

ВЛАДИВОСТОКСКИЙ ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
«ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ФИЗИОЛОГИИ  
И ПАТОЛОГИИ ДЫХАНИЯ» – НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
МЕДИЦИНСКОЙ КЛИМАТОЛОГИИ И ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ

На правах рукописи

**Коваленко Иван Сергеевич**

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

Специальность 3.3.3. – Патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный консультант

доктор биологических наук, профессор

Новгородцева Татьяна Павловна

**Благовещенск, 2025**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ОГЛАВЛЕНИЕ</b>	2
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	4
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	15
<b>1.1.</b>	
Бронхиальная астма: патогенетические аспекты	15
<b>1.1.1.</b> Воспаление как патогенетический механизм бронхиальной астмы	17
<b>1.1.2.</b> Значение жирных кислот и их производных в механизмах развития воспалительной реакции при бронхиальной астме	21
<b>1.2.</b> Химическая структура, биосинтез и распространенность N-ацилэтаноламинов жирных кислот в природе	31
<b>1.3.</b> Биологические и фармакологические эффекты N-ацилэтаноламинов жирных кислот	39
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	46
<b>2.1.</b> Общая структура исследования	46
<b>2.2.</b> Материал исследования	47
<b>2.3.</b> Клинические и функциональные методы исследования	48
<b>2.4.</b> Биохимические и иммунологические методы исследования	48
<b>2.5.</b> Экспериментальные исследования <i>in vitro</i>	50
<b>2.6.</b> Клиническая характеристика обследованного контингента	51
<b>2.7.</b> Методы статистического анализа	56
<b>ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ</b>	58
<b>3.1.</b> Цитокиновый и оксилипиновый статус у больных легкой бронхиальной астмой	58
<b>3.2.</b> Особенности метаболизма жирных кислот у больных легкой бронхиальной астмой	62
<b>3.2.1.</b> Состав жирных кислот плазмы крови и активность их метаболических превращений у больных легкой БА	62

3.2.2.	Содержание N-ацилэтаноламинов жирных кислот в плазме крови больных легкой БА	67
3.3.	Оценка вклада жирных кислот и эндогенных N-ацилэтаноламинов в формирование системного воспаления у больных легкой бронхиальной астмой	70
<b>ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ НА СИНТЕЗ ИММУННЫХ МЕДИАТОРОВ ПРИ ЛЕГКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i></b>		75
4.1.	Влияние N-арахидоноилэтаноламина (анандамид) на синтез цитокинов и оксипинонов клетками крови больных легкой БА	75
4.2.	Влияние N-эйкозапентаеноилэтаноламина на синтез воспалительных медиаторов клетками крови больных легкой БА	79
4.3.	Влияние N-докозагексаеноилэтаноламина (синаптамид) на синтез оксипинонов и цитокинов клетками крови больных легкой БА	86
<b>ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ</b>		91
<b>ВЫВОДЫ</b>		108
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>		111
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>		112
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>		114

## ВВЕДЕНИЕ

### **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 [80].

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 [168].

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 оксилипины), 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 [209]. 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 [188].

Важными сигнальными молекулами в патогенезе бронхиальной астмы являются этаноламины жирных кислот (ЖК), или N-ацилэтанолламины (NAE) – липидные соединения, принадлежащие к группе каннабиноидов. N-ацилэтанолламины 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-ацилэтанолламинов 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-ацилэтаноламины, которые включены во многие физиологические процессы организма. Биосинтез и физиологическая роль этих молекул уже достаточно хорошо исследованы, а пути их биосинтеза подтверждены экспериментально [118, 134, 219]. N-ацилэтаноламины 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 транзиторным рецепторным потенциалом (TRPs) [54, 65, 140, 157]. Наиболее подробно изученными представителями класса NAE являются этаноламины, 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-ацилэтаноломинов демонстрируют значительное разнообразие в эффектах, которые они оказывают на организм. Так, этаноламины насыщенных и моноеновых ЖК, такие как NAE 16:0 и NAE 18:1, не обладают каннабиноидной активностью и классифицируются как неканнабиноидные N-ацилэтаноломины [196]. 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) [53, 131]. 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-ацилэтаноломинов, 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-ацилэтаноломинов 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) 17а, -2, -10, -4, -6, фактора некроза опухоли (TNF) альфа и эйкозаноидов – тромбоксана (Tx) B2, простагландина (PG) E2 - PGE2, лейкотриена (LT) B4 - LTB4, липоксина (LX) A4 - LXA4, 5-гидроксиэйкозопентаеновой кислоты (HEPE), 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE.

2. Изучить состав жирных кислот и их производных – N ацилэтанололаминов в плазме крови больных БА легкой степени тяжести.

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, эйкозопентаеновой 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 17А, 2, 6, фактора некроза опухоли альфа, снижение образования интерферона-γ и интерлейкина-10;

усиление синтеза провоспалительного лейкотриена В4 на фоне снижения всех представителей проразрешающих оксипинов – 5-, 12-, 15- и 18-НЕРЕ. Впервые показано, что характер системной воспалительной реакции у больных легкой БА ассоциируется с модификацией состава ЖК и нарушением синтеза эндогенных N-ацилэтаноломинов: увеличением доли насыщенных и С20-22 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-ацилэтаноломинов 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-γ, TNF-α и IL-2; синаптамид – с IL-17A, IL-6, TNF-α. Пониженные значения эндогенного содержания NAE вызывают усиление влияния провоспалительного компонента при легкой БА и являются обоснованием использования экзогенных N-ацилэтаноломинов n-6 и n-3 ПНЖК в регуляции воспаления.

В рамках эксперимента *in vitro* впервые установлено, что экзогенные N-ацилэтаноломины – 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  $\mu\text{M}$ , реализуется посредством подавления синтеза клетками крови провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-8 и оксилипинов 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  $\mu\text{M}$  и выражено снижением производства провоспалительных цитокинов (IL-17a, IL-6) и оксилипинов (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  $\mu\text{M}$  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-ацилэтанололаминов 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-ацилэтанололаминов являются решающим фактором стратегии повышения контроля над заболеванием, могут стать основой разработки фармпрепаратов 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 оксипинонов 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-эйкозапентаеноилэтаноламина (NAE 20:5n-3) заключается в дозозависимом снижении синтеза провоспалительных цитокинов (IL-17a, IL-6) и оксипинонов (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 материалам диссертации автором опубликовано 18 научных работ. Из них 10 статей – в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень, утверждённый Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Четыре из этих публикаций размещены в журналах, включенных в «Белый список» Минобрнауки. Кроме того, автором получены 3 свидетельства о государственной регистрации базы 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.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Бронхиальная астма: патогенетические аспекты

Бронхиальная астма является хроническим, гетерогенным воспалительным заболеванием со сложным этиопатогенезом и вариабельностью течения, обусловленными влиянием генетических, природно-климатических и антропогенных факторов [80].

Диагностика заболевания основывается на идентификации респираторных симптомов в анамнезе пациента, в том числе одышка, свистящее дыхание, ощущение стеснения в грудной клетке и кашель. Отличительные характеристики БА включают вариабельность указанных симптомов как во времени, так и по степени выраженности, а также обратимость ограничения потока воздуха в процессе экспирации. Распространенность БА в промышленно развитых странах неуклонно растет и предполагается, что к 2025 году еще более 100 миллионов человек будут страдать данным заболеванием в связи с урбанизацией и изменениями экологических условий. [195]. Многие годы продолжаются попытки найти действенные методы лечения данной патологии, что подчеркивает её сложный и многогранный характер, а также сложность патофизиологических процессов, лежащих в её основе [9, 138]. В структуре БА преобладает легкое течение, которое составляет в среднем 50-75% [1, 41]. Более чем у половины пациентов, несмотря на наличие необходимых медикаментов, не удаётся достичь контроля заболевания. Лечение БА включает использование ингаляционных  $\beta_2$ -агонистов, ингаляционных и системных кортикостероидов, ингибиторов синтеза и активности лейкотриенов [96]. Кортикостероиды и бронходилататоры считаются препаратами первой линии, однако их эффективность при тяжёлых формах БА остаётся ограниченной [13]. Это подчеркивает актуальность изучения патогенетических механизмов хронического воспаления при БА с целью

разработки новых терапевтических подходов. БА в первую очередь рассматривается как хроническое заболевание дыхательных путей с различными клиническими фенотипами и сложными патофизиологическими механизмами [80, 152].

Диагноз бронхиальной астмы охватывает различные фенотипы и эндотипы, которые обусловлены провоцирующими факторами, типом иммунного ответа и степени контроля [49, 87]. В рамках современной медицинской науки астматические заболевания классифицируются на основе различных фенотипических характеристик. К таким характеристикам относятся: астма с поздним началом, характеризующаяся проявлением симптомов в более зрелом возрасте; астма с устойчивой обструкцией дыхательных путей, для которой свойственна постоянная непроходимость бронхов; астма с преобладанием аллергического компонента, ассоциированная с аллергическими реакциями; неаллергическая астма, не связанная с иммунологической реакцией на аллергены; а также астма, обусловленная избыточной массой тела, или астма, ассоциированная с ожирением. Клинические особенности, определяющие каждый фенотип, коррелируют с соответствующим эндотипом. Эндотип характеризуется уникальными патофизиологическими механизмами, которые существенно влияют на эффективность терапии и прогнозирование течения заболевания. [26].

Ключевыми характеристиками бронхиальной астмы являются ремоделирование дыхательных путей, повышенная реактивность бронхов и развитие хронического иммунного воспаления [9]. Патофизиологическую основу бронхиальной астмы составляет комплексное и многоаспектное хроническое воспаление, включающее воспалительные процессы в дыхательных путях и системное воспаление. Чрезвычайно важным на современном этапе является поиск маркеров, контролируемых ключевые звенья патогенеза БА.

