4, 5-гидроксиэйкозапентаеновой кислоты (HEPE), 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE.

2. Изучить содержание отдельных представителей жирных кислот и N-ацилэтанололаминов в плазме крови больных легкой БА.

3. Установить взаимосвязь состава жирных кислот, уровня эндогенных N-ацилэтанололаминов с системной воспалительной реакцией у больных легкой БА; дать патогенетическое обоснование использования экзогенных NAE для модуляции воспалительного ответа.

4. Изучить влияние различных доз экзогенных NAE n-6 и n-3 ПНЖК (арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой) на синтез эйкозаноидов и цитокинов в эксперименте *in vitro*; установить роль N-ацилэтанололаминов ПНЖК в регуляции воспалительной реакции при БА легкой степени тяжести.

**Научная новизна исследования.** В работе установлен характер системной воспалительной реакции у больных легкой БА: увеличение уровней интерлейкинов 17A, 2, 6, фактора некроза опухоли альфа, снижение образования интерферона-γ и интерлейкина-10; усиление синтеза провоспалительного лейкотриена B4 на фоне снижения всех представителей проразрешающих оксипинов – 5-, 12-, 15- и 18-HEPE. Впервые показано, что характер системной воспалительной реакции у больных легкой БА ассоциируется с модификацией состава ЖК и нарушением синтеза эндогенных N-ацилэтанололаминов: увеличением доли насыщенных и C20-22 n-6 ПНЖК на фоне снижения пула моноеновых и n-3 ПНЖК; снижением показателей метаболических превращений ЖК, характеризующих угнетение активности ферментов Δ9 и Δ6 десатураз; уменьшением синтеза этаноламинов насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных ЖК – NAE 16:0, NAE 18:1, NAE 20:4n-6 и NAE 22:6n-3. Впервые установлен вклад жирных кислот и эндогенных N-ацилэтанололаминов в формирование системного воспаления при легкой БА. Показано на основании системного анализа, что наиболее выраженный ответ иммунной системы связан с интенсивностью образования мононенасыщенной олеиновой кислоты и n-6 ПНЖК, обладающих провоспалительными

свойствами. Взаимосвязь соотношений ЖК с иммунными медиаторами в наибольшей степени обнаружена для IL-17A, IL-10, IL-4, IL-6. Нарушение метаболизма моно- и полиненасыщенных жирных кислот дизрегулирует работу цитокинового звена иммунной системы, что может способствовать развитию и хронизации воспалительного процесса у больных легкой БА. Среди эндогенных этаноламинов максимальную вовлеченность в цитокиновую регуляцию при легкой БА имеют анандамид (NAE 20:4n-6) и синаптамид (NAE 22:6n-3), при этом анандамид имеет максимальную взаимосвязь с IL-17A, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2; синаптамид – с IL-17A, IL-6, TNF- $\alpha$ . Пониженные значения эндогенного содержания NAE вызывают усиление влияния провоспалительного компонента при легкой БА и являются обоснованием использования экзогенных N-ацилэтанолamines n-6 и n-3 ПНЖК в регуляции воспаления. В рамках эксперимента *in vitro* впервые установлено, что экзогенные N-ацилэтанолamines – производные полиненасыщенных жирных кислот n-6 и n-3, оказывают влияние на модуляцию системной воспалительной реакции при легкой БА. Механизм действия этих соединений заключается в стимуляции синтеза противовоспалительных медиаторов и ингибировании провоспалительных метаболитов. Противовоспалительный эффект NAE 20:4n-6 (анандамид) выявлен в дозах 3–10  $\mu$ M, реализуется посредством подавления синтеза клетками крови провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-8 и оксипинов LTB4 и TXB2, зависит от дозы экспериментального вещества и выраженности воспалительной реакции. Влияние NAE 20:5n-3 на синтез провоспалительных медиаторов выявлено в концентрациях от 1 до 10  $\mu$ M и выражено снижением производства провоспалительных цитокинов (IL-17a, IL-6) и оксипинов (PGE2, LTB4), увеличением противовоспалительных и проразрешающих липидных медиаторов (LXA4, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE). Особенности эффектов NAE 22:6n-3 проявляются воздействием на цитокиновый статус только наивысшей дозы 10  $\mu$ M и дозозависимым влиянием на уровень проразрешающих липидных медиаторов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Проведенное исследование расширяет представление о патогенезе бронхиальной астмы, характере системного воспаления у больных легкой БА контролируемого и частично контролируемого течения. В условиях *in vitro* установлены дозозависимые эффекты экзогенных N-ацилэтанолamines жирных кислот на синтез про- и противовоспалительных медиаторов клетками крови больных БА, впервые обоснована возможность их использования для компенсации системной воспалительной реакции. Полученные в данной работе новые знания формируют вектор для направленной регуляции воспалительной реакции путем использования экзогенных этаноламинов n-3 ПНЖК, способных корректировать баланс провоспалительных и противовоспалительных медиаторов. Дозозависимые противовоспалительные эффекты экзогенных N-ацилэтанолamines являются решающим фактором стратегии повышения контроля над заболеванием, могут стать основой разработки препаратов для таргетной терапии БА.

**Методология и методы исследования.** Исследование проведено на базе клиники и лаборатории биомедицинских исследований Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИ МКВЛ в рамках плановой НИР «Патогенетические механизмы формирования заболеваний респираторной системы» (№ госрегистрации АААА-А19-119100290026-5) в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта исследования» (пересмотр 2013 г) и было одобрено локальным Этическим комитетом (протокол №5 от 25.12.2020 г). Пациенты участвовали в исследовании на условиях добровольного информированного согласия. Дизайн диссертационной работы – проспективное контролируемое сравнительное исследование.

Предметом исследования явилось системное воспаление при бронхиальной астме легкой степени тяжести контролируемого и частично-контролируемого течения, которое оценивалось по уровню цитокинов и эйкозаноидов (оксилипинов) и его взаимосвязи с модификацией состава жирных кислот, нарушением синтеза эндогенных N-ацилэтаноламинов. В эксперименте *in vitro* на клетках крови больных стимулированных и не стимулированных липополисахаридом оценивалась возможность регуляции системной воспалительной реакции экзогенными N-ацилэтаноламинами ПНЖК. В работе использованы современные методы исследования – иммуноферментный анализ цитокинов и оксилипинов, газовая хромато-масс-спектрометрия жирных кислот, высокоэффективная жидкостная хроматография эндогенных N-ацилэтаноламинов.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Системное воспаление у больных БА легкой степени тяжести характеризуется перераспределением ключевых цитокинов, усилением синтеза провоспалительных липидных медиаторов на фоне истощения пула противовоспалительных; ассоциируется с нарушением состава и метаболизма жирных кислот, выраженным снижением эндогенных N-ацилэтаноламинов, что свидетельствует об усилении влияния провоспалительного компонента. Наибольший отклик цитокинового профиля на основании системного анализа установлен для суммарных показателей Sum C20-22n-6 ЖК и Sum C20-22n-6/Sum C20-22n-3 ЖК, а также эндогенных NAE 20:4n-6 и NAE 22:6n-3. Полученный результат является патогенетическим обоснованием использования экзогенных N-ацилэтаноламинов n-6 и n-3 ПНЖК в регуляции системного воспаления.
2. Регуляторная роль анандамида (NAE 20:4n-6) заключается в подавлении синтеза клетками крови провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-8 и оксилипинов LTB<sub>4</sub>, TXB<sub>2</sub>, зависит от дозы экспериментального вещества и выраженности воспалительной реакции. Эффект анандамида проявляется в дозах 3 и 10  $\mu$ M.
3. Регуляторная роль N-эйкозапентаэноилэтаноламина (NAE 20:5n-3) заключается в дозозависимом снижении синтеза провоспалительных цитокинов (IL-17a, IL-6) и оксилипинов (PGE<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>), увеличении образования противовоспалительных липидных медиаторов (LXA<sub>4</sub>, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE). Эффект наблюдается при воздействии 1, 3 и 10  $\mu$ M NAE 20:5n-3.
4. Особенностью противовоспалительного эффекта синаптамида (NAE 22:6n-3) является преимущественная регуляция синтеза липидных медиаторов – снижение производства LTB<sub>4</sub>, PGE<sub>2</sub> на фоне усиления образования 5-, 12-, 15-, 18-HEPE. Эффект воздействия синаптамида на цитокиновый статус проявляется при воздействии только наивысшей дозы 10  $\mu$ M в виде снижения уровня IL-6.

**Степень достоверности, апробация результатов.** Результаты исследования соответствуют критериям доказательной медицины, достоверность результатов определяется достаточным объемом наблюдений, корректным формированием групп наблюдения, репрезентативностью комплексного обследования пациентов. В работе использовались современные и адекватные поставленным задачам методы медицинской статистики. Основные результаты диссертации доложены на IX Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (г. Благовещенск, 2021); XXVI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (г. Санкт-Петербург, 2022); X Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (г. Благовещенск, 2023); XXX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины–2024» (г. Санкт-Петербург, 2024); XVIII международной научной конференции «Системный анализ в медицине» (г.

Благовещенск, 2024); Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии» (г. Чита, 2024).

**Внедрение.** Результаты исследования интегрированы в научно-практическую работу структурных подразделений Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ, учебный процесс Школы медицины и наук ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» по дисциплине Медицинская биохимия. На основе материалов диссертационного исследования оформлено методическое руководство в виде Пособия для врачей «Липидные медиаторы и их роль в формировании системного воспаления при бронхиальной астме легкой степени тяжести», описывающее возможности использования воспалительных медиаторов в прогнозной оценке контроля БА (Утверждено на ученом совете НИИМКВЛ 25 ноября, 2024 г., протокол №8).

**Личное участие автора.** В рамках исследовательского процесса, автор активно участвовал во всех этапах подготовки диссертационной работы. Это включало в себя проведение научно-информационного поиска, систематизацию релевантных данных, полученных из современных научных публикаций, формулирование проблематики исследования и разработку методологического аппарата. Диссертант осуществлял прямое участие в процессе отбора пациентов в группы, а также в проведении экспериментальных исследований. В рамках своей деятельности автор осуществлял сбор первичных эмпирических данных и их последующую интеграцию в специализированную базу данных. Математическая обработка полученных данных и их последующая интерпретация, написание научных статей, подготовка текста диссертации также находились в зоне ответственности автора.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 10 опубликованных в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных базах данных, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. Получены 3 свидетельства о государственной регистрации баз данных.