### 1.1.1. Воспаление как патогенетический механизм бронхиальной астмы

Одним из показателей системного воспаления является накопление плазменных факторов крови, таких как цитокины. Эти молекулы выполняют важную функцию в управлении иммунным ответом, передавая сигналы клеткам-мишеням через специальные рецепторы. Клеточные факторы крови, особенно популяции Т-хелперов (Th), являются важным показателем системного воспаления. Различные группы Т-хелперных клеток регулируют формирование иммунного ответа, активируя специфические эффекторные клетки. Процесс их дифференцировки непосредственно зависит от цитокинового окружения. В развитии хронического воспаления при бронхиальной астме задействованы клетки как врожденного, так и адаптивного иммунитета, которые производят различные воспалительные медиаторы. Эти медиаторы способствуют развитию бронхиальной гиперреактивности, сужению бронхов, отёку слизистой оболочки и повышенной секреции слизи [84, 88, 107]. Активность воспалительного процесса и проявление клинических симптомов в определённой степени связаны с изменениями иммунологических параметров. Ведущая роль в патогенезе БА по современным представлениям принадлежит  $CD4^+$  Th-клеткам [135]. Они являются ключевой частью лимфоцитов, проникающих в дыхательные пути.  $CD4^+$  Т-клетки запускают высвобождение цитокинов, которые взаимодействуют с другими клетками и активируют каскад воспалительных процессов. В зависимости от силы связывания презентативного антигена с Т-клеточным рецептором и степени концентрации антигена, а также цитокинового окружения происходит дифференцировка наивных  $CD4^+$  Т-клеток по Th1, Th2 или Th17 пути, и в регуляторные Т-клетки.

До недавнего времени в патогенезе БА приоритет отводился дисбалансу Th1/Th2 субпопуляций с превалированием последних, так как Th-2 клетки продуцируют ряд цитокинов IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-33, играющих решающую роль в развитии аллергического воспаления дыхательных путей [181]. С воспалением 2-го типа связывают возникновение неконтролируемых

персистирующих симптомов астмы. Было доказано, что IL-4 играет не только ключевую роль в дифференцировке Th2-клеток. Этот цитокин способствует агрегации эозинофилов посредством экспрессии молекулы адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM-1) в эндотелиальных клетках сосудов и вызывает немедленный астматический ответ, переключая изотипы В-клеток для производства специфического IgE. Это позволяет увеличить количество воспалительных веществ, в частности гистамин и лейкотриены (LT) [127]. Важную роль играет IL-13. Он является одним из ключевых медиаторов в развитии воспаления при астме благодаря передаче сигналов через рецептор IL-4R $\alpha$ . Показано, что с увеличением уровня IL-13 связывают стимуляцию сокращения гладкой мускулатуры дыхательных путей, гиперсекреции слизи и продукции в эпителиальных клетках бронхов индуцируемой синтазы оксида азота (iNOS), что дополнительно увеличивает экспрессию VCAM-1 в клетках эндотелия сосудов [127]. Интерлекину-5 отводится важная роль в механизме привлечения и активации эозинофилов. С его действием связывают пролиферацию, созревание, активацию и выживание эозинофилов, а также транслокацию эозинофилов из костного мозга в системный кровоток [34]. Участие эозинофилов в процессах ремоделирования дыхательных путей характеризуется высвобождением ряда цитотоксических белков, включая основной связывающий белок (MBP), эозинофильную пероксидазу (EPO), катионный белок эозинофилов (ECP) и нейротоксин, производный эозинофилов (EDN) [183]. Помимо этого, эозинофилы выделяют цитокины, характерные для Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-25), а также острые провоспалительные цитокины (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8), хемокины и липидные медиаторы, включая лейкотриен C4 (LTC4). Эти вещества также играют важную роль в развитии ключевых аспектов астмы, таких как бронхиальная гиперреактивность и бокаловидная метаплазия [17, 160]. В то же время влияние IL-5 на бронхиальную гиперреактивность продолжает оставаться предметом научных дискуссий. В клинико-экспериментальных исследованиях показана связь высокого уровня IL-9 с воспалением дыхательных путей, гиперплазией тучных клеток и гиперреактивностью бронхов, однако ограниченные клинические

исследования не позволяют рассматривать его в качестве триггера неконтролируемой БА [58]. Роль участия IL-33 в патогенезе воспалительных процессов при бронхиальной астме в настоящее время является предметом интенсивных исследований. Это обусловлено его активирующим воздействием на базофилы, эозинофилы и тучные клетки, которые на своей поверхности экспрессируют рецептор ST2 (стимулирующий фактор роста, кодируемый геном 2). Эти клетки непосредственно участвуют в развитии аллергической формы бронхиальной астмы [12].

В последние годы внимание исследователей сосредоточилось на изучении роли Treg (регуляторных Т-лимфоцитов) и субпопуляций лимфоцитов, секретирующих IL-17. В исследовании Wambre E., et al. (2014), Akdis C.A., et al. (2015) было установлено, что Treg вносят существенный вклад в механизмы, контролируемые развитие аллерген-специфического иммунного ответа. Благодаря своей супрессорной активности Treg способны подавлять функцию антиген-презентирующих клеток, активность тучных клеток, базофилов и эозинофилов, снижая выработку аллерген-специфического иммуноглобулина E (IgE), а также ингибируя Th1 и Th2 [14, 201]. Однако в более поздних работах показано, что при БА отмечается недостаточная дифференцировка и наблюдаются функциональные дефекты Treg, что рассматривается в качестве ключевых причин усиления Th2-ответа [89, 217]. У некоторых пациентов происходит дифференцировка наивных CD4 Т-клеток в Th17-клетки под влиянием IL-6, IL-21 и трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ ). Это вызывает формирование Th17-эндотипа БА. Ключевую роль в развитии этого типа астмы играют такие цитокины как IL-17A, IL-17F и IL-22 [165]. С высоким уровнем этих цитокинов, обнаруженных в мокроте и бронхоальвеолярном лаваже, прямо коррелирует тяжесть заболевания, что подчеркивает их весомую роль в прогрессировании астмы [125]. Особенностью цитокинов семейства IL-17 является их способность активировать и привлекать в слизистую оболочку бронхов нейтрофилы. В ряде исследований показано, что нейтрофильное воспаление в бронхах, усиливающееся во время астматических приступов, ассоциируется со стероидной

резистентностью [37, 86]. У пациентов с бронхиальной астмой наблюдается повышенная концентрация IL-17 в легких, бронхоальвеолярной жидкости и мокроте, что напрямую связано с бронхиальной гиперреактивностью [66]. Это вероятно, обусловлено тем, что IL-17 стимулирует выработку муцина и вызывает увеличение количества бокаловидных клеток в слизистой бронхов, как было показано в исследовании Chou et al. (2015) [46]. IL-17 также оказывает значительное влияние на локальные воспалительные процессы, активируя выделение провоспалительных цитокинов, таких как TNF- $\alpha$ , IL-1, гранулоцитарно колониестимулирующий фактор (G-CSF), IL-6, IL-8 и CXCL1, что играет ключевую роль в ремоделировании структуры дыхательных путей и накоплении коллагена. [125, 139]. При этом TNF- $\alpha$  выступает как ключевой провоспалительный цитокин, усиливающий воспалительные и аллергические реакции, стимуляцию сокращения гладких мышц и усиление бронхиальной гиперреактивности. Цитокин IL-6 играет важную роль в регулировании процесса дифференцировки Th-клеток. Он способен изменять баланс между Th1 и Th2 клетками в пользу Th2 через два основных механизма: первый — стимуляция наивных T-хелперов к продукции IL-4 при антигенной активации, второй — ингибирование сигнального пути IFN- $\gamma$ , который определяет развитие Th1 клеток [83, 150]. Помимо этого, IL-6 выполняет функцию регулятора баланса между Th17 и iTreg клетками, поддерживая преимущественное развитие Th17-клеток.

Важная роль в патогенезе бронхиальной астмы отводится интерферонам, особенно INF- $\lambda$  и IFN- $\gamma$ , которые выступают регуляторами воспалительных и противовирусных реакций в дыхательных путях. Нарушения в интерфероновой регуляции, а также ее подавление кортикостероидами, могут способствовать вирусно-индуцированным обострениям болезни [61, 107]. Генетический полиморфизм ST2 и роль интерферонов типа I и II демонстрируют сложность взаимодействий между воспалительными процессами и астматическими реакциями, подчеркивая необходимость комплексного подхода в терапии. Этот подход может включать использование биологических препаратов,

ингаляционную терапию интерфероном- $\beta$ , а также учет генетических факторов, влияющих на реактивность к лечению.

Анализ разнообразия про- и противовоспалительных цитокинов занимает центральное место в изучении патогенеза БА. Кроме цитокинов важную роль в патогенезе бронхиальной астмы играют жирные кислоты и их производные, включая эйкозаноиды, эндоканнабиноиды и проразрешающие липидные медиаторы, которые обладают значительным влиянием на воспалительные процессы в дыхательных путях и поддерживают системное хроническое воспаление. Изучение влияния липидных медиаторов на дифференцировку CD4<sup>+</sup> T-клеток и продуцируемые ими цитокины открывает новые перспективы для разработки лечебных стратегий астмы, направленных на уменьшение воспаления и повышения контроля заболевания.

### **1.1.2. Значение жирных кислот и их производных в механизмах развития воспалительной реакции при бронхиальной астме**

Основным патогенетическим механизмом, лежащим в основе развития хронического воспаления, в том числе при БА, является нарушение регуляции его разрешения [160]. Метаболиты полиненасыщенных жирных кислот являются ключевыми сигнальными молекулами, контролирующими интенсивность, протяженность и разрешение воспаления [25, 31, 212]. Функции иммунокомпетентных клеток, реализующих данные механизмы, зависят от состава жирных кислот (ЖК) их цитомембран, алиментарного поступления ЖК в организм и от способности организма метаболизировать ПНЖК [200]. Таким образом, изменение состава жирных кислот может приводить к сбоям в регуляции воспалительного процесса [6, 220]. Известно, что n-3 и n-6 ПНЖК являются прекурсорами синтеза провоспалительных эйкозаноидов, специализированных проразрешающих медиаторов (SPM) [51, 126] и эндоканнабиноидов [68]. Эндоканнабиноиды – это отдельная категория эндогенных липидов, влияющих на разрешение воспаления, но также способных увеличивать продукцию

провоспалительных медиаторов [120]. Разрешение острого воспаления заключается в переходе синтеза провоспалительных липидных медиаторов к образованию SPM [99]. Неспособность организма завершить воспалительную реакцию является основным фактором формирования хронического воспаления [44, 104, 151, 180, 213]. Исследование влияния SPM, эндоканнабиноидов и эйкозаноидов в регулировании воспалительных реакций при бронхиальной астме позволяет лучше понимать процессы приводящие к разрешению воспаления, а также позволяет продолжить поиск новых терапевтических мишеней при лечении астмы. [44, 179, 213].