**Структура и объем диссертации.** Текст диссертации напечатан на 130 страницах, включает 23 иллюстрации и 13 таблиц. Структура диссертации включает в себя вступительную часть, обзор литературы, раздел с описанием использованных материалов и методов исследования, три раздела с результатами исследований, отдельные разделы посвящены обсуждению и интерпретации полученных результатов, выводам, практическим рекомендациям. Представлен перечень сокращений и перечень использованных источников. Библиография насчитывает 220 источников, среди которых 13 опубликованы в отечественных журналах и 207 – в зарубежных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования.** В исследовании приняли участие 145 человек. Из них 97 больных БА легкой степени тяжести (60 человек с контролируемой и 37 – частично контролируемой БА), в том числе 36 мужчин (37,1%) и 61 женщина (62,9%) составили группу наблюдения. В группу контроля вошли 48 условно здоровых лиц. Группы были сопоставимы по возрасту и полу. Среди обследованных лиц преобладали люди трудоспособного возраста от 41 до 60 лет (средний возраст 49 (42; 56)) лет.

**Критериями включения** пациентов в исследование было наличие БА легкой степени тяжести, контролируемого и частично контролируемого течения и возраст от 18 до 65 лет. Пациенты исключались из исследования при наличии БА средней и тяжелой степени тяжести, БА неконтролируемого течения, оверлап синдрома БА и ХОБЛ, профессиональных заболеваний бронхолегочной системы, эндокринных заболеваний, ожирения 3-4 степени, сердечно-

сосудистых заболеваний, заболеваний внутренних органов в стадии декомпенсации. Диагностика заболеваний осуществлялась согласно протоколу Глобальной стратегии лечения и профилактики астмы (GINA, 2020-2023) и Международной классификации болезней 10-го пересмотра. Заболевание диагностировалось на основании данных анамнеза, объективного осмотра, физикальных, инструментальных и лабораторных методов исследования. При оценке контроля над заболеванием ориентировались на клинические проявления, данные спирометрии, результаты валидизированного опросника ACQ-5 тест (Asthma Control Questionnaire). Оценку функции внешнего дыхания (ФВД) проводили с помощью пикфлоуметрии и спирографии с использованием аппарата REF Spirolab III cohour MIR (Италия).

Материалом исследования явилась медицинская документация – электронные истории болезни, анкеты тематических больных. Для исследования использовался биологический материал обследуемых (цельная кровь, плазма); синтетические этаноламины жирных кислот: N-арахидоноилэтанолламин (Sigma-Aldrich), N-эйкозапентаеноилэтанолламин и N-докозагексаеноилэтанолламин (предоставлены лабораторией фармакологии ФГБНУ "Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского" ДВО РАН).

Экстракцию липидов для аналитических целей проводили из плазмы крови смесью хлороформ–метанол, 1:2 (по объему) согласно методу Блайя и Дайера (Bligh and Dyer, 1959). Уровень жирных кислот оценивали по содержанию их метиловых эфиров (МЭЖК). МЭЖК получали по методу Carreau, Duback (1978). Очистку МЭЖК осуществляли препаративной тонкослойной хроматографией (ТСХ). Анализ МЭЖК проводили методом хроматомасс-спектрометрии с использованием хроматографа GC-17A (Shimadzu, Япония) с пламенно-ионизационным детектором. Для анализа использовали капиллярную колонку Supelcowax 10 (Supelco, США). Идентификацию пиков МЭЖК осуществляли по временам удерживания индивидуальных эфиров жирных кислот и по значениям эквивалентной длины цепи. Результаты выражали в процентах от общего количества ЖК. (Carreau J.P. et al., 1978).

Количественное определение NAE жирных кислот проводили в плазме крови на базе лаборатории сравнительной биохимии «Национального научного-исследовательского центра морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН. К образцам плазмы добавляли внутренний стандарт 22:0-NAE в концентрации 0,1 нмоль с последующей экстракцией липидов по методу Блая и Дайера (1959). Конечный липидный остаток растворяли в 1 мл охлажденного хлороформа, продували аргоном и хранили при минус 70°C до проведения высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС). Анализ NAE методом ВЭЖХ-МС выполняли на аналитической колонке Ascentis C18 (2.1 292 мм × 100 мм × 3 мкм, Supelco, США) и масс-спектрометре LC-MS 8060 (Shimadzu, Япония). Количественную оценку каждого NAE в образце сыворотки проводили с помощью LabSolution (Shimadzu, Япония) с последующим сравнением площади пика с площадью пика внутреннего стандарта.

В плазме крови и супернатанте (эксперимент) методом иммуноферментного анализа (ИФА, автоматический ИФА-анализатор Evolis Twin Plus, Bio-Rad, США) исследовали уровень цитокинов: IL-2, IL-10 (наборы Вектор-Бест, Россия), IL-4, IL-6, IL-17A, фактора некроза опухоли (TNF)-α, интерферона (INF)-γ (наборы ООО «Цитокин», Россия). Направленность иммунного ответа определяли по соотношению ключевых цитокинов, формирующих Т-хелперный тип: IL-17A/INF-γ; IL-17A/TNF-α; IL-17A/IL-4.

Выделение эйкозаноидов – 5-HEPE, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE, TXB2, PGE2, LXA4, LTC4 осуществляли на миниколонках (Minicolumns for Sample Preparation, США), количественный уровень определяли иммуноферментным методом (тест-система Biotrak EIA system, «Amersham Biosciences», Великобритания).

В эксперименте *in vitro* в венозной крови 49 пациентов с БА и 37 здоровых лиц определяли влияние N-ацилэтанололаминов ПНЖК на секрецию цитокинов и синтез липидных медиаторов. Для стимуляции иммунного ответа в биоматериал добавляли липополисахарид (LPS серотип 0111: B4, Sigma-Aldrich) в концентрации 10 мкг/мл и инкубировали в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 30 минут в режиме плавного перемешивания (СО<sub>2</sub> -инкубатор EC160 (Nuve, Турция). Затем вносили экспериментальные вещества: N-ацилэтанололамин арахидоновой кислоты (NAE 20:4, Sigma-Aldrich), N-ацилэтанололамин эйкозапентаеновой кислоты (NAE 20:5) и N-ацилэтанололамин докозагексаеновой кислоты (NAE 22:6) в исследуемых концентрациях (1,0; 3,0; 5,0 и 10,0 μМ) и инкубировали при 37<sup>0</sup>С в течение 6 часов в режиме плавного перемешивания (метод получения N-ацилэтанололаминов n-3 полиненасыщенных жирных кислот описан в Latyshev, et al. 2014; Tyrtysnaia, et al. 2021). Для контроля использовался следующий сет пробирок: 1. Кровь разведенная 1:5 средой RPMI 1640 без инкубации; 2. Кровь разведенная 1:5 средой RPMI 1640 инкубированная при обозначенных выше условиях без LPS и без экспериментальных веществ; 3. Кровь разведенная 1:5 средой RPMI 1640 инкубированная при обозначенных выше условиях с LPS, но без экспериментальных веществ. После инкубации биоматериал центрифугировали при 2500 об/мин в течении 15 минут. Супернатант отбирали и замораживали при -80<sup>0</sup>С для хранения и последующего исследования.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась в программе Statistica, версия 10.0 (Stat Soft, США). Совокупности количественных показателей описывались при помощи значений медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q25 – Q75). Так как у большинства групп признаки имели распределение отличное от нормального, множественное сравнение между группами было проведено с использованием критерия Краскела-Уоллиса. Для решения проблемы множественных сравнений использовали поправку Бонферрони. Все различия считались значимыми при  $p < 0,05$ . Для оценки интегральных взаимодействий использовали методику Веремчук Л.В. и соавт, (2022). Отбор парных корреляций «r» проводили при  $p < 0,05$ . Расчет показателя интегральной сопряженности (D) осуществляли с использованием статистически значимых корреляционных связей r ( $p < 0,05$ ), фактическая величина которых суммировалась и соотносилась к максимальной сумме корреляционных связей при R=1,0.

$$D = \frac{\sum_i^n r}{\sum_i^N R}$$

где: D – показатель интегральной сопряженности (в у.е.); n – количество корреляционных связей ( $p < 0,05$ ); r - величина фактической корреляционной связи ( $p < 0,05$ ); N – максимальное число предполагаемых корреляционных ячеек в матрице; R – максимальная величина корреляционной связи, равная 1,0 (Веремчук Л.В. и др, 2022). Показатель D позволяет оценить отклик индивидуального параметра одной системы на комплексные изменения параметров другой. В норме внутри и межсистемная сопряженность параметров стремится к минимуму, при патологических состояниях она нарастает пропорционально их интенсификации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Характеристика системной воспалительной реакции у больных легкой бронхиальной астмой

Для установления особенностей системной воспалительной реакции у больных легкой БА проанализирован уровень цитокинов и оксипинов в крови 48 больных и 11 здоровых лиц (Рис.1). Системное воспаление при легкой БА характеризовалось активацией в периферической крови провоспалительных цитокинов, в наибольшей степени – IL-17A (на 117%,  $p < 0,001$ ) и IL-6

(на 93%,  $p < 0,001$ ). Умеренно возрастала выработка IL-2 (на 20%,  $p < 0,05$ ) и TNF- $\alpha$  (на 23% ( $p < 0,05$ )) относительно аналогичных показателей здоровых лиц. В сыворотке крови у лиц с БА зафиксирована также тенденция к возрастанию концентрации IL-4. В то же время у больных БА выявлено снижение уровня цитокина интерферонового ряда – INF- $\gamma$  на 26% ( $p < 0,01$ ) и основного регуляторного интерлейкина – IL-10 на 27% ( $p < 0,001$ ) относительно группы здоровых лиц (Рис. 1А). Для определения направленности иммунного ответа в исследуемой группе пациентов с бронхиальной астмой использованы соотношения ключевых цитокинов, формирующих Т-хелперный путь иммунного ответа. У здоровых лиц соотношение IL-17A/INF- $\gamma$  составило 0,47; IL-17A/TNF- $\alpha$  – 0,06; IL-17A/IL-4 – 11,63. У больных БА данные коэффициенты были значительно увеличены: 1,39; 29,6 и 21,78, соответственно. Эти данные указывают на рост уровней провоспалительных цитокинов, и, следовательно, на наличие системного воспаления. Полученные результаты свидетельствуют о перераспределении у больных БА ключевых цитокинов, отвечающих за регуляторные Th пути. В наибольшей степени формируется дисбаланс оси IL-17A/INF- $\gamma$  за счет одномоментного возрастания уровня IL-17A и снижения содержания INF- $\gamma$ ), что приводит к стимулированию Th-17 типа иммунного ответа.

Анализ образования эйкозаноидов – метаболитов арахидоновой и эйкозапентаеновой ПНЖК, показал повышение уровня провоспалительного медиатора LTB4 на 28% ( $p < 0,01$ ) у больных легкой БА относительно здоровых лиц. При этом отмечено значительное снижение большинства противовоспалительных оксипиринов – 5-HEPE на 30% ( $p < 0,01$ ), 12-HEPE на 35% ( $p < 0,05$ ), 15-HEPE на 63% ( $p < 0,001$ ), 18-HEPE на 42% ( $p < 0,001$ ) (Рис. 1Б). Истощение пула противовоспалительных на фоне усиления синтеза провоспалительных липидных медиаторов при БА может быть вызвано изменением состава и метаболизма ПНЖК, перераспределением образования про- и противовоспалительных их дериватов, что является неблагоприятным признаком дисрегуляции воспалительного процесса и способствует его хронизации.

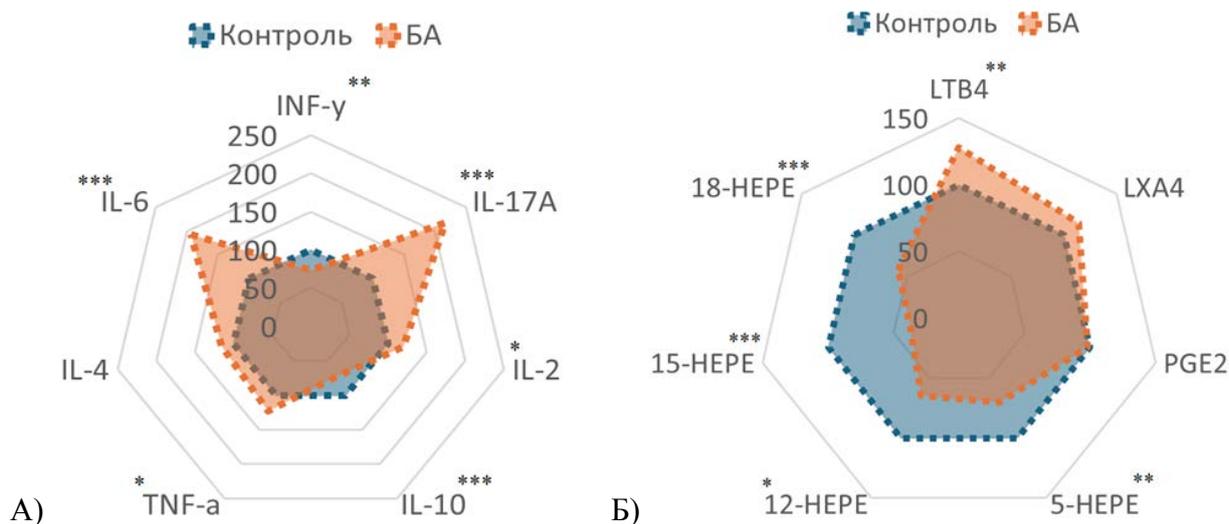


Рисунок 1 – Изменение уровня цитокинов (А) и оксипиринов (Б) в крови больных легкой БА относительно контроля (%). Значения контрольной группы приняты за 100%:

\* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

Выявленный характер воспалительной реакции у больных БА легкой степени тяжести обуславливает необходимость детализации патофизиологических механизмов и разработки иммунорегуляторных методов регуляции системного воспаления.

### Состав жирных кислот плазмы крови и активность их метаболических превращений у больных легкой бронхиальной астмой

Проанализирован состав общих жирных кислот плазмы крови 48 пациентов с БА легкой степени тяжести. Модификация состава ЖК оценивалась относительно показателей условно здоровых лиц (контрольная группа, 11 человек). В составе ЖК плазмы крови обследованных пациентов выделено 39 кислот насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных, нормального и изо-строения с длиной углеродной цепи от C<sub>10</sub> до C<sub>24</sub>, как с четным, так и нечетным числом углеродных атомов. В табл.1 представлен состав основных ЖК, имеющих статистически достоверные межгрупповые различия.

Таблица 1 – Состав основных жирных кислот плазмы крови больных БА, % от общей суммы

Показатели ЖК,%	Контрольная группа, n=11	Группа больных БА, n=48
Насыщенные ЖК		
12:0	0,97 [ 0,87 ; 1,05 ]	0,7 [ 0,6 ; 0,8 ] **
14:0	1,14 [ 1,11 ; 1,23 ]	1,25 [ 1,21 ; 1,29 ] **
15:0	0,62 [ 0,53 ; 0,74 ]	0,22 [ 0,18 ; 0,25 ] **
16:0	19,84 [ 18,78 ; 20,12 ]	22,4 [ 21,36 ; 24,37 ] **
Мононенасыщенные ЖК		
18:1n9	18,9 [ 18,36 ; 19,51 ]	14,67 [ 13,91 ; 16,43 ] **
Полиненасыщенные ЖК		
18:3n6	0,33 [ 0,26 ; 0,38 ]	0,19 [ 0,17 ; 0,21 ] **
18:3n3	1,02 [ 0,78 ; 1,2 ]	0,58 [ 0,42 ; 0,63 ] **
20:3n9	0,6 [ 0,55 ; 0,65 ]	0,4 [ 0,3 ; 0,5 ] **
20:3n6	1,19 [ 0,97 ; 1,34 ]	1,53 [ 1,27 ; 1,72 ] **
20:4n6	5,77 [ 5,39 ; 6,82 ]	6,93 [ 6,61 ; 7,22 ] **
20:5n3	0,7 [ 0,6 ; 0,8 ]	0,4 [ 0,3 ; 0,5 ] **
22:4n6	0,08 [ 0,07 ; 0,1 ]	0,16 [ 0,14 ; 0,2 ] **
22:5n6	0,05 [ 0,04 ; 0,06 ]	0,07 [ 0,05 ; 0,08 ] *
22:5n3	0,24 [ 0,23 ; 0,26 ]	0,21 [ 0,18 ; 0,24 ] *
22:6n3	2,09 [ 1,94 ; 2,29 ]	1,39 [ 1,18 ; 1,58 ] **

Примечание. \* - достоверность различий между показателями контрольной группы и группой пациентов с БА; \*p<0,05, \*\*p<0,01

Выявлены изменения (p<0,01) в относительном содержании отдельных представителей насыщенных жирных кислот в группе пациентов с БА в сравнении с контрольной группой (Суммарный показатель насыщенных ЖК увеличился на 7,11% в группе больных БА (p<0,01). Среди представителей мононенасыщенных жирных кислот достоверное снижение выявлено только для олеиновой (18:1n9) ЖК. Суммарный показатель моноеновых ЖК снизился на 17,8% (p<0,01). Среди n-6 ПНЖК модификация состава наблюдалась практически для всех представителей семейства. В группе пациентов с БА отмечено увеличение относительного содержания дигомо-γ-линоленовой ЖК (20:3n6) на 28,6% (p<0,01), арахидоновой (20:4n6) на 20% (p<0,01), аденовой (22:4n6) на 100% (p<0,01), докозапентаеновой (22:5n6) на 40% (p<0,05). На фоне увеличения большинства n-6 ПНЖК выявлено снижение в группе пациентов с

БА относительного содержания  $\gamma$ -линоленовой (18:3n6) на 42 % ( $p<0,01$ ). Модификация состава n-3 ПНЖК характеризовалась снижением доли основных жирных кислот этого семейства ( $p<0,01$ ). Так, относительное содержание  $\alpha$ -линоленовой (18:3n3) снизилось у больных на 43%; эйкозапентаеновой (20:5n3) – на 43%. Доля докозапентаеновой (22:5n3) уменьшилась в группе больных на 12,5% ( $p<0,05$ ), докозагексаеной (22:6n3) – на 33,5% ( $p<0,01$  относительно контроля).

Анализ суммарных показателей физиологически важных представителей ПНЖК показал уменьшение пула n-3 ПНЖК в плазме крови больных в сравнении с контрольной группой на 29,3% ( $p<0,01$ ). Среди n-6 ПНЖК наблюдалось увеличение пула в основном C20-22 ПНЖК у пациентов с БА на 16,5% ( $p<0,01$ ). Показатели соотношения между суммой n-6 и n-3 ПНЖК (Sum n6/n3 и Sum 20-22n6/20-22n3) у пациентов с БА увеличены ( $p<0,01$ ). Характерным изменением у больных БА является выявленный дисбаланс между арахидоновой (20:4n6) и эйкозапентаеновой (20:5n3) ЖК, являющимися прекурсорами образования про- и противовоспалительных медиаторов. Так, показатель 20:4n6/20:5n3 в группе больных увеличивался на 76% ( $p<0,01$ ) (Рис. 2).

Изменение физиологического баланса жирных кислот может зависеть от эффективности их эндогенной переработки путем процессов десатурации и элонгации, которые контролируются специфическими ферментами. В группе больных БА выявлено снижение в сравнении с контролем показателей, отражающих активность фермента  $\Delta 9$  десатуразы – 16:1n9/16:0 на 19% и 18:1n9/18:0 на 23% ( $p<0,01$  для обоих показателей).

Аналогичная ситуация выявлена и для соотношения 18:3n6/18:2n6, характеризующего активность  $\Delta 6$  десатуразы (снижение в группе больных на 43%,  $p<0,01$ ). Выявленное снижение показателей метаболических превращений ЖК указывает на угнетение активности ферментов  $\Delta 9$  и  $\Delta 6$  десатураз у пациентов с легкой БА (Рис. 3).

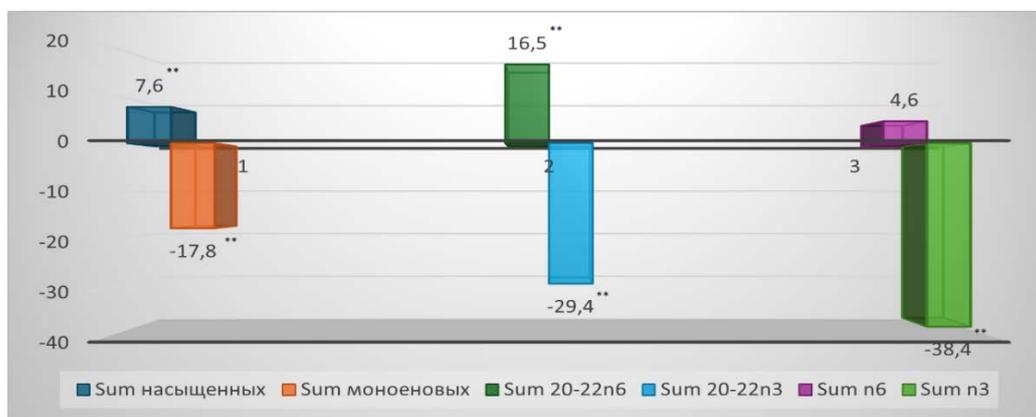


Рисунок 2 – Изменение суммарных показателей ЖК у больных легкой БА относительно контрольной группы (%). Значения контроля приняты за 0: \* ( $p<0,05$ ); \*\* ( $p<0,01$ ).