Ключевыми компонентами большинства липидов являются жирные кислоты. Липиды участвуют во множестве физиологических процессов: являются предшественниками биологически активных веществ, принимают участие в образовании и хранении энергии. ЖК по своей структуре представляют собой карбоновые кислоты с углеродной цепью, на одном конце которой расположена карбоксильная группа, а на другом — метильная. Они делятся на три типа: насыщенные, не содержащие двойных связей; мононенасыщенные, с одной двойной связью; и полиненасыщенные, имеющие от двух до шести двойных связей. По положению первой двойной связи от метильного конца (обозначаемого как « $\omega$ », или « $n$ ») ПНЖК разделяют на  $n-9$  (или  $\omega 9$ ),  $n-7$  (или  $\omega 7$ ),  $n-6$  (или  $\omega 6$ ) и  $n-3$  (или  $\omega 3$ ) семейства [63, 176]. В зависимости от длины углеродной цепи (C) выделяют длинноцепочечные (C12-C22), среднецепочечные (C7-C12) и короткоцепочечные (C2-C6) ЖК. Средне- и короткоцепочечные ЖК синтезируются *de novo* или поступают в организм в результате потребления жиров. Короткоцепочечные ЖК синтезируются в кишечнике и затем попадают в систему кровообращения. Организм млекопитающих не способен синтезировать  $\alpha$ -линоленовую (18:3 $n$ 3) и линолевою (18:2 $n$ 6) кислоты, в связи с чем их называют эссенциальными, поэтому их достаточное поступление с пищей является необходимым условием для образования длинноцепочечных ПНЖК и, как следствие, нормального функционирования организма [172, 182].

В организме линолевая кислота (18:2n-6) преобразуется в ПНЖК n-6 семейства –  $\gamma$ -линоленовую (18:3n-6), дигомо- $\gamma$ -линоленовую (20:3n-6), арахидоновую (АА, 20:4n-6), аденовую (докозотетраеновую) (22:4n-6), тетракозатетраеновую (24:4n-6), тетракозапентаеновую (24:5n-6) и n-6 докозапентаеновую (22:5n-6) кислоты. В свою очередь,  $\alpha$ -линоленовая кислота (18:3n-3) метаболизируется в ПНЖК n-3 семейства – стеариноновую (18:4n-3), эйкозатетраеновую (20:4n-3), эйкозапентаеновую (ЕРА, 20:5n-3), n-3 докозапентаеновую (22:5n-3), тетракозапентаеновую (24:5n-3), тетракозагексаеновую (24:6n-3) и докозагексаеновую (DHA, 22:6n-3) (рис. 1).

Биосинтез и метаболические превращения n-6 и n-3 ПНЖК происходят с участием общих ферментов элонгации и десатурации, таких как элонгаза 2 (ELOVL2), элонгаза 5 (ELOVL5),  $\Delta 5$  десатураза (FADS1) и  $\Delta 6$  десатураза (FADS2) [192]. Элонгазы удлиняют углеродную цепь ПНЖК, тогда как десатуразы превращают одинарные связи между углеродными атомами в двойные ненасыщенные связи (C=C) [144] (рис. 1). Так как ферменты, участвующие в синтезе ПНЖК с длиной цепи от 20 до 22, используются как для n-3 ПНЖК, так и для n-6 ПНЖК, то между кислотами существует конкурентная взаимосвязь за данные ферментные системы. Механизм, который определяет по какому метаболическому пути будут использоваться элонгазы и десатуразы до сих пор до конца не выяснен.

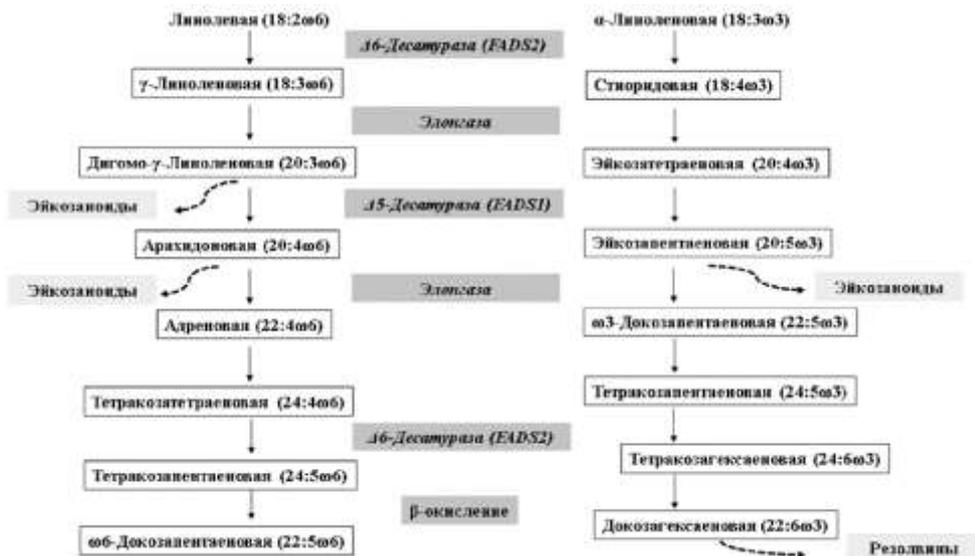


Рисунок 1 – Схема биосинтеза полиненасыщенных жирных кислот n-6 и n-3 семейств

Далее метаболические превращения ПНЖК идут по пути образования окисленных производных [213]. Жирные кислоты редко встречаются в организме в свободной форме и обычно эстерифицируются в более крупные макромолекулы липидов. Перед тем, как начинается реакция окисления, ПНЖК высвобождаются из мембранных фосфолипидов при воздействии фосфолипазы А<sub>2</sub>. Реакция окисления осуществляется при участии ферментов циклооксигеназ (COX), липоксигеназ (LOX), цитохрома P450 (CYP 450) с образованием провоспалительных и противовоспалительных дериватов, обладающих разнообразными свойствами и механизмами действий [27, 35, 71, 85, 141, 155, 173]. Высокоактивные липидные медиаторы выполняют множество функций и регулируют многие процессы в сердечно-сосудистой, иммунной и дыхательной системах [10; 141, 216]. К развитию воспалительных заболеваний может привести нарушение регуляции этих процессов, в частности влияющих на бронхолегочную систему [19, 210].

**Эйкозаноиды.** Арахидоновая кислота при участии LOX, COX и CYP превращается в различные медиаторы, среди которых присутствуют как классические, так и неклассические эйкозаноиды [141, 216].

Эйкозаноиды серии n6 или классические эйкозаноиды являются липидными медиаторами с провоспалительным действием. К этой группе относятся гидрокسيэйкозатетраеновые кислоты (HETE<sub>s</sub>), простаиноиды (включая простагландины (PG), простациклины, тромбоксаны (Tx) и циклопентеноновые PG, а также лейкотриены (LT) и эоксины [162, 191].

К неклассическим эйкозаноидам относятся такие как эпоксиэйкозатриеновая кислота (EET), эпоксиэйкозатетраеновая кислота (E<sub>p</sub>ETE), липоксины, эпи-липоксины, оксоэйкозатетраеновая кислота (охо-E<sub>p</sub>TE), гепоксилины, эндоканнабиноиды, изопростаны, и изофураны, которые являются метаболитами арахидоновой кислоты [72, 162]. Метаболиты арахидоновой кислоты отображены на рисунке 2.

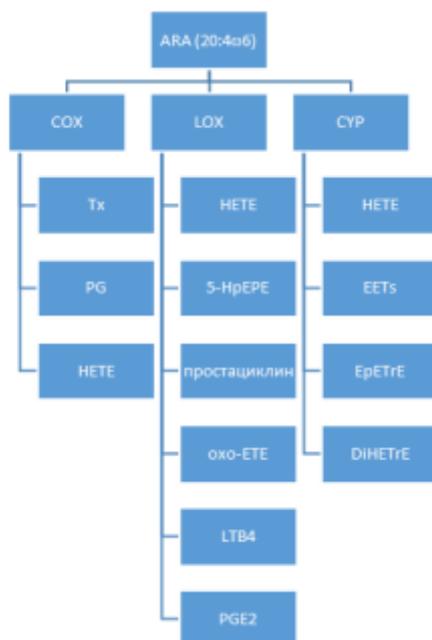


Рисунок 2 – Продукты метаболизма арахидоновой кислоты

Эйкозаноиды вовлечены в реализацию различных клеточных процессов и сигнальных функций [33, 35, 57, 111, 119, 158, 161, 199].

В патогенезе БА важное значение придается семейству лейкотриенов и простаноидов. LTs разделяются на LTB<sub>4</sub>, LTB<sub>5</sub>, а также LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>, LTF<sub>4</sub>, которые объединены в группу цистеинил лейкотриенов (CysLT) и образуются после превращения арахидоновой кислоты в лейкотриен A<sub>4</sub> [15, 101]. LTB<sub>4</sub> играет основную роль в воспалении дыхательных путей [15]. LTB<sub>4</sub> опосредует экссудацию плазмы, вызывая развитие отека слизистой оболочки. Данный лейкотриен является хемоаттрактантом нейтрофилов, он также стимулирует выработку макрофагами интерферона-альфа, IL-17, IL-6, и IL-1β. LTB<sub>4</sub> и LTB<sub>5</sub> связываются с рецепторами лейкотриена B<sub>4</sub> (BLT) BLT1 и BLT2. CysLT в основном секретируются тучными клетками и лейкоцитами [202] и действуют через три основных рецептора, связанных с G-белком (рецептор цистеинил лейкотриена 1 (CysLT1R), CysLT2R и CysLT3R) [15]. Известно, что CysLT являются провоспалительными медиаторами, мощными бронхоконстрикторами, вызывают гиперреактивность и отек бронхов, участвуют в ремоделировании дыхательных путей. В связи с этим, функция CysLT широко изучалась в контексте развития аллергии и астмы [15, 202]. LTD<sub>4</sub> является наиболее сильным

бронхоконстриктором, связывающимся с рецептором CysLT1R [119]. Многочисленные исследования продемонстрировали, что применение антагонистов CysLT1R, таких как монтелукаст, оказывает положительное влияние на пациентов с астмой, особенно в случаях, когда они устойчивы к глюкокортикостероидам [15]. LTD4 может вызывать воспалительную реакцию в эпителиальных клетках дыхательных путей и способствовать их ремоделированию, что наблюдается как при аллергической, так и при неаллергической форме астмы [57].

Простаноиды представляют собой большую группу медиаторов воспаления образованных из арахидоновой кислоты [111].

Простагландины являются мощными вазодилататорами, подавляют агрегацию тромбоцитов, регулируют сокращение гладкомышечных клеток. Большинство PG оказывают провоспалительное действие (например PGE2 и PGD2), однако для циклопентенон PG (PGA2 и 15d-PGJ2) характерно противовоспалительное, антиоксидантное действие. Структурные различия между PG, типы их рецепторов, с которыми они связываются, объясняют их различную биологическую активность и зачастую противоположные эффекты в разных тканях. PGE2 является одним из самых распространенных PGs с провоспалительным действием. Он вызывает вазодилатацию и повышение проницаемости микрососудов легких, аккумулируя воспалительные клетки в месте инфекции. Однако, PGE2 может выполнять и проразрешающие функции. Подобная многофункциональность обусловлена типом рецептора, с которым связывается данный PG [145].

PGF2 $\alpha$  является мощным бронхоконстриктором и медиатором воспаления [146]. Этот простагландин играет важную роль в регуляции воспалительных реакций, стимулированных LPS [124]. Его уровень в плазме крови также служит индикатором окислительного стресса при астме [187].

PGD2 экспрессируется в Th2-клетках макрофагах, тучных клетках, базофилах, а также гладкомышечных и эпителиальных клетках [67, 207]. Влияя на рецептор простагландина D2, PGD2 может вызывать вазодилатацию, бронхоспазм

и влиять на регуляцию иммунных клеток. Этот простаноид также оказывает сосудорасширяющее действие, вызывает расслабление гладкой мускулатуры и способствует апоптозу эозинофилов. Рецептор 2 простагландина D2 связывается как с самим PGD2, так и с его метаболитами, что указывает на широкий диапазон возможных лигандов [98]. Подобно PGF2 $\alpha$ , PGD2 действует как бронхоконстриктор и выступает медиатором воспалительных процессов в дыхательных путях [146]. Исследования показывают, что концентрации PGF2 $\alpha$  и PGD2 положительно коррелируют с тяжестью обструкции воздушного потока при бронхиальной астме, в то время как PGE2 не демонстрирует связи с функцией легких [190].

ТхА2 продуцируется тромбоцитами, нейтрофилами, моноцитами, макрофагами и клетками паренхимы легких [171]. PG может быть преобразован в ТхА2 благодаря ТхА2-синтазе. Она экспрессируется в легких, почках, печени, моноцитах и мегакариоцитах. ТхА2 участвует в передаче сигналов через тромбоксановые рецепторы (ТР) ТР $\alpha$  и ТР $\beta$ . ТР $\alpha$  стимулирует аденилатциклазу, увеличивая уровень циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и ускоряет внутриклеточную передачу сигналов, а ТР $\beta$  их ингибирует. Активация ТхА2 происходит при повреждении тканей и развития воспаления, что вызывает агрегацию тромбоцитов и вазоконстрикцию. С другой стороны, PGI2 подавляет агрегацию тромбоцитов, вызывает вазодилатацию и ингибирование пролиферации гладких мышц. ТхА2 и PGI2 обладают противоположным действием в отношении тромбоза и атерогенеза, их баланс играет ключевую роль в поддержании сосудистого гомеостаза. Активация рецепторов ТР влияет на агрегацию тромбоцитов и сокращение гладкой мускулатуры дыхательных путей, что позволяет предположить, что повышенная активность ТхА2 может участвовать в патогенезе астмы.

ТХА2 крайне нестабильный метаболит, который гидролизуется до стабильного, но физиологически инертного ТхВ2 в отсутствие фермента. ТхВ2 коррелирует со степенью выраженности обструкции воздушного потока при БА [43, 161, 190].

Важными продуктами метаболизма арахидоновой кислоты являются гидроксййкозатетраеновые кислоты [159]. HETEs - классические эйкозаноиды синтезирующиеся при участии COX, LOX, и цитохром P-450. HETEs выполняют важную функцию в регуляции гемостаза и иммунных процессов. Из множества HETEs, наибольшее влияние в патогенез бронхиальной астмы играют 5-HETEs, 12-HETEs и 15-HETEs. Провоспалительные 5-HETEs и 12-HETEs активно изучаются с точки зрения их участия в развитии острой воспалительной реакции при БА. 15-HETEs обладают двойным действием – провоспалительным и противовоспалительным — и участвуют в регуляции воспалительного процесса при БА [7]. Исходя из этого HETEs интересные объекты исследования в качестве регуляторов воспаления при БА, что может стать полезным в разработке стратегий контроля заболевания. Вероятно, эффективное лечение БА должно предусматривать избирательное модулирование ферментных путей метаболизма арахидоновой кислоты, приводящих к образованию мощных липидных медиаторов.

Таким образом, метаболиты арахидоновой кислоты вовлечены не только в развитие острого воспаления благодаря продукции провоспалительных липидных медиаторов, таких как HETEs, но также в поддержание хронического воспаления, что связано с недостаточной выработкой медиаторов, отвечающих за разрешение воспалительных процессов.

***Проразрешающие липидные медиаторы.*** К SPM относятся липоксины (LX), резольвины (Rv), протектины (PD), марезины (MaR) и 15e-LXA4 [79, 178, 179]. SPM влияют на рецепторы различных клеток иммунной системы, таких как макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, эпителиальные и эндотелиальные клетки [212]. SPM усиливают фагоцитоз и эффероцитоз, поддерживая гомеостаз.

При БА наблюдается снижение синтеза SPM, что способствует хронизации воспалительного процесса в бронхолегочной системе [79, 179, 212].

Липоксины (LXA4 и LXB4) представляют собой производные арахидоновой кислоты, которые, в отличие от эйкозаноидов, обладают выраженными противовоспалительными свойствами и способствуют резолюции воспаления и

восстановлению тканей [23]. Липоксины могут образовываться различными путями. В нейтрофилах под действием фермента 5-LOX синтезируются LXB4 и LXA4. В тромбоцитах при участии 12-LOX образуется LXA4, тогда как эозинофилы, нейтрофилы и макрофаги, используя ферменты 5-LOX и 15-LOX, могут продуцировать как LXA4, так и LXB4. Липоксины подавляют секрецию IL-8 лейкоцитами и эпителиальными клетками, а также стимулируют эфферцитоз макрофагов [56]. LXA4 и LXB4 являются двумя первичными проразрешающими медиаторами при астме, которые являются производными LOX [94]. Выявленные нарушения продукции липоксинов при бронхиальной астме делают эти медиаторы потенциально значимыми терапевтическими мишенями.

Резольвины, в свою очередь, синтезируются из докозагексаеновой и эйкозапентаеновой жирных кислот. Из DHA образуются — резольвины серии D (RvD1, RvD2, RvD3, RvD4, RvD5, RvD6), из EPA образуются резольвины серии E (RvE1, RvE2 [75, 108]. Противовоспалительное действие RvE1 обусловлено взаимодействием с PPARs и блокированием экспрессии ядерного фактора каппа-би NF-kB [189]. RvE1 способствует уменьшению воспаления в дыхательных путях, ингибируя синтез лимфоцитов и эозинофилов; снижает синтез цитокинов IL-23, IL-6 и IL-13. Функции RvE2 аналогичны и включают стимуляцию фагоцитоза, увеличение выработки противовоспалительных цитокинов, влияние на миграцию нейтрофилов. RvD1 и RvD2 участвуют в контроле адаптивного иммунного ответа в периферической крови ингибируя воспалительные процессы [75]. Они также препятствуют дифференцировке CD4<sup>+</sup> Т-клеток в Th1 и Th17 воздействуя на их транскрипцию, подавляют выработку цитокинов клетками Th1, Th17 и активированными CD8<sup>+</sup> клетками. Имеются данные об участии RvD1 в контроле IL2-опосредованного эозинофильного воспаления дыхательных путей и связанных с ними заболеваний посредством ингибирования данным медиатором продукции цитокинов врожденных лимфоидных клеток (ILC) типа 2. [133]. Таким образом, данные липидные медиаторы могут представлять собой терапевтическую стратегию для купирования воспаления дыхательных путей.

Протектины образуются из докозагексаеновой кислоты и продуцируются моноцитами, клетками мозга и CD4<sup>+</sup> лимфоцитами [206]. Представителем этой группы веществ является PD1. Он обладает противовоспалительными и нейропротекторными свойствами, благодаря взаимодействию с PPARs, подавлению экспрессии NF-κB, снижению количества COX-2 и простагландинов.

Уровень PD1 понижен у пациентов с тяжелыми и неконтролируемыми формами бронхиальной астмы [133]. Кроме того, PD1 уменьшает концентрацию PGD<sub>2</sub>, участвующего в гиперреактивности дыхательных путей. Также установлено, что PD1 подавляет экспрессию фермента 15-LOX, что приводит к ингибированию синтеза LT [114]. Введение PD1 внутривенно мышам, сенсibilизированным к аллергенам, до воздействия аэрозоля с аллергеном защищало их от гиперреактивности дыхательных путей и воспалительных реакций, вызванных эозинофилами и T-клетками [114]. Протектин также может уменьшать воспаление в легочной ткани после сепсиса через активацию PPAR<sub>γ</sub> и ингибирование фосфорилирования и активации NF-κB p65 [206]. В целом, противовоспалительные свойства PD1 указывают на его потенциал в лечении бронхиальной астмы.

Синтез MaR начинается в макрофагах с участием 12-LOX. MaR предполагаются как сильные регуляторы макрофагов, участвующие в разрешении острого воспаления и регенерации тканей. MaR1 способствуют рассасыванию, регенерации и предотвращению агрегации клеток. MaR2 воздействует на лимфоциты, принимая участие в регуляции адаптивного иммунного ответа. Это открывает новые перспективы для модификации хронического воспаления через воздействие на MaR2 [115].

Таким образом, воспалительная реакция является острым ответом тканей и систем организма на травмирующие или стрессирующие воздействия. Фаза разрешения воспаления известна как регулируемая программа, которая прекращает воспалительную реакцию. Предполагается, что хроническое воспаление в легких может быть результатом дефекта разрешения воспалительного процесса – результата функционального дисбаланса между

эйкозаноидами, эндогенными специализированными проразрешающими липидными медиаторами и эндоканнабиноидами. Все липидные медиаторы, предшественниками которых являются ПНЖК, взаимодействуют друг с другом и образуют метаболическую сеть, которая регулирует воспалительную реакцию.