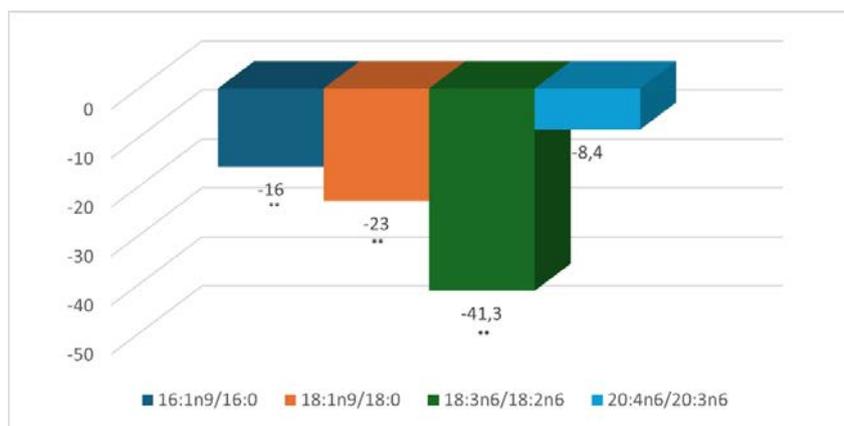


Рисунок – 3. Изменения показателей метаболических превращений жирных кислот больных БА легкой степени тяжести (%). Значения в группе контроля приняты за 0: \*\* (p<0,01).

Таким образом, модификация состава жирных кислот плазмы крови при БА характеризовалась накоплением отдельных представителей насыщенных ЖК, снижением моноеновой олеиновой ЖК, дефицитом полиненасыщенных жирных кислот семейства n-3, нарушением метаболических превращений ПНЖК и дисбалансом предшественников про- и противовоспалительных медиаторов.

### Содержание N-ацилэтаноламинов жирных кислот в плазме крови больных легкой бронхиальной астмой

В плазме крови здоровых лиц и пациентов с БА исследован уровень эндогенных N-ацилэтаноламинов. С использованием метода ВЭЖХ-МС обнаружены следующие этаноламины ЖК: N-пальмитоилэтаноламин (NAE 16:0), N-олеоилэтаноламин (NAE 18:1), N-арахидоноилэтаноламин (NAE 20:4n-6) и N-докозагексаноилэтаноламин (NAE 22:6n-3). Выявленные NAE включают в свою структуру насыщенные, мононенасыщенные, n-6 и n-3 полиненасыщенные ацильные группы, которые определяют их различия в выполняемых сигнальных функциях.

Наибольшее количество в плазме обнаружено NAE 16:0. Его эндогенный уровень в группе здоровых лиц составлял 7,04 pM/ml. В группе больных БА наблюдалось снижение NAE 16:0 на 47% (p<0,001) относительно группы здоровых лиц. Содержание NAE 18:1 в плазме крови было значительно ниже в сравнении с NAE 16:0, и отличалось между исследуемыми группами здоровых и больных на 9,2% (p<0,01). Уровни эндогенных этаноламинов полиненасыщенных ЖК – NAE 20:4n-6 и NAE 22:6n-3 в плазме крови были самыми низкими в обеих группах обследуемых. При этом NAE 20:4n-6 в группе больных БА были ниже на 41,6% (p<0,05), а NAE 22:6n-3 – на 37,5% (p<0,05) в сравнении с группой здоровых лиц. Выявлено и нарушение баланса эндогенных N-ацилэтаноламинов: показатель NAE18:1/NAE20:4n-6 увеличивался на 48% (p<0,001) и NAE18:1/NAE 16:0 на 52% (p<0,001) (Табл. 2).

Таблица 2 – Уровень N-ацилэтаноламинов в плазме здоровых лиц и больных легкой БА

Показатель, pM/ml	Контрольная группа	Группа больных БА
NAE 16:0	7,04 [6,65; 7,65]	3,73 [2,88; 4,08]**
NAE 18:1	1,2 [1,13;1,34]	1,09 [0,92;1,13]**
NAE 20:4n6	0,08 [0,06;0,09]	0,04 [0,02;0,07]**
NAE 22:6n3	0,16 [0,15;0,16]	0,1 [0,08;0,14]*
NAE 18:1/20:4n-6	16,76 [13,01;22,52]	24,93 [17,41;39,41]**
NAE18:1/NAE 16:0	0,17 [0,16;0,2]	0,27 [0,27;0,3]**

Примечание: \* (p<0,05); \*\* (p<0,001)

Полученные данные свидетельствуют о снижении содержания эндогенных этаноламинов в плазме крови у пациентов с бронхиальной астмой, вызванное нарушением их биосинтеза или метаболизма. При этом снижение имело различную интенсивность и приводило к смещению соотношения эндогенных этаноламинов при патологии.

### **Оценка вклада жирных кислот и эндогенных N-ацилэтаноламинов в формирование системного воспаления у больных легкой бронхиальной астмой**

Проведен системный анализ вклада ЖК и их производных в формирование воспалительной реакции при легкой БА. Определен показатель интегральной сопряженности (D), характеризующий интенсивность отклика цитокинового профиля на модификацию состава ЖК и эндогенных N-ацилэтаноламинов у больных БА (рис. 4).

*Взаимосвязь модификации профиля ЖК с компонентами иммунной системы.* Как показал анализ результатов при БА в наибольшей мере взаимодействие иммунных и липидных медиаторов фокусируется на провоспалительной передаче сигналов. Интегральный индекс D в наибольшей мере выражен для взаимосвязи с IL-17 (0,77 у.е.), что свидетельствует о патогенном потенциале жирнокислотного профиля. Стимуляция Th-17 типа иммунного ответа является предпосылкой к хронизации заболевания и усилению резистентности к получаемой терапии. О важности вклада ЖК в регуляцию иммунного ответа свидетельствует и величина индекса D для IL-10 (0,69 у.е.). Изменение выработки этого цитокина опосредует соотношение про- и противовоспалительных факторов, снижение в дальнейшем может привести к дизрегуляции и реполяризации T-хелперного типа клеточной реакции. Высокое значение индекса для INF- $\gamma$  (D=0,69 у.е.) может свидетельствовать о том, что при легкой форме БА Th1 тип иммунного ответа также стимулируется жирными кислотами. IL-4, усиление выработки которого в контексте бронхиальной астмы представляет собой неблагоприятный прогностический признак, также активно взаимодействует с составом ЖК (D=0,69 у.е.). Несколько меньшим уровнем D (0,62 у.е.) характеризуется важнейший провоспалительный цитокин IL-6. Он формирует множество негативных событий, таких как активация выработки воспалительных цитокинов, реполяризация T-хелперного иммунного ответа, гиперстимуляция врожденного и адаптивного звеньев иммунитета (Ma, S. et al, 2024). Из представленных цитокинов в наименьшей степени отклик наблюдается для цитокина адаптивного иммунного ответа – IL-2 (D=0,08 у.е.).

Оценка взаимодействия жирнокислотного профиля и комплекса сигнальных молекул иммунной системы показала, что наибольший отклик был достигнут для расчетных показателей, отражающих важные характеристики нарушений состава и метаболизма ЖК. Максимальный уровень D (0,86 у.е.) был зафиксирован для суммарного показателя 20-22 ПНЖК n-6 семейства (Sum20-22n-6), обуславливающего негативный эффект возрастания доли n-6 ПНЖК при БА. Анализ интегрального воздействия для показателей ЖК, характеризующих баланс про- и противовоспалительных процессов, демонстрирует превалирование вклада в формирование цитокинового профиля представителей семейства n-6. Так, для Sum20-22 n-3 и Sum n-3 D составляет 0,14 у.е., в то время как D для Sum n-6 достигает величины 0,71 у.е. Соотношение ПНЖК семейств n-6 и n-3 (Sum20-22n-6/Sum20-22n-3) также представлен достаточно высоким значением (D=0,72 у.е.). В значительной мере интенсивность воспалительного ответа поддерживает и высокий показатель насыщенных (Sum. насыщ. ЖК) (D=0,62 у.е.) и мононенасыщенных ЖК (Sum. Мононенасыщ. ЖК) (D=0,67 у.е.).

Один из самых значительных интегральных откликов получен для показателя 18:1n-9/18:0 (D=0,84 у.е.). Данный показатель отражает метаболические превращения насыщенной стеариновой кислоты в мононенасыщенную олеиновую кислоту, что характеризует

интенсивность образования ЖК с противовоспалительными свойствами. Как показывает анализ результатов у лиц с БА обсуждаемый индекс снижается относительно контрольной группы.

*Взаимосвязь эндогенных N-ацилэтанололаминов с компонентами иммунной системы.* Интегральный индекс взаимосвязей между цитокинами и NAE показал наибольший отклик иммунной системы на NAE 20:4n-6 (D=0,54 у.е.) и NAE 22:6n-3 (D=0,52 у.е.), данные N-ацилэтанололамины проявляют максимальную вовлеченность в цитокиновую регуляцию при легкой БА. При этом NAE 20:4n-6 имел максимальное влияние на IL-17A (D=0,67 у.е.), INF- $\gamma$  (D=0,52 у.е.), TNF- $\alpha$  (D=0,5 у.е.) и IL-2 (D=0,44 у.е.). Вовлеченность NAE 22:6n-3 в формирование иммунного ответа характеризовалась высокими показателями интегрального индекса взаимодействий с IL-17A (D=0,67 у.е.), IL-6 (D=0,61 у.е.), TNF- $\alpha$  (D=0,59 у.е.). Меньший отклик имели NAE 16:0 (D=0,48 у.е.) и NAE 18:1 (D=0,31 у.е.). NAE 16:0 оказывал наибольшее влияние на IL-6 (D=0,64 у.е.), TNF- $\alpha$  (D=0,53 у.е.) и IL-17A (D=0,51 у.е.). Низкие уровни эндогенных N-ацилэтанололаминов могут способствовать недостаточному сигналингу в поддержании физиологического баланса синтеза цитокинов, что вносит свой вклад в дезрегуляцию работы иммунной системы.

Таким образом, исследование доказывает наличие обширных перекрестных взаимодействий между NAE и компонентами иммунной системы у больных легкой БА. Пониженные значения эндогенных уровней NAE и изменение их соотношений может являться одним из триггерных механизмов нарушения иммунного гомеостаза, вызывая усиление влияния провоспалительного компонента при легкой БА. Выявленная наибольшая вовлеченность NAE 20:4n-6 и NAE 22:6n-3 в иммунный ответ явилась обоснованием использования экзогенных N-ацилэтанололаминов n-6 и n-3 ПНЖК для регуляции системного воспаления.

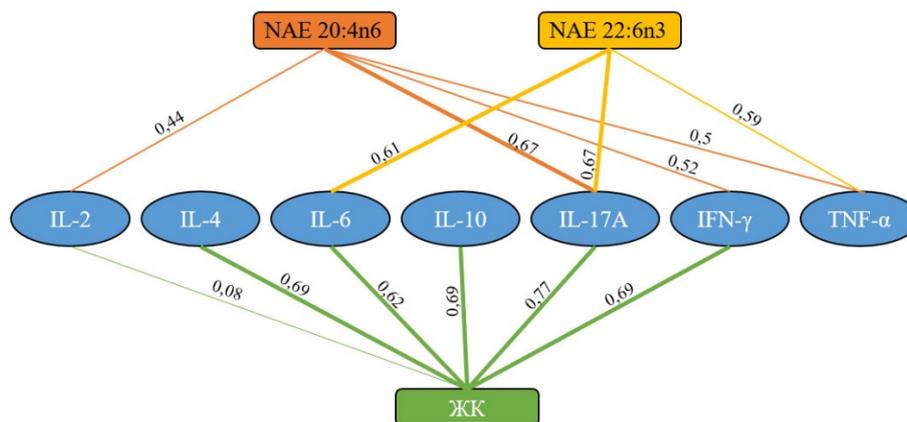


Рисунок – 4. Вклад жирных кислот и N-ацилэтанололаминов в формирование системного воспаления при БА легкой степени тяжести

#### **Влияние N-арахидоноилэтанололамина (анандамид) на синтез цитокинов и оксипинов клетками крови больных легкой БА**

В условиях *in vitro* исследовано влияние N-арахидоноилэтанололамина на продукцию цитокинов и оксипинов клетками крови пациентов с БА легкой степени тяжести (n=18) относительно контрольной группы (n=10). Анализ исходного уровня воспалительных медиаторов у пациентов с БА до воздействия NAE 20:4n-6 и до инкубации показал наличие системного хронического воспаления при легкой БА, о чем свидетельствовало двукратное повышение относительно контрольной группы цитокинов – TNF- $\alpha$ , IL-8; уровни лейкотриена В4 и тромбксана В2 увеличились на 34% и 22% соответственно (p<0,001 для всех параметров).

Инкубация клеток крови при 37°C в течение 6 часов без липополисахарида (LPS) не вызвала изменений спектра исследуемых медиаторов (результаты сравнивались с показателями до инкубации). Внесение N-ацилэтаноламина арахидоновой кислоты в дозах 1  $\mu\text{M}$  и 3  $\mu\text{M}$  не оказывало эффекта на выработку TNF- $\alpha$  и оксилипинов. В то же время под воздействием NAE 20:4n-6 в дозе 3  $\mu\text{M}$  отмечалось достоверное снижение синтеза клетками IL-8 ( $p < 0,05$ ). NAE 20:4n-6 в дозе 10  $\mu\text{M}$  значительно повлиял на провоспалительные медиаторы – снизился синтез TNF- $\alpha$  (в 2,1 раза,  $p < 0,001$ ), IL-8 (в 1,5 раз,  $p < 0,01$ ), LTB<sub>4</sub> (в 1,3 раза,  $p < 0,05$ ), TXB<sub>2</sub> (в 1,14 раз,  $p < 0,05$ ). Как видно из полученных данных, NAE 20:4n-6 в дозе 10  $\mu\text{M}$  и частично в концентрации 3  $\mu\text{M}$  проявил выраженный противовоспалительный эффект в нестимулированной липополисахаридом крови пациентов с БА (рис.5А).

Для стимуляции иммунного ответа в экспериментальные пробы вводили LPS в концентрации 10 мкг/мл и инкубировали при 37°C в течение 6 часов. Стимуляция липополисахаридом иммунных клеток крови больных БА приводила к значительному увеличению выработки цитокинов и оксилипинов, отвечающих за острую воспалительную реакцию. После нагрузочного теста с LPS и инкубации уровень TNF- $\alpha$  возрос в 3 раза ( $p < 0,001$ ), IL-8 – в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), LTB<sub>4</sub> и TXB<sub>2</sub> – в 2 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с идентичными параметрами до инкубации с LPS.

Исследование влияния *in vitro* NAE 20:4n-6 на образование провоспалительных медиаторов клетками стимулированной LPS крови пациентов с БА показало дозозависимый противовоспалительный эффект данного N-ацилэтаноламина. Так, в самой низкой концентрации 1  $\mu\text{M}$  NAE 20:4n-6 практически не оказывал влияние на выработку сигнальных молекул, при этом наблюдалась незначительная тенденция к снижению уровня лейкотриена В4. Воздействие NAE 20:4n-6 в концентрации 3  $\mu\text{M}$  способствовало достоверному снижению уровня исследуемых цитокинов (уровень TNF- $\alpha$  упал на 27%,  $p < 0,01$ ; IL-8 – на 17%,  $p < 0,05$ ), однако не повлияло на образование эйкозаноидов. NAE 20:4n-6 в дозе 10,0  $\mu\text{M}$  оказывал ингибирующий эффект на синтез клетками иммунной системы провоспалительных медиаторов. Под воздействием NAE 20:4n-6 в дозе 10,0  $\mu\text{M}$  концентрация TNF- $\alpha$  снижалась на 35% ( $p < 0,001$ ), IL-8 – на 23% ( $p < 0,01$ ), уровень LTB<sub>4</sub> упал на 45% ( $p < 0,001$ ). Уровень тромбоксана В<sub>2</sub> под действием 10,0  $\mu\text{M}$  N-ацилэтаноламина арахидоновой кислоты не изменился по сравнению с данным параметром при стимуляции крови LPS, но без добавления исследуемого этаноламина (Рис.5Б).

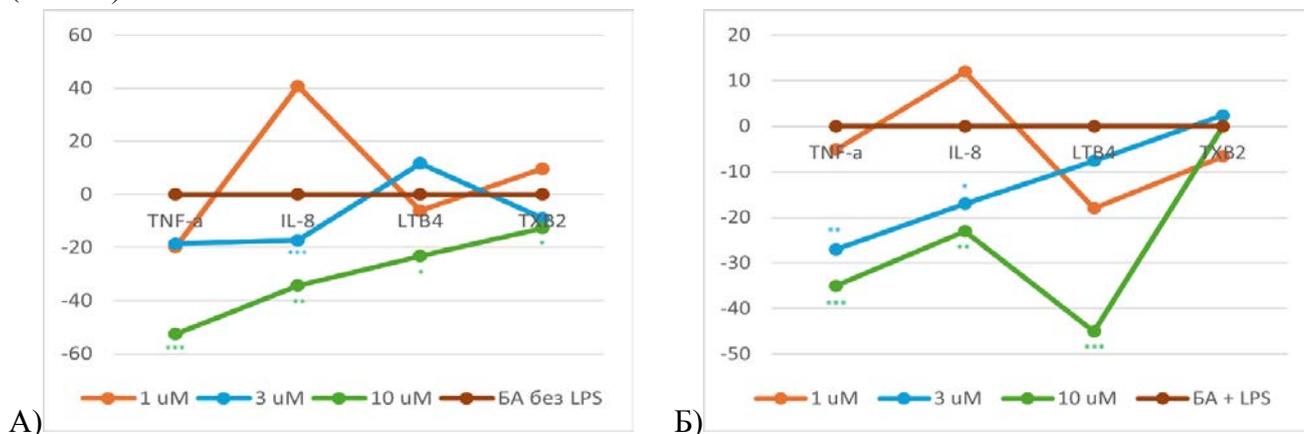


Рисунок – 5. Влияние NAE 20:4n-6 на цитокины и оксилипины плазмы крови больных БА: А) до стимуляции LPS (%), Б) после стимуляции LPS (%): \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

Полученные в ходе исследования результаты открывают новые перспективы в разработке таргетных способов коррекции иммунных процессов при БА. Однако необходимо учитывать, что анандамид является лигандом каннабиноидных рецепторов CB2, что может обуславливать наличие побочных эффектов. В связи с этим необходим поиск альтернативных N-ацилэтаноламидов с аналогичными противовоспалительными свойствами, но не обладающих сродством к каннабиноидным рецепторам.

### **Влияние N-эйкозапентаеноилэтаноламина на синтез воспалительных медиаторов клетками крови больных легкой БА**

В исследование *in vitro* включено 16 больных легкой БА, 15 здоровых лиц составили контрольную группу. Исходно у больных выявлены повышенные уровни в крови провоспалительных цитокинов IL-17 $\alpha$  ( $p < 0,001$ ), IL-2 ( $p < 0,05$ ), IL-6 ( $p < 0,001$ ) и пониженные – противовоспалительных INF $\gamma$  ( $p < 0,01$ ), IL-10 ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует о наличии хронического воспалительного процесса у больных БА.

*Влияние NAE 20:5n-3 на синтез цитокинов.* После стимуляции клеток крови LPS воздействие различных доз NAE 20:5n-3 показало следующие результаты (Рис. 6). При внесении в экспериментальную пробу дозы 1  $\mu$ M NAE 20:5n-3 статистически значимых изменений не было выявлено. Наблюдалась тенденция к снижению уровней IL-17A, IL-6, IL-2 и повышению значений TNF $\alpha$  и IL-4. Использование NAE 20:5n-3 в дозе 5  $\mu$ M способствовало снижению IL-6 на 19% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с показателями в LPS – стимулированной крови. Выявлена тенденция к снижению количества IL-17A и TNF $\alpha$ . Под действием NAE 20:5n-3 в дозе 10  $\mu$ M выявлялось наибольшее количество статистически значимых изменений в уровнях цитокинов. Наблюдалось снижение IL-17A на 15% ( $p < 0,05$ ), IL-2 на 14% ( $p < 0,05$ ), IL-6 на 50% ( $p < 0,01$ ), TNF $\alpha$  на 10% ( $p < 0,05$ ) относительно значений до воздействия NAE 20:5n-3. В данной дозе наблюдалась также тенденция к снижению IL-4. Таким образом, в эксперименте *in vitro* на LPS-индуцированных клетках периферической крови больных БА выявлен противовоспалительный дозозависимый эффект NAE 20:5n-3, наиболее проявляющийся в максимальной дозе 10  $\mu$ M. Данный NAE способен ингибировать синтез провоспалительных цитокинов при легкой БА.