## **1.2. Химическая структура, биосинтез и распространённость**

### **N – ацилэтаноламинов жирных кислот в природе**

Этаноламины ЖК — липидные соединения, относящиеся к группе каннабиноидов. Эти соединения являются производными этаноламина, где атом водорода в амидной группе замещён ацильной группой, которая может иметь различную длину и степень насыщенности. Интерес к этим соединениям обусловлен их терапевтическим потенциалом для широко распространённых в современном мире заболеваний, в том числе воспалительного генеза [8, 47, 69, 74, 77, 112, 128, 175, 193]. От регулирования энергетического баланса и обмена липидов и углеводов до участия в иммунных реакциях — эндоканнабиноидная система выполняет ключевые функции в организме [97]. Эта система включает эндоканнабиноиды, каннабиноидные рецепторы и ферментные системы, которые задействованы в их синтезе, транспорте, метаболизме и разрушении [112, 120, 175]. Прекурсорами синтеза эндоканнабиноидов является арахидоновая кислота, биосинтез осуществляется несколькими путями и включает ферменты, такие как фосфолипаза А<sub>2</sub>, фосфолипаза С и N-ацетилфосфатидилэтаноламин-гидролизующая фосфолипаза D (NAPE-PLD). Метаболизм эндоканнабиноидов под действием цитохрома-P450 приводит к образованию целого ряда высокоактивных эйкозаноидов с различными физиологическими эффектами [99].

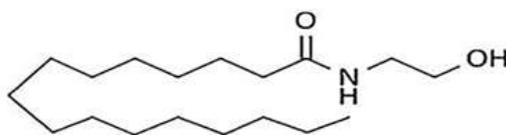
Фитоканнабиноиды или природные растительные каннабиноиды, обнаруживаются в представителях семейства коноплёвых, таких как каннабис (*Cannabis sativa* L.) [65, 137, 175]. Среди природных соединений, распространённых как в окружающей среде, так и в человеческом организме, можно отметить этаноламиды, являющиеся производными насыщенных и

мононенасыщенных жирных кислот. К ним относятся, например, N-олеоилэтанолламин (OEA или NAE 18:1) N-стеароилэтанолламин (SEA или NAE 18:0) и пальмитоилэтанолламид (PEA или NAE 16:0), которые не проявляют каннабиноидной активности [36, 196].

Эти этаноламиды жирных кислот выполняют свои сигнальные функции посредством активации различных рецепторов, связанных с G-белками, ионных каналов с транзиторным рецепторным потенциалом и ядерных рецепторов активирующих пролиферацию пероксисом [65, 109, 140, 142, 157]. Их отличительная черта в том, что они не взаимодействуют с каннабиноидными рецепторами, воздействуя на неканнабиноидные, из-за чего они относятся к неэндоканнабиноидным N-ацилэтанолламинам [196].

**Химическая структура и биосинтез NAE.** Наиболее изученными среди NAE являются: NAE 16:0, NAE 18:1, N-докозагексаноилэтанолламин (DHEA или NAE 22:6n-3), он же синаптамид, N-арахидоноилэтанолламин (AEA или NAE 20:4n-6), он же анандамид и N-эйкозапентаноилэтанолламин (EPEA или NAE 20:5n-3). На рисунках представлена химическая структура представителей N-ацилэтанолламинов насыщенных, моноеновых (рис. 3) и полиненасыщенных (рис. 4) жирных кислот.

А)



Б)

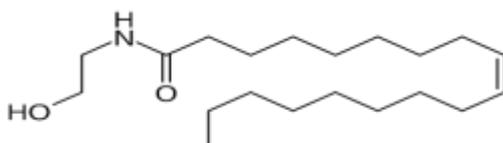
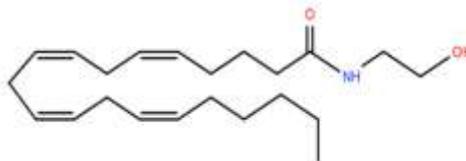
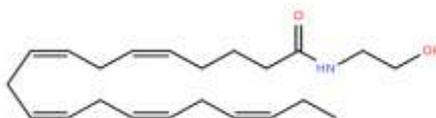


Рисунок 3 – Химическая структура N-ацилэтанолламинов  
А) насыщенных (NAE 16:0); Б) моноеновых (NAE 18:1).

А)



Б)



В)

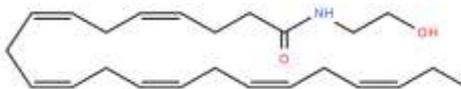


Рисунок 4 – Химическая структура NAE n-6 и n-3 ПНЖК  
 А) NAE 20:4n-6 (анандамид); Б) NAE 20:5n-3; В) NAE 22:6n-3 (синаптамид).  
 Источник: LIPIDMAPS <https://www.lipidmaps.org/databases/>

В современной научной литературе сообщается о нескольких путях биосинтеза NAE. По основному пути биосинтез NAE осуществляется из мембранных глицерофосфатидилэтаноламинов под действием специфической фосфолипазы D (NAPE-PLD) (рис. 5).

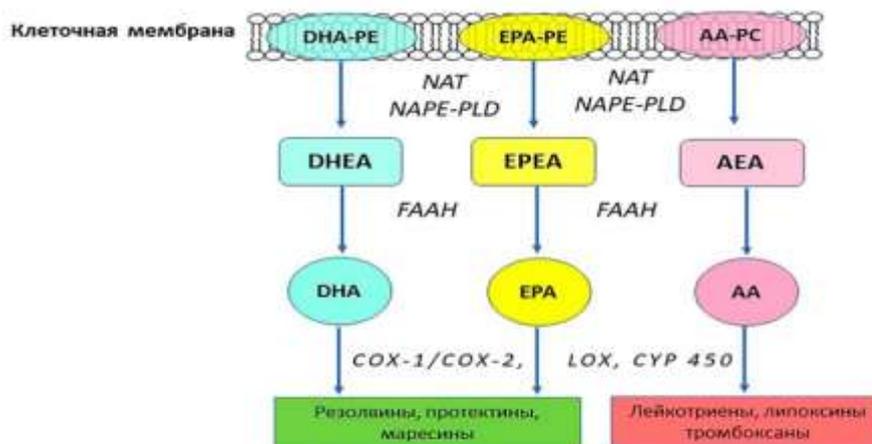


Рисунок 5 – Схема биосинтеза N-ацилэтаноламинов

Примечание: DHA-PE – фосфатидилэтаноламин докозагексаеновой кислоты; EPA-PE – фосфатидилэтаноламин эйкозапентаеновой кислоты; AA-PC – фосфатидилхолин арахидоновой кислоты; NAT – N-ацилтрансфераза; NAPE-PLD – N-ацилфосфатидилэтаноламин фосфолипаза D; DHEA – этаноламин докозагексаеновой кислоты; EPEA – этаноламин эйкозапентаеновой кислоты; AEA – этаноламин арахидоновой кислоты; FAAH – гидролаза амидов жирных кислот; DHA –

докозагексаеновая кислота; EPA – эйкозапентаеновая кислота; AA – арахидоновая кислота; COX – циклооксигеназа; LOX – липооксигеназа, CYP 450 – цитохром P450.

Начальный этап синтеза NAE включает N-ацилирование диацильных этаноламинфосфолипидов. Этот процесс происходит благодаря ферменту N-ацилтрансфераза (NAT). В результате реакции образуется 2-ацил-лизофосфолипид – продукт, который обычно образуется в результате действия фосфолипазы A1 и служит вторым результатом данной реакции. Активность NAT возрастает под действием ионов  $Ca^{2+}$  [196].

Далее происходит выделение NAE из фосфатидилэтаноламинов под действием фермента NAPE-PLD [92]. Физиологические регуляторы, контролирующие активность NAPE-PLD, остаются до сих пор неидентифицированными.

На следующем этапе биосинтеза амины ЖК подвергаются расщеплению ферментом – амидгидролазой жирных кислот (FAAH), который гидролизует NAE. В результате данной реакции получается жирная кислота и этаноламин. FAAH относится к семейству сигнатурных амидаз и является сериновой гидролазой [194].

Существует и другой путь биосинтеза NAE, при котором происходит ферментативное расщепление N-ацил-лизофосфатидилэтаноламина (lysoNAPE) под действием глицерофосфодиэстераз (GDE), таких как GDE4 и GDE7, в процессе, аналогичном реакции lysoPLD. Этот путь приводит к образованию NAE и лизофосфатидной кислоты [134]. Исследование Mock, E.D., et al. (2023) показало, что у мышей с нокаутом гена  $\alpha,\beta$ -гидролазы 4 наблюдалось снижение уровней GP-NAE и lysoNAPE в мозге, однако уровень NAE, включая NAE 20:4n-6, оставался неизменным. Было установлено, что активность фермента GDE1 усиливается в присутствии  $Mg^{2+}$ , а высокая экспрессия GDE1 обнаруживается в тканях мозга, семенников, печени и почек. При генетическом удалении GDE1 у мышей не произошло значительного снижения уровня NAE в мозге, что ставит под сомнение физиологическую значимость данного пути для синтеза NAE в мозговой ткани. Роли недавно обнаруженных ферментов GDE4 и GDE7 в

биосинтезе NAE *in vivo*, а также значение фосфолипазы A2, требуют дальнейшего изучения [134].

Группой авторов Liu, J., et al., (2006) описан биосинтез NAE в макрофагах, где липополисахарид индуцировал повышение NAE 20:4n-6 независимым от NAPE-PLD способом. Было высказано предположение, что неизвестный пока фермент типа фосфолипаза C гидролизует фосфодиэфир NAPE с образованием фосфоNAE и диацилглицерина. Были идентифицированы две фосфатазы: протеинтирозинфосфатаза нерцепторного типа 22 (RTPN22) и фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат-5-фосфатаза 1 (SHIP1), которые могут катализировать дефосфорилирование фосфоNAE до NAE и фосфата. RTPN22 и SHIP1 индуцировались в макрофагах при стимуляции липополисахаридом (LPS). В экспериментальных условиях было выявлено, что отсутствие RTPN22 у мышей приводит к снижению преобразования фосфоNAE в NAE 20:4n-6, что указывает на значимость RTPN22 в этом процессе [118]. Кроме того, в макрофагах, после стимуляции LPS, наблюдалось снижение активности другого фермента – NAPE-PLD, что подтверждается и другими исследователями [219]. При этом, введение LPS или каррагинана мышам вызывало уменьшение уровня пальмитоилэтаноламина, но данные о влиянии на уровни NAE 20:4n-6 не предоставлены. Эти результаты позволяют предположить, что в макрофагах существуют специфические пути биосинтеза NAE, которые могут активироваться при воспалении [134].