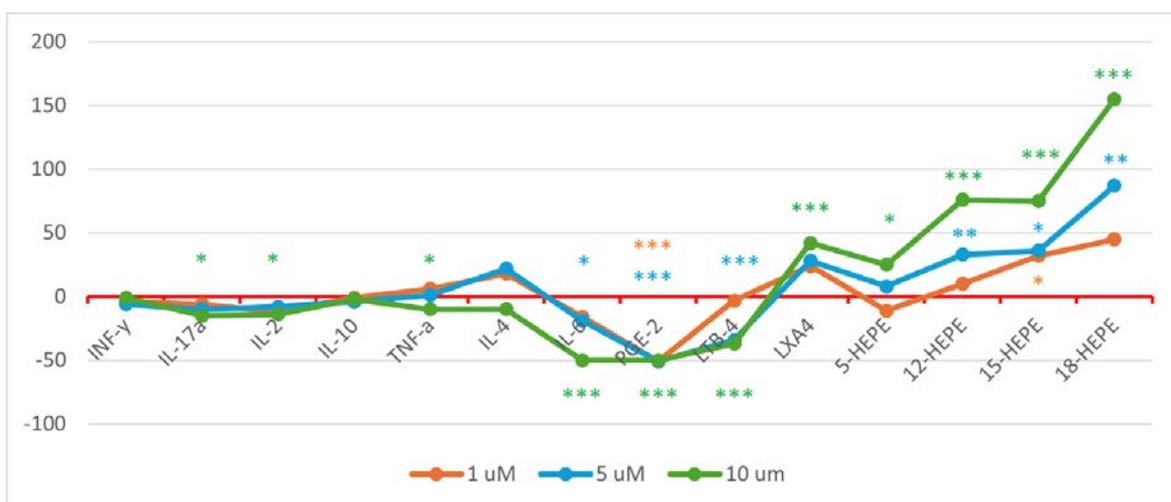


Рисунок – 6. Влияние NAE 20:5n-3 на синтез воспалительных медиаторов клетками крови больных БА (%): \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

*Влияние NAE 20:5n-3 на синтез оксипиринов.* Воздействие экзогенных NAE 20:5n-3 в дозе 1  $\mu$ M вызвало снижение в LPS-индуцированной крови больных уровня PGE2 на 51%

( $p < 0,001$ ) и увеличение синтеза 15-НЕРЕ на 32 % ( $p < 0,05$ ). NAE 20:5n-3 в дозе 5  $\mu\text{M}$  способствовали снижению PGE2 на 51% ( $p < 0,001$ ), LTB4 на 34% ( $p < 0,001$ ) на фоне увеличения уровней 12-НЕРЕ на 33% ( $p < 0,01$ ), 15-НЕРЕ на 36% ( $p < 0,05$ ) и 18-НЕРЕ на 87% ( $p < 0,01$ ). Под действием NAE 20:5n-3 в дозе 10  $\mu\text{M}$  данная закономерность сохранялась, статистически значимое влияние выявлено на весь спектр исследуемых оксипинов. Наблюдалось снижение синтеза провоспалительных LTB4 на 37% ( $p < 0,001$ ), PGE2 на 50% ( $p < 0,001$ ); увеличение противовоспалительных LXA4 на 42% ( $p < 0,001$ ); 5-НЕРЕ на 25% ( $p < 0,05$ ); 12-НЕРЕ на 76% ( $p < 0,001$ ); 15-НЕРЕ на 75% ( $p < 0,001$ ); 18-НЕРЕ на 155% ( $p < 0,001$ ) относительно значений до воздействия N- ацилэтаноламина (Рис.6).

Проведенные экспериментальные исследования свидетельствуют о дозозависимых противовоспалительных свойствах этаноламина эйкозапентаеновой кислоты и характеризуют потенциал NAE 20:5n-3 как регулятора воспалительного ответа при легкой БА. Уже в самых низких концентрациях (1  $\mu\text{M}$ ) NAE 20:5n-3 ингибирует образование провоспалительных медиаторов в стимулированной LPS крови. Максимальный противовоспалительный эффект этаноламина эйкозапентаеновой кислоты достигается в дозе 10  $\mu\text{M}$ . При этом NAE 20:5n-3 способен регулировать не только синтез противовоспалительных цитокинов, но и баланс эйкозаноидов, которые влияют на функции иммунной системы и разрешение воспаления. Таким образом, в условиях *in vitro* влияние NAE 20:5n-3 в концентрации 5 и 10  $\mu\text{M}$  дозозависимо снижает образование провоспалительных цитокинов (IL-17a, IL-6) клетками крови больных БА. Изменение оксипинового статуса под воздействием этаноламина эйкозапентаеновой кислоты характеризуется снижением содержания PGE2, LTB4 при концентрациях от 1 до 10  $\mu\text{M}$ . Синтез проразрешающих липидных медиаторов (12-НЕРЕ, 15-НЕРЕ, 18-НЕРЕ) увеличивается при воздействии NAE 20:5n-3 в концентрациях 5 и 10  $\mu\text{M}$ . Полученные результаты позволяют разработать новые стратегии лечения для пациентов с БА, которые плохо реагируют на традиционную терапию.

#### **Влияние N-докозагексаеноилэтаноламина (синаптамид)**

##### **на синтез оксипинов и цитокинов клетками крови больных легкой БА**

В условиях *in vitro* исследовано влияние синаптамида (NAE 22:6n-3) на синтез цитокинов и оксипинов клетками крови 15 больных легкой БА. Контрольную группу составили 12 здоровых лиц. Исходно в группе больных выявлено повышение относительно контрольной группы уровней провоспалительных медиаторов IL-17a ( $p < 0,001$ ), IL-2 ( $p < 0,05$ ), IL-6 ( $p < 0,001$ ), LTB4 ( $p < 0,01$ ), снижение содержания противовоспалительных INF $\gamma$  ( $p < 0,01$ ), IL-10 ( $p < 0,001$ ), LXA4 ( $p < 0,01$ ), 5-НЕРЕ ( $p < 0,01$ ), 12-НЕРЕ ( $p < 0,05$ ), 15-НЕРЕ ( $p < 0,001$ ), 18-НЕРЕ ( $p < 0,001$ ) медиаторов, что свидетельствует о наличии системного воспаления у больных БА.

*Влияние NAE 22:6n-3 на синтез цитокинов.* При воздействии NAE 22:6n-3 в различных дозах (1, 5 и 10  $\mu\text{M}$ ) на стимулированную липополисахаридом кровь изменения в синтезе цитокинов отмечены только для максимальной дозы (10  $\mu\text{M}$ ) экспериментального вещества. Наблюдалось снижение уровня IL-6 на 22,6% ( $p < 0,01$ ) относительно значений в LPS-стимулированной крови (Рис. 7).

*Влияние NAE 22:6n-3 на синтез оксипинов.* Действие NAE 22:6n-3 на клетки крови больных после иммунной активации LPS способствовало изменению уровня липидных медиаторов в экспериментальных образцах. Воздействие синаптамида в концентрации 1  $\mu\text{M}$  вызвало снижение уровня провоспалительного PGE2 на 28,2% ( $p < 0,001$ ) у больных БА относительно значений до воздействия экспериментального вещества. При этом уровень 15-НЕРЕ повысился на 145% ( $p < 0,001$ ). Внесение NAE 22:6n-3 в концентрации 5  $\mu\text{M}$  способствовало снижению количества PGE2 на 41,2% ( $p < 0,001$ ) и увеличению количества 15-НЕРЕ на 158% ( $p < 0,001$ ), 18-НЕРЕ на 30,4% ( $p < 0,001$ ). В максимальной концентрации 10  $\mu\text{M}$

NAE 22:6n-3 привел к уменьшению уровней обоих провоспалительных оксипинов – ЛТВ4 на 14,6% ( $p < 0,001$ ), PGE2 на 50,2% ( $p < 0,001$ ); при этом наблюдалось увеличение образования LXA4 на 19% ( $p < 0,001$ ), 5-HEPE на 32,3% ( $p < 0,01$ ), 12-HEPE на 24,8% ( $p < 0,01$ ), 15-HEPE на 163,7% ( $p < 0,001$ ) и 18-HEPE на 50,6% ( $p < 0,001$ ) относительно значений до воздействия NAE 22:6 (Рис.7).

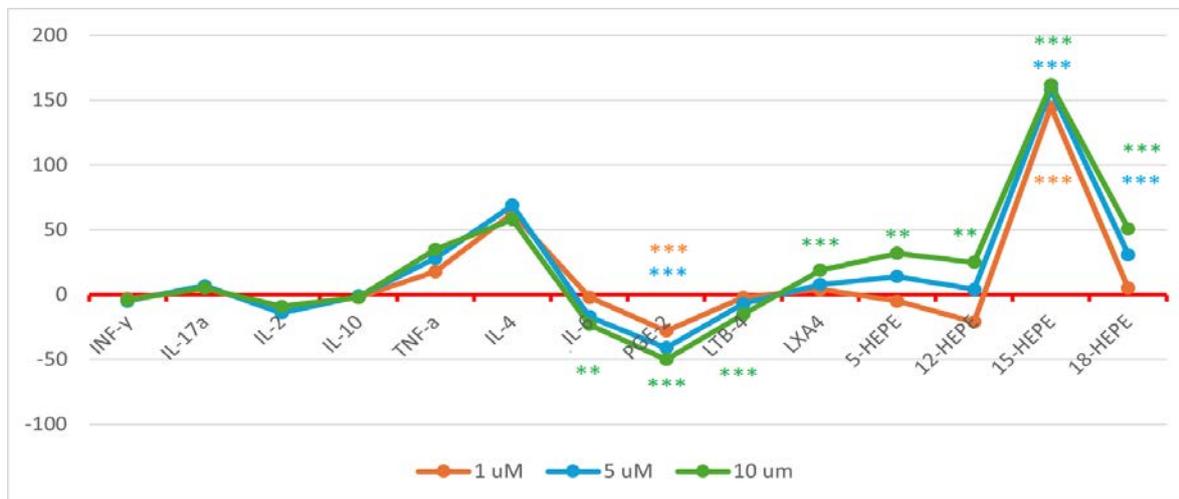


Рисунок – 7. Влияние NAE 22:6n-3 на синтез воспалительных медиаторов клетками крови больных