***N-пальмитоилэтаноламин.*** Одним из самых распространенных NAE насыщенных жирных кислот является NAE 16:0. Эндогенный NAE 16:0 образуется из C16:0 жирной кислоты. Синтез и деградация NAE 16:0 происходит в различных типах клеток, в том числе иммунных, нейронах и клетках микроглии. Его содержание в тканях варьируется между исследованиями, но обычно оказывается выше, чем обнаружены для NAE 20:4n-6. Синтез NAE 16:0 осуществляется по тем же путям, что и другие NAE.

NAE 16:0 широко распространены в растениях, в частности в семенах. Впервые NAE 16:0 обнаружен в 1957 году в яичном желтке, соевых бобах и

арахисовом масле, затем – в 1965 году в тканях млекопитающих. Поскольку NAE 16:0 и NAE 20:4n-6 имеют сходные метаболические пути биосинтеза, NAE 16:0 часто исследуют вместе с NAE 20:4n-6, хотя он не считается классическим эндоканнабиноидом [157, 166].

Разнообразные биологические эффекты NAE 16:0 проявляются через его взаимодействие с рецепторами GPR55, GPR119 и внутриклеточным ядерным рецептором PPAR- $\alpha$  [48, 55; 166], который расположен внутри клетки. Действуя через PPAR- $\alpha$ , NAE 16:0 приводит к активации канала TRPV1, опосредуя таким образом противовоспалительные и анальгетические эффекты [16, 167]. Кроме того, не исключается и механизм активации двух других изоформ семейства рецепторов PPAR, к которым относятся PPAR $\beta/\delta$  и PPAR $\gamma$ , инициирующие пролиферацию пероксисом [102].

*N-олеоилэтаноламин.* NAE 18:1 - эндогенный липидный медиатор, получаемый из мононенасыщенной олеиновой кислоты. Как и другие NAE синтез данного вещества происходит из мембранных глицерофосфолипидов при воздействии NAT и NAPE-PLD. Синтез и деградация NAE 18:1 происходит в основном в специфических клетках, таких как энтероциты, нейроны и астроциты, а также в жировой ткани и в  $\beta$ -клетках инсулиномы. Также синтез NAE 18:1 может происходить в эпителии проксимального отдела тонкой кишки, там же NAE 18:1 разлагается на олеиновую кислоту и этаноламид под действием двух разных групп внутриклеточных ферментов, включая гидролазу амидов жирных кислот и амидазу N-ацилэтаноламин-гидролизующей кислоты (NAAA) [32, 177].

NAE 18:1 является высокоаффинным агонистом рецептора PPAR- $\alpha$  и ванилоидного рецептора TRPV1 [164], а также связывается с другими рецепторами - GPR119 [93], GPR40 [184] и TRPV1 [117]. Потребление олеиновой кислоты с пищей повышает уровень циркулирующей олеиновой кислоты в крови, увеличивая доступность субстрата для биосинтеза NAE 18:1. Доклинические исследования показали, что NAE 18:1 остается активным при пероральном применении. Эти результаты имеют важное практическое значение, поскольку

молекула NAE 18:1, полученная из олеиновой кислоты, может быть перспективным терапевтическим агентом для контроля веса и лечения ожирения.

В пищевых продуктах NAE 18:1 содержится в небольших количествах. Основные источники – овсянка, орехи и какао-порошок, но его содержания в этих продуктах недостаточно, чтобы индуцировать целевые рецепторы. Уровень NAE 18:1 снижается при голодании, а получение его с пищей является основным стимулятором его синтеза в физиологическом состоянии. Помимо диетических факторов на уровень NAE 18:1 так же влияют генетические механизмы, стресс и физическая нагрузка [106].

*N-арахидоноилэтаноламин*. NAE 20:4n-6, или анандамид, представляет собой производное арахидоновой кислоты. Из всех членов семейства NAE анандамид был изучен наиболее широко. Хотя концентрации NAE 20:4n-6 в большинстве тканей в 10–100 раз ниже, чем уровни NAE 16:0, NAE 18:0 и NAE 18:1 [82], N-арахидоноилэтаноламин, в отличие от других NAE, способен активировать каннабиноидные рецепторы. Эта молекула конкурирует с экзогенными каннабиноидами за их специфические рецепторы в мозге, вызывая схожие эффекты. Показано, что анандамид активирует рецепторы CB1 в центральной нервной системе, CB2 в периферических тканях, включая иммунные клетки, а также рецепторы TRPV1 [123].

Биосинтез NAE 20:4n-6 осуществляется по четырем параллельным путям, каждый из которых проходит с собственным набором ферментов и находится под независимым контролем. У человека анандамид синтезируется из N-ацилфосфатидилэтаноламина (NAPE). Формирование NAPE происходит в процессе переноса арахидоновой кислоты от лецитина к свободному амину цефалина с участием фермента NAT. Синтез анандамида из NAPE может происходить через различные механизмы, включающие ферменты: фосфолипаза C, фосфолипаза A2, NAPE-PLD и lysoNAPE. Деградация может быть простой, основанной на гидролизе амида ферментами, или сложной, включающей механизм биосинтеза эйкозаноидов. Наконец, существует система накопления, когда липидные микровезикулы высвобождают накопленный NAE 20:4n-6. Также

NAE 20:4n-6 может быть преобразован в другие активные молекулы, активирующие те же СВ-рецепторы, которые стимулирует NAE 20:4n-6, тем самым продолжая передачу сигналов в отсутствие самого NAE 20:4n-6 [28].

***N-докозагексаноилэтаноламин.*** NAE 22:6n-3 синтезируется из ДНА-содержащего фосфатидилэтаноламина и высвобождается по требованию. NAE 22:6n-3 эндогенно обнаруживается в мозге и сетчатке, а также в плазме крови человека. В мозге уровни NAE 22:6n-3 обычно в 2-10 раз выше, чем NAE 20:4n-6, а в плазме крови - наоборот [113, 134]. Кроме того, концентрация NAE 22:6n-3 в мозге напрямую связана с содержанием в мозге докозагексаеновой кислоты (22:6n3).

Докозагексаеновая кислота, которая является предшественником NAE 22:6n-3, в основном поступает с пищей, но также синтезируется из незаменимой  $\alpha$ -линоленовой жирной кислоты (18:3n3) [105]. Считается, что биосинтез NAE 22:6n-3 идет по тому же пути, что и другие NAE, через образование NAPE и гидролиз с помощью NAPE-PLD, что было подтверждено в экспериментальных исследованиях на мышах [113].

Иммуномодулирующие свойства NAE 22:6n-3 были обнаружены в исследованиях *in vitro*, однако точный механизм этого действия пока не выяснен. В проведенных экспериментах сравнивались эффекты, зависящие от каннабиноидных рецепторов в культивируемых мышечных адипоцитах линии 3T3-L1, с эффектами, независимыми от каннабиноидных рецепторов, наблюдаемыми в макрофагах мышей линии RAW264.7 [62, 154, 197].

***N-эйкозапентаноилэтаноламин.*** Биосинтез NAE 20:5n-3 осуществляется по каноническому пути, характерному для всех NAE. При осуществлении этого пути  $Ca^{2+}$ -зависимая N-ацилтрансфераза и NAPE, гидролизующая PLD, освобождают этаноламин жирной кислоты от его мембранного предшественника [131].

Эндогенный NAE 20:5n-3 выявлен в головном мозге крыс, сердце, почках, селезенке, печени и мозге свиньи. При этом NAE 20:5n-3 обнаруживается в мозге крыс на значительно более низком уровне, чем NAE 22:6n-3. Добавление в пищу

крыс продуктов с высоким содержанием n-3 жирных кислот показало увеличение содержания уровней NAE 20:5n-3. Эти данные подтверждают, что алиментарные n-3 жирные кислоты модулируют уровни NAE 20:5n-3, увеличивая биодоступность эйкозапентаеновой ЖК для выполнения физиологических функций [38].

Медицинское применение каннабиноидов и схожих с ними соединений остается одной из актуальных тем научных исследований. Хотя эти вещества демонстрируют разнообразные биологические эффекты, их использование ограничивается наличием значительных побочных реакций, что сдерживает их терапевтический потенциал. В ответ на этот вызов ученые сосредоточили усилия на поиске соединений, которые могли бы воспроизводить механизмы действия каннабиноидов, но не обладать их негативными эффектами, что привело к активному изучению более безопасных альтернатив. Для углубленного понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе их биологической активности, и поиска соединений с каннабиномиметической активностью среди N-ацилэтаноламинов жирных кислот, которые могут оказаться более перспективными в терапии, требуются дальнейшие исследования.

### **1.3. Биологические и фармакологические эффекты N-ацилэтаноламинов жирных кислот**

За более чем два десятилетия с момента открытия эндоканнабиноидов и их рецепторов было проведено огромное количество исследований, направленных на детальное изучение функций эндоканнабиноидной системы. Изучение эндоканнабиноидной системы и оценка терапевтического потенциала каннабиноидов, а также схожих с ними соединений, остаются важной областью современных научных исследований. Несмотря на достигнутые успехи, механизмы взаимодействия этих соединений с рецепторами все еще требуют дальнейшего изучения. Например, фитоканнабиноиды и каннабиноидные NAE демонстрируют сходные эффекты, взаимодействуя с рецепторами, такими как

CB1, CB2, PPARs, GPCRs и TRPs. Однако неэндоканнабиноидные N-ацилэтанолламины не взаимодействуют с каннабиноидными рецепторами. Анализ новых исследований указывает на то, что липидные сигнальные молекулы могут иметь общие рецепторы, однако при этом вызывать различные физиологические эффекты и обладать уникальными механизмами передачи сигналов.

N-ацилэтанолламины демонстрируют комплексное воздействие на воспалительные процессы в иммунной системе, обусловленное их многофункциональными свойствами. Одним из ключевых эффектов является предотвращение изменений в морфологической структуре тимуса и селезенки, вызванных липополисахаридами. Эти вещества также способствуют нормализации уровня клеточной пролиферации, что указывает на их потенциальное применение в контроле клеточного роста и размножения [153].

Следующим важным аспектом действия N-ацилэтанолламинов является их способность ингибировать активность ионизирующего кальций-связывающий пептида 1 (Iba-1) и CD68-позитивных клеток, которые являются ключевыми маркерами воспалительного ответа макрофагов. Это свидетельствует о значительном влиянии этих соединений на иммунную реактивность организма. Кроме того, N-ацилэтанолламины эффективно снижают уровень производства провоспалительных цитокинов, таких как TNF, IL1 $\beta$ , IL6 и INF $\gamma$ , что подчеркивает их противовоспалительные свойства [62]. Снижение образования реактивных форм кислорода, выявленное в ряде исследований, указывает на антиоксидантные свойства этих соединений. Помимо этого, усиление активности CD-163-позитивных клеток может способствовать регуляции воспалительного ответа, обеспечивая дополнительный механизм действия N-ацилэтанолламинов [170].

Таким образом, обширное влияние этих веществ на различные звенья иммунного ответа отражает их потенциал в разработке новых подходов к лечению воспалительных заболеваний [62].

N-арахидоноилэтанолламин, более известный как анандамид, является одним из самых тщательно изученных этанолламинов среди полиненасыщенных жирных кислот. Анандамид служит лигандом для каннабиноидных рецепторов CB1 и CB2

и был первым открытым эндоканнабиноидом, который играет важную роль в эндоканнабиноидной системе организма через взаимодействие с этими рецепторами [4, 11, 42].

Противовоспалительное действие анандамида обусловлено его способностью подавлять активность транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B путем активации PPAR $\alpha$ -рецепторов:

Определённые амиды жирных кислот, которые взаимодействуют с каннабиноидными соединениями, обладают иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами [149]. В исследованиях, где сравнивалась способность различных NAE ингибировать высвобождение оксида азота (NO) из стимулированных макрофагов линии RAW264.7, NAE 22:6n-3 он оказался наиболее эффективным, вызывая дозозависимое снижение секреции NO [21]. Хотя NAE 20:5n-3 и NAE 22:6n-3 успешно подавляли высвобождение NO, анандамид не проявлял активности в отношении системы синтазы оксида азота. Эти результаты подтверждают роль указанных соединений в качестве эндогенных противовоспалительных агентов. Поэтому повышение синтеза NAE 22:6n-3 и NAE 20:5n-3 после введения полиненасыщенных жирных кислот следует принимать во внимание при использовании длинноцепочечных жирных кислот в лечебных целях.

В исследовании, выполненном Watson J.E. et al. (2019) [203] изучалась роль NAE 22:6n-3 в регуляции синтеза основных медиаторов воспаления. Показано, что NAE 22:6n-3 снижает уровень PGs и TxB2 (которые являются метаболитами COX2) в зависимости от дозы. При использовании низких концентраций NAE 22:6n-3 его влияние на синтез было практически не выражено. При этом DHA, являющаяся предшественником NAE 22:6n-3 не влияла на уровень данных веществ в таких же дозах. Авторы предположили, что эффект может быть вызван конкуренцией NAE 22:6n-3 или его метаболитов с арахидоновой кислотой, поскольку экспрессия белка COX-2 оставалась на прежнем уровне. Неясным остается – оказывает NAE 22:6n-3 косвенное влияние через COX-2, или непосредственно влияет на провоспалительные медиаторы.

Мощный противовоспалительный эффект NAE 22:6n-3 был обнаружен в адипоцитах линии 3T3-L1. При использовании DHA в дозе от 10 до 50 мкМ выявлено повышение образования NAE 22:6n-3 в 2–7 раз по сравнению с группой контроля. Эффект воздействия NAE 22:6n-3, в отличие от его предшественника – DHA, проявлялся в более низких дозах – от 1 до 10 мкМ. Так, под влиянием NAE 22:6n-3 происходило снижение продукции IL-6 и MCP-1 в стимулированных LPS адипоцитах на 50%, тогда как DHA в той же концентрации не показывала значимого эффекта. В дополнительных экспериментах было показано, что снижение провоспалительных маркеров происходит через воздействие на рецепторы PPAR $\gamma$  и CB2. Эти данные указывают на то, что NAE 22:6n-3 обладает противовоспалительной активностью в адипоцитах и реализует ее как через CB-рецепторы, так и независимым путем [20].

В других экспериментах продемонстрирована способность NAE 22:6n-3 в концентрации 10 мкМ подавлять продукцию оксида азота и MCP-1 в перитонеальных и RAW264.7 макрофагах, активированных LPS [132]. Показано, что в реализации противовоспалительного эффекта NAE 22:6n-3 участвуют толл-подобные рецепторы (TLR). При его использовании на макрофагах снижалось количество NO даже в клетках, активированных LPS и полицитидиловой кислотой. Однако ингибирование стимуляции NF- $\kappa$ B и IFN- $\beta$ , которые связаны с путями сигнализации TLR3/TLR4, не происходило. Более того, фармакологические исследования показали, что рецепторы CB1, CB2 и PPAR $\gamma$  оказывают минимальное влияние на снижение NO, вызванное NAE 22:6n-3, что предполагает наличие других, пока неизвестных механизмов действия. Также известно, что NAE 22:6n-3 может опосредованно уменьшать провоспалительный ответ, снижая синтез эйкозаноидов из арахидоновой кислоты или превращаясь в противовоспалительные липидные метаболиты с участием эйкозаноид-синтезирующих ферментов [54].

В исследованиях Tyrtysynaia A. et al. (2021) продемонстрирована способность синаптамида предотвращать увеличение продукции провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-6 в культуре микроглии, вызванное

LPS, а также снижать увеличение продукции TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в гиппокампе. Кроме того, синаптамид эффективно способствовал поляризации микроглии к фенотипу M2 и ингибировал увеличение площади окрашивания микроглии, положительной по Iba-1. Важным аспектом действия синаптамида является его влияние на производство нейротрофического фактора мозга, где он восстанавливает снижение его продукции, вызванное LPS, и поддерживает нормальный уровень долгосрочного потенцирования в гиппокампе при нейровоспалении [197].

Изучение противовоспалительных свойств эйкозапентаеновой кислоты (EPA) показало, что в адипоцитах линии 3T3-L1 использование EPA в концентрациях от 10 до 50 мкМ увеличивает количество NAE 20:5n-3 от 3,5 до 10,9 раз. После стимуляции LPS, введение NAE 20:5n-3 снижало концентрацию цитокинов IL-6 и MCP-1 в два раза. При этом воздействие LPS приводило к более выраженному увеличению NAE 20:5n-3 по сравнению с NAE 22:6n-3. Возможно, это связано с более высокими внутренними уровнями этерифицированной EPA по сравнению с докозагексаеновой кислотой (DHA) [21, 100].

В исследовании Barnig, Levy (2015) показано, что введение NAE 20:5n-3 в миобластах линии C2C12 увеличивало экспрессию эндоканнабиноидных рецепторов, что вызвано изменением процесса фосфорилирования p38 MAPK. Кроме того, наблюдалось увеличение уровней мРНК для N-ацилфосфатидилэтаноламиновой фосфолипазы [22].

Анализ данных литературы показал, что NAE 20:5n-3 оказывают противовоспалительное воздействие косвенно, повышая уровни других эндогенных каннабиноидов, что в свою очередь, приводит к снижению концентраций провоспалительных цитокинов и улучшению инсулиновой чувствительности через активацию MAPK-сигнальных путей.

NAE 20:5n-3 также проявляет противовоспалительные свойства, предотвращая увеличение продукции TNF- $\alpha$  и IL-6 в культуре микроглии и способствуя поляризации микроглии к фенотипу M2. Однако в отличие от синаптамида, NAE 20:5n-3 не влияет на уменьшение продукции нейротрофического фактора мозга, вызванного LPS. Несмотря на это, NAE 20:5n-

3 эффективно противодействует астроглиозу, вызванному LPS, и поддерживает нормальный уровень долгосрочного потенцирования в гиппокампе при нейровоспалении [197].

N-олеилэтаноламин представляет собой биоактивный эндогенный этаноламид жирной кислоты, который структурно схож с соединениями эндоканнабиноидной системы, но не активирует каннабиноидные рецепторы. В отличие от эндоканнабиноидов, NAE 18:1 подавляет аппетит и регулирует пищевое поведение. Он влияет на размер порции и способствует увеличению интервалов между приемами пищи. NAE 18:1, действуя как лиганд рецепторов PPAR- $\alpha$ , GPR-119 и TRPV1, участвует в регуляции энергетического баланса и контролирует набор веса.

Уровень NAE 18:1 снижается в состоянии голодания, а прием пищи является основным стимулятором его синтеза. NAE 18:1 участвует в регуляции множества биологических функций, включая нейропротективные эффекты при нейродегенеративных расстройствах, таких как болезнь Паркинсона и церебральная ишемия. Он также снижает уровни воспалительных цитокинов, улучшает настроение и укрепляет память. NAE 18:1 является эндогенным агонистом рецепторов, активирующих пролиферацию пероксисом альфа и демонстрирует выраженное нейропротективное действие [205].

Кроме того, NAE 18:1 влияет на рецепторы врожденного иммунитета и уменьшает окислительный стресс, обеспечивая защиту кишечного барьера и модулируя ось кишечник-мозг [147].

В исследованиях Laleh P. et al. (2018) было показано, что включение в диету NAE 18:1 ведет к значительному снижению аппетита и индекса массы тела у людей, страдающих ожирением [106]. О взаимосвязи индекса массы тела с высоким содержанием олеиновой кислоты в рационе питания свидетельствуют многочисленные клинические исследования. Появляются новые данные о том, что NAE 18:1 действуют опосредованно путем модуляции липидного обмена и потребления энергии. Было показано, что NAE 18:1 стимулирует поглощение жирных кислот, липолиз и  $\beta$ - окисление, а также способствует контролю

потребления пищи. Было продемонстрировано, что данные механизмы действия NAE 18:1 обусловлены активацией PPAR $\alpha$  и стимуляцией блуждающего нерва через рецептор TRPV1 [32].

NAE 16:0 является распространённым представителем N-ацилэтаноломинов насыщенных жирных кислот. Ранние клинические испытания NAE 16:0 показали, что это соединение снижает заболеваемость острыми респираторными инфекциями. По результатам исследований NAE 16:0 обладает противоболевым эффектом у больных с нейропатической болью и ревматоидным артритом. Сообщалось, что помимо боли NAE 16:0 оказывает потенциально благоприятное воздействие при самых разных состояниях, начиная от депрессии (в качестве дополнения к циталопраму) и заканчивая системной эндотелиальной дисфункцией при глазной гипертензии [166].