БА (%): \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

Как показали проведенные исследования, воздействие NAE 22:6n-3 в условиях *in vitro* способствует ингибированию синтеза провоспалительных (PGE2, ЛТВ4, IL-6) и активации противовоспалительных медиаторов (LXA4, 5-HEPE, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE) в культуре клеток стимулированных LPS. При этом этаноламин докозагексаеновой кислоты показал дозозависимый противовоспалительный эффект, проявляющийся в основном влиянием на синтез липидных медиаторов, нежели на регуляцию цитокинового статуса. Снижение производства ЛТВ4, PGE2 под воздействием синаптамида на фоне усиления синтеза 5-, 12-, 15-, 18-HEPE – предшественников образования проразрешающих медиаторов, имеет важное значение в подавлении воспалительного процесса. Полученные данные свидетельствуют о дозозависимом противовоспалительном эффекте NAE 22:6n-3, способном корректировать баланс провоспалительных и противовоспалительных эйкозаноидов, что может быть использовано в фармакологической практике для таргетной терапии бронхиальной астмы, повышения контроля над заболеванием.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что характер системной воспалительной реакции у больных легкой БА связан с процессом переключения синтеза провоспалительных липидных медиаторов на образование провоспалительных и проразрешающих метаболитов. Нарушение состава и метаболизма жирных кислот и изменение профиля липидных медиаторов может сопровождаться разбалансировкой регуляторных механизмов воспалительного процесса и способствовать его хронизации. В исследовании установлено, что экзогенные N-ацилэтаноламины n-6 и n-3 ПНЖК в условиях *in vitro* способствуют регуляции системной воспалительной реакции при БА легкой степени тяжести путем активации синтеза противовоспалительных и угнетением провоспалительных медиаторов.

Противовоспалительный эффект N – арахиноилэтаноламина (анандамид) реализуется посредством подавления синтеза клетками крови провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-8 и оксипинов LTB4 и TXB2, зависит от дозы воздействия экспериментального вещества и выраженности воспалительной реакции. Эффект воздействия анандамида выявлен в дозах 3–10  $\mu$ M. Анандамид проявляет низкую способность угнетать образование TXB2 в условиях острого воспаления в стимулированной липополисахаридом крови, но эффективен в регуляции хронического воспаления (Рис.8).

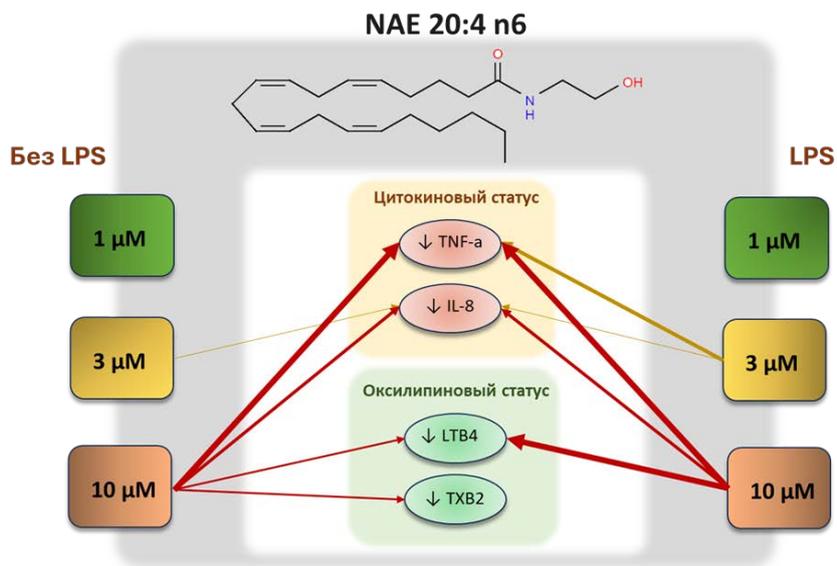


Рисунок –8. Дозозависимое влияние анандамида на синтез воспалительных медиаторов в условиях *in vitro* у больных легкой бронхиальной астмой

NAE 20:5n-3 дозозависимо снижают производство провоспалительных цитокинов (IL-17a, IL-6) и оксипинов (PGE2, LTB4), увеличивая уровень противовоспалительных и проразрешающих липидных медиаторов (LXA4, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE). Особенности эффектов NAE 22:6n-3 проявляются воздействием на цитокиновый статус только наивысшей дозы 10  $\mu$ M и дозозависимым влиянием на уровень проразрешающих липидных медиаторов (Рис. 9). Полученные результаты демонстрируют регуляторную роль N-ацилэтаноламинов n-3 жирных кислот в механизмах воспаления при легкой бронхиальной астме, что может быть положено в основу разработки стратегии повышения контроля над заболеванием.

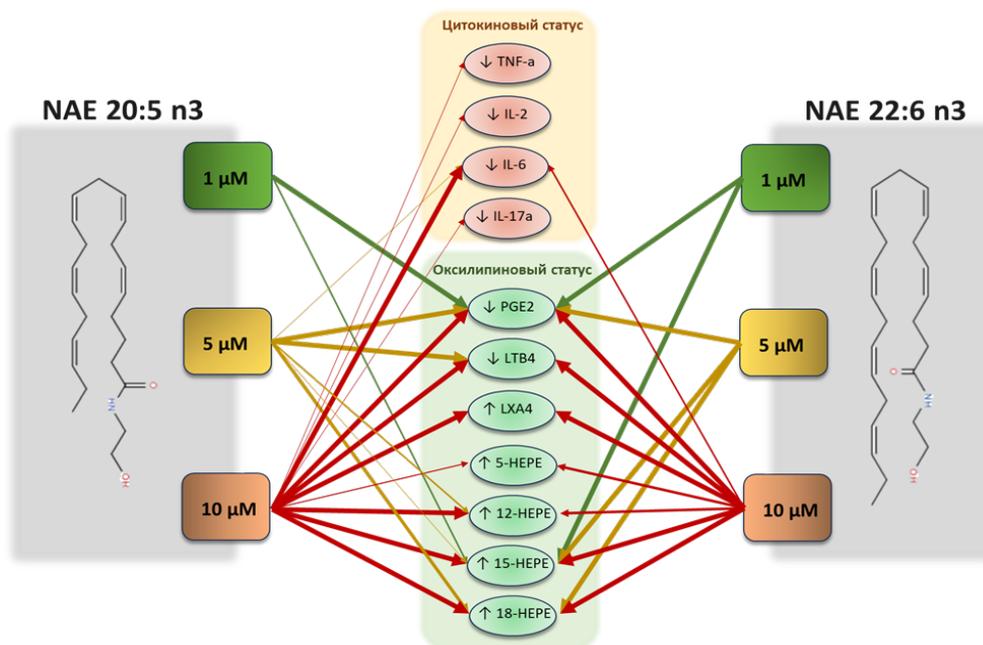


Рисунок – 9. Дозозависимое влияние N-ацилэтанололаминов n-3 ПНЖК на синтез воспалительных медиаторов в условиях *in vitro* у больных легкой бронхиальной астмой

## ВЫВОДЫ

- У больных легкой бронхиальной астмой системная воспалительная реакция характеризуется перераспределением цитокинового профиля в сторону активации воспалительных процессов. Наблюдается увеличение уровней интерлейкинов: 17А – на 117% ( $p < 0,001$ ), 6 – на 93% ( $p < 0,001$ ), 2 – на 20% ( $p < 0,05$ ), туморнекротизирующего фактора- $\alpha$  на 23% ( $p < 0,05$ ) на фоне снижения интерферона- $\gamma$  на 26% ( $p < 0,01$ ) и интерлейкина-10 на 27% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой здоровых лиц.
- Системное воспаление у больных БА легкой степени тяжести сопровождается истощением пула противовоспалительных на фоне усиления синтеза провоспалительных липидных медиаторов. Наблюдается снижение всех представителей группы НЕРЕ: 5- на 30% ( $p < 0,01$ ), 12- на 35% ( $p < 0,05$ ), 15- на 63% ( $p < 0,001$ ) и 18- на 42% ( $p < 0,001$ ); увеличение уровня ЛТВ4 на 28% ( $p < 0,01$ ). Истощение пула противовоспалительных на фоне усиления синтеза провоспалительных липидных медиаторов указывает на хронизацию воспалительного процесса.
- Системное воспаление у больных легкой БА ассоциируется с нарушением состава и метаболизма жирных кислот. Модификация состава ЖК в группе больных характеризуется увеличением в плазме крови суммарного содержания насыщенных ЖК на 7,11% ( $p < 0,01$ ), снижением доли мононенасыщенных ЖК на 17,8% ( $p < 0,01$ ), уменьшением количества n-3 ПНЖК на 29,3% ( $p < 0,01$ ) на фоне увеличения пула С20-22 n-6 ПНЖК на 16,5% ( $p < 0,01$ ). Соотношение суммы n-6/n-3 ПНЖК у пациентов с БА увеличены на 55% ( $p < 0,01$ ), выявлено снижение показателей метаболических превращений ЖК, характеризующих активность ферментов десатураз –  $\Delta 9$  десатуразы (16:1n9/16:0 на 19% и 18:1n9/18:0 на 23%,  $p < 0,01$  для обоих показателей) и  $\Delta 6$  десатуразы (18:3n6/18:2n6 на 43%,  $p < 0,01$ ).

4. Нарушение состава и метаболических превращений ЖК сопровождается снижением у больных БА легкой степени тяжести синтеза эндогенных этаноламинов: N-пальмитоилэтанолamina на 47% ( $p < 0,001$ ), N-олеоилэтанолamina на 9,2% ( $p < 0,01$ ), N-арахидоноилэтанолamina на 41,6 ( $p < 0,05$ ) и N-докозагексаеноилэтанолamina на 37,5% ( $p < 0,05$ ). Установлено нарушение баланса эндогенных N-ацилэтаноламинов: показатель NAE18:1/NAE20:4n-6 увеличивается на 48% ( $p < 0,001$ ) и NAE18:1/NAE16:0 на 52% ( $p < 0,001$ ).

5. Установлен вклад ЖК и эндогенных N-ацилэтаноламинов в формирование системного воспаления при легкой БА:

– Наибольший вклад ЖК в формирование иммунного ответа отражают суммарные показатели – Sum C20-22 n-6ЖК ( $D=0,86$  у.е.), Sum C20-22n-6/Sum C20-22n-3, ( $D=0,72$  у.е.) и показатель активности  $\Delta 9$  десатуразы 18:1n9/18:0 ( $D=0,84$ .у.е), характеризующие интенсивность образования ЖК с провоспалительными свойствами. Наиболее выражена сопряженность ЖК с IL-17A ( $D=0,77$  у.е.), IL-10 ( $D=0,69$  у.е.), IL-4 ( $D=0,69$  у.е.), IL-6 ( $D=0,62$  у.е).

– Среди эндогенных N-ацилэтаноламинов максимальную вовлеченность в цитокиновую регуляцию при легкой БА имеют анандамид ( $D=0,54$  у.е.) и синаптамид ( $D=0,52$  у.е.), при этом анандамид имеет максимальную взаимосвязь с IL-17A ( $D=0,67$  у.е.), INF- $\gamma$  ( $D=0,52$  у.е.), TNF- $\alpha$  ( $D=0,5$  у.е.) и IL-2 ( $D=0,44$  у.е.); синаптамид – с IL-17A ( $D=0,67$  у.е.), IL-6 ( $D=0,61$  у.е.), TNF- $\alpha$  ( $D=0,59$  у.е.). Пониженные значения эндогенного содержания NAE и их вклад в системную воспалительную реакцию вызывает усиление влияния провоспалительного компонента при легкой БА и является обоснованием использования экзогенных N-ацилэтаноламинов n-6 и n-3 ПНЖК в регуляции системного воспаления.

6. Установлена в эксперименте *in vitro* способность экзогенных N-ацилэтаноламинов n-6 и n-3 ПНЖК регулировать синтез клетками крови больных БА воспалительных медиаторов:

– Анандамид (NAE 20:4 n-6) подавляет синтез провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-8 и оксипинов LTB4, TXB2 в дозах 3–10 $\mu$ M, при этом проявляет низкую способность угнетать образование TXB2 в индуцированной LPS крови (модель острого воспаления).

– Регуляторная роль NAE 20:5n-3 заключается в дозозависимом снижении синтеза провоспалительных интерлейкинов -17a, -6, простагландина PGE2, лейкотриена B4; увеличении уровней противовоспалительных липидных медиаторов LXA4, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE. Эффект наблюдается в дозах 1, 3 и 10  $\mu$ M.

– Противовоспалительный эффект синаптамида (NAE 22:6n-3) реализуется в основном регуляцией синтеза липидных медиаторов – снижением производства LTB4, PGE2 на фоне усиления образования 5-, 12-, 15-, 18-HEPE. Эффект синаптамида на цитокиновый статус проявляется при воздействии только наивысшей дозы 10  $\mu$ M – снижением уровня IL-6 на 22,6% ( $p < 0,01$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные знания о регуляторной роли N-ацилэтанололаминов n-3 ПНЖК в механизмах воспаления могут быть использованы в фармакологической практике для разработки фармпрепаратов, направленных на купирование воспалительных процессов при легкой БА, повышения контроля над заболеванием.

Для практического здравоохранения рекомендуется проводить оценку системной воспалительной реакции у больных легкой БА; при назначении лечения перспективно ориентироваться на базы данных, прошедшие государственную регистрацию, отражающие особенности системной воспалительной реакции у больных легкой БА и возможности экзогенных NAE купировать воспалительный процесс.

Для практического здравоохранения разработано информационно-аналитическое пособие для врачей «Липидные медиаторы и их роль в формировании системного воспаления при легкой бронхиальной астме», описывающее возможности использования воспалительных медиаторов в прогнозной оценке контроля БА.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Публикации в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, в том числе в журналах «Белого списка» Минобрнауки РФ

1. Кытикова О.Ю., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Бочарова Н.В., Коваленко, И.С. Эпоксиды полиненасыщенных жирных кислот в регуляции воспаления // Биомедицинская химия. – 2022. – Т. 68, № 3. – С.177-189.
2. Коваленко И.С., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Бочарова Н.В., Оматова У.М. Перспективы фармакологического применения N-ацилэтанололаминов полиненасыщенных жирных кислот в терапии заболеваний органов дыхания на примере бронхиальной астмы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2022. – Вып. 86. – С.129-137.
3. Денисенко Ю.К., Бочарова Н.В., Коваленко И.С., Новгородцева Т.П. Влияние N-ацилэтанололамина арахидоновой кислоты на синтез цитокинов и оксилипинов лейкоцитами крови пациентов с бронхиальной астмой в условиях *in vitro* // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2022. – Вып. 83. – С. 15-21.
4. Kytikova O.Yu., Denisenko Yu.K., Novgorodtseva T.P., Kovalenko I.S. Cannabinoids and cannabinoid-like compounds: biochemical characterization and pharmacological perspectives // Russian Open Medical Journal. – 2023. – Vol. 12, № 1. – e0107.
5. Kytikova O.Yu., Denisenko Yu.K., Novgorodtseva T.P., Kovalenko I.S., Antonyuk M.V. Polyunsaturated fatty acids and lipid mediators controlling chronic inflammation in asthma // Russian Open Medical Journal. – 2023. – Vol. 12, № 2. – e0201.
6. Коваленко И.С., Бочарова Н.В., Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К. Дозозависимый эффект этаноламина эйкозапентаеновой кислоты на синтез оксилипинов клетками крови пациентов с бронхиальной астмой в условиях *in vitro* // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2023. – Вып. 89. – С. 18-24.
7. Кытикова О.Ю., Коваленко И.С., Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К. Роль гидроксикокозатетраеновых кислот в регуляции воспаления при бронхиальной астме // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2023. – Вып. 90. – С. 147-159.
8. Коваленко И.С., Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Бочарова Н.В., Касьянов С.П., Султанов Р.М. Влияние N-эйкозапентаеноилэтанололамина на регуляцию синтеза цитокинов клетками

крови больных бронхиальной астмой в условиях *in vitro* // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2024. – Вып. 91. – С. 59–67.

9. Kytikova O.Yu., Kovalenko I.S., Novgorodtseva T.P., Denisenko Yu.K. The Role of Hydroxyeicosatetraenoic Acids in the Regulation of Inflammation in Bronchial Asthma // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. – 2024 (опубл. 16.09.2024). – P. 1-9.
10. Виткина Т.И., Коваленко И.С., Бочарова Н.В., Новгородцева Т.П., Ермоленко Е.В. Особенности взаимодействия селективных липидных метаболитов и сигнальных молекул иммунной системы у больных с бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2024. – Вып. 94. – С. 104-110.

#### **Статьи в иных научных журналах, книгах, сборниках**

11. Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Бочарова Н.В., Коваленко И.С., Юренко А.В., Скупченко М.Е. Сравнительный анализ состава полиненасыщенных жирных кислот плазмы крови пациентов с бронхиальной астмой легкой и средней степени тяжести // *Материалы IX Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока. Благовещенск, 2023.* – С. 86-89.
12. Коваленко И.С., Денисенко Ю.К. Влияние N-ацилэтанолamina эйкозапентаеновой кислоты на синтез интерлейкина-6 лейкоцитами больных бронхиальной астмой в эксперименте *in vitro* [Электронный ресурс] // *Материалы XXVI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье».* 2023. – С. 528.
13. Бочарова Н.В., Коваленко И.С. Влияние *in vitro* экзогенного N-ацилэтанолamina докозагексаеновой кислоты на липидные медиаторы крови пациентов с бронхиальной астмой // *Материалы X Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока. Благовещенск, 2023.* – С. 81-85.
14. Коваленко И.С. Влияние N-эйкозапентаеноилэтанолamina на цитокиновый статус больных бронхиальной астмой // *Материалы XXX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины–2024».* Санкт Петербург, 2024. – С. 44-45.
15. Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Бочарова Н.В., Коваленко И.С. Системный анализ вклада жирных кислот в воспалительный процесс при бронхиальной астме // *Материалы XVIII международной научной конференции «Системный анализ в медицине».* Благовещенск: ДНЦ ФПД, 2024. – С. 39 - 43.

#### **Свидетельства о государственной регистрации патентных продуктов**

16. Свидетельство о гос. регистрации No 2022621565 Содержание воспалительных медиаторов в крови пациентов с бронхиальной астмой под воздействием этаноламида эйкозапентаеновой кислоты в эксперименте *in vitro* / Денисенко Ю.К., Бочарова Н.В., Новгородцева Т.П., Коваленко И.С., Оматова У.М., Ходосова К.К. Зарегистр. 01.07.2022.
17. Свидетельство о гос. регистрации No 2023621997. Модификация состава жирных кислот плазмы крови под воздействием *in vitro* этаноламида эйкозапентаеновой кислоты у пациентов с бронхиальной астмой и здоровых лиц / Бочарова Н.В., Соболевская М.П., Коваленко И.С., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П. Зарегистр. 19.06.2023.
18. Свидетельство о гос. регистрации No 2023622935 Модификация состава жирных кислот плазмы крови под воздействием *in vitro* этаноламида докозагексаеновой кислоты у пациентов с бронхиальной астмой и здоровых лиц / Бочарова Н.В., Соболевская М.П., Коваленко И.С., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Ходосова К.К. Зарегистр. 24 августа 2023 г.

**Информационно-методические пособия**

19. Липидные медиаторы и их роль в формировании системного воспаления при бронхиальной астме легкой степени тяжести / Новгородцева Т.П., Коваленко И.С., Кондратьева Е.В., Виткина Т.И., Бочарова Н.В., Кытикова О.Ю. Пособие для врачей – Владивосток, 2024. 37 стр.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

БА – бронхиальная астма  
ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматомасс-спектрометрия  
ЖК – жирные кислоты  
ИФА – иммуноферментный анализ  
МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот  
ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты  
ТСХ – тонкослойная хроматография  
ФВД – функция внешнего дыхания  
СВ – каннабиноидные рецепторы  
GPCR – рецепторы сопряженные с G-белком  
НЕРЕ – гидроксизэйкозопентаеновая кислота  
IFN – интерфероны  
IL – интерлейкины  
LPS – липополисахарид  
LT – лейкотриен  
LX – липоксин  
NAE – N-ацилэтанолламины  
PG – простагландин  
PPAR – рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом  
TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа  
TRP – ионные каналы с транзиторным рецепторным потенциалом  
TRPV1 – ванилоидный рецептор типа 1  
TX – тромбоксан