Сегодня NAE 16:0 продается как пищевая добавка. Были проведены многочисленные клинические испытания NAE 16:0 демонстрирующие, что в целом NAE 16:0 вызывает мало нежелательных побочных эффектов и является перспективным средством в качестве анальгетика [73].

Подводя итог анализу данных литературы, можно заключить, что N-ацилэтаноломины, образованные из полиненасыщенных жирных кислот, представляют собой перспективные липидные биомодуляторы. NAE способны регулировать системные воспалительные процессы как путем модуляции продукции провоспалительных цитокинов, так и являясь предшественниками для образования липидных сигнальных молекул проразрешающего действия. Учитывая ограниченные данные о месте NAE в регуляции системного воспаления при БА, необходимы дальнейшие исследования противовоспалительных эффектов этих липидных медиаторов, что позволит расширить представления о молекулярных механизмах их воздействия на воспалительные процессы при бронхиальной астме.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общая структура исследования

В исследовании приняли участие 145 человек. Из них 97 больных БА легкой степени тяжести составили группу наблюдения, в том числе 36 мужчин (37,1%) и 61 женщина (62,9%) (рис. 6).

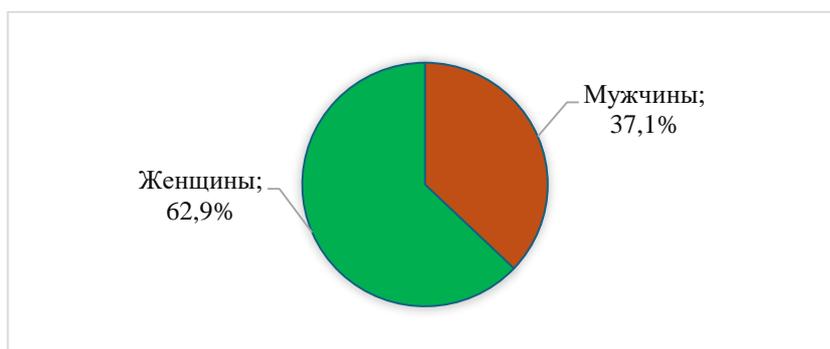


Рисунок 6 – Гендерная структура пациентов с БА (% от общего числа)

Условно здоровые лица (48 человек) включены в контрольную группу. Группы были сопоставимы по возрасту и полу участников. Дизайн исследования представлен на рисунке 7.

*Критерии включения в исследование:* возраст обследуемых от 18 до 65 лет, БА легкой степени тяжести, контролируемое или частично контролируемое течение.

*Критерии исключения из исследования:* БА средней или тяжелой степени, неконтролируемое течение; оверлап синдром БА и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ); профессиональные заболевания бронхолегочной системы; эндокринные заболевания; алиментарно-конституционное ожирение III-IV степени; сердечно-сосудистые заболевания (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь) и их осложнения; заболевания внутренних органов в стадии декомпенсации.

Диагностика заболеваний осуществлялась в соответствии с «Глобальной стратегией по лечению и профилактике астмы» (GINA, 2020–2023) [80], а также «Глобальной стратегией по лечению и профилактике ХОБЛ» (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, GOLD, 2020–2023) [81]. Классификация заболеваний производилась в соответствии с Международной классификацией болезней десятого пересмотра (МКБ-10). Дизайн исследования представлен на рисунке 7.



Рисунок 7 – Дизайн исследования

## 2.2. Материал исследования

Материалом исследования явилась медицинская документация – электронные истории болезни, анкеты тематических больных.

Для исследования использовался биологический материал обследуемых (цельная кровь, плазма), экспериментальные вещества N-ацилэтаноламины жирных кислот NAE 20:4n-6 (фирма Sigma-Aldrich), NAE 20:5n-5 и NAE 22:6n-3 (синтезированные в лаборатории фармакологии ФГБНУ "Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского" ДВО РАН).

### 2.3. Клинические и функциональные методы исследования

Диагностика заболевания базировалась на данных анамнеза, физикального обследования, результатах инструментальных и лабораторных исследований. Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводили на аппарате Спирометр Easy One Pro. Спирометрия проводилась по стандартной методике в соответствии с методическим руководством Российского респираторного общества «Спирометрия» (2021). Оценивали жизненную ёмкость лёгких (ЖЕЛ), форсированную жизненную ёмкость лёгких (ФЖЕЛ), объём форсированного выдоха за первую секунду ( $ОФВ_1$ ), процентное соотношение  $ОФВ_1$  к ЖЕЛ ( $ОФВ_1/ЖЕЛ$ ) и  $ОФВ_1$  к ФЖЕЛ ( $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ ).

Субъективное состояние пациентов и степень контроля астмы оценивали с помощью валидизированного опросника, состоящего из пяти вопросов – тест ACQ-5 (Asthma Control Questionnaire). Каждый вопрос оценивается по 5-балльной шкале, сумма баллов делится на общее число вопросов. Количество баллов до 0,75 свидетельствует о контролируемой БА, количество баллов от 0,75 до 1,5 – о частично контролируемой астме, количество баллов более 1,5 — неконтролируемой БА.

### 2.4. Биохимические и иммунологические методы исследования

*Газовая хроматомасс-спектрометрия жирных кислот.* Экстракцию липидов для аналитических целей проводили из плазмы крови смесью хлороформ–метанол, 1:2 (по объему) согласно методу Blight и Dyer [29]. Для определения концентрации жирных кислот измеряли содержание их метиловых эфиров (МЭЖК), полученных по методике Carreau и Duback (1978) [39]. Хроматомасс-спектрометрию МЭЖК проводили на хроматографе GC-17A (Shimadzu, Япония) с пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой Supelcowax 10 (Supelco, США) при температурах термостата 190 °С, инжектора и детектора 240 °С. Идентификацию пиков МЭЖК проводили по

временам удерживания индивидуальных жирных кислот. Результаты выражали в процентах от общей суммы ЖК [39].

*Высокоэффективная жидкостная хроматография эндогенных этаноламидов жирных кислот.* Количественное определение NAE жирных кислот в плазме крови проводили на базе лаборатории сравнительной биохимии «Национального научно-исследовательского центра морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН. Экстракцию липидов из плазмы осуществляли по методу Blight и Dyer [29] после добавления в образцы плазмы внутреннего стандарта NAE 22:0. Липиды растворяли в 1 мл охлаждённого хлороформа, продували аргоном и хранили при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа.

Для анализа N-ацилэтанололаминов применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с последующей масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС). Использовалась аналитическая колонка Ascentis C18 (размеры  $2.1 \times 292$  мм, длина 100 мм, размер частиц 3 мкм, производитель Supelco, США) в сочетании с масс-спектрометром LC-MS 8060 (Shimadzu, Япония). Процесс ионизации осуществлялся в электрическом поле с целью регистрации положительно заряженных ионов. Для анализа смеси применяли метод мониторинга множественных реакций (MRM). Параметры ионного источника были следующими: температура интерфейса –  $380^{\circ}\text{C}$ , температура линии десольватации —  $250^{\circ}\text{C}$ , поток распыляющего газа ( $\text{N}_2$ ) — 3 л/мин, расход газа-осушителя ( $\text{N}_2$ ) — 3 л/мин, расход греющего газа (сухого воздуха) — 17 л/мин. Регистрация масс-спектров осуществлялась для следующих молекулярных ионов и их фрагментов:  $300 \rightarrow 62$  для NAE 16:0;  $326 \rightarrow 62$  для NAE 18:1;  $348 \rightarrow 62$  для NAE 20:4n-6;  $372 \rightarrow 62$  для NAE 22:6n-3;  $384 \rightarrow 62$  для внутреннего стандарта (22:0-NAE). Анализ содержания каждого N-ацилэтанололамина в образцах сыворотки крови проводился с использованием программного обеспечения LabSolution (Shimadzu, Япония). Для оценки концентрации использовали сравнение площади пиков в масс-спектре анализируемого образца с площадью пика внутреннего стандарта.

*Иммуноферментный анализ оксипинолов и цитокинов.* Уровни цитокинов в плазме крови и супернатанте измеряли на автоматизированном анализаторе Evolis

Twin Plus (Bio-Rad, США). Для определения содержания интерлейкина-2 и -10 использовали наборы реагентов Вектор-Бест (Россия), интерлейкина-4, -6, -17A, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  – наборы ООО «Цитокин» (Россия).

Оксилипины 5-, 12-, 15-, 18-HEPE, TxB<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, LXA<sub>4</sub> и LTB<sub>4</sub> выделяли на миниколонках Minicolumns for Sample Preparation (США). Их количественное определение осуществляли с использованием тест-системы Biotrak EIA system от «Amersham Biosciences» (Великобритания).

## 2.5. Экспериментальные исследования *in vitro*

Для исследования дозозависимого эффекта N-ацилэтаноломинов полиненасыщенных жирных кислот на секрецию цитокинов и синтез липидных медиаторов использовали венозную кровь от 49 пациентов с лёгкой формой бронхиальной астмы и 37 здоровых добровольцев. Забор крови осуществляли утром натощак в стерильные пробирки с ЭДТА и к 9 мл крови добавляли среду RPMI 1640 в соотношении 1:5. Иммунный ответ в биоматериале стимулировали путем добавления липополисахарида (LPS серотип 0111:B4, фирмы Sigma-Aldrich) в концентрации 10 мкг/мл и инкубированием его в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 30 минут в режиме плавного перемешивания (CO<sub>2</sub> -инкубатор EC160 (Nuve, Турция). Затем вносили экспериментальные вещества NAE 20:4, NAE 20:5, NAE 22:6 в концентрациях 1,0; 3,0; 5,0 и 10,0  $\mu$ M и инкубировали при 37<sup>0</sup>С в течение 6 часов в режиме плавного перемешивания (метод получения N-ацилэтаноломинов n-3 ПНЖК описан в Latyshev, et al. 2014; Tyrtysynaia, 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 после инкубации с LPS, но без экспериментальных веществ. После инкубации биоматериал центрифугировали при 2500 об/мин в течение 15 минут. Дизайн эксперимента представлен на рис. 8.



Среди обследованных лиц преобладали люди трудоспособного возраста от 41 до 60 лет (средний возраст 49 (42; 56) лет) (рис. 10).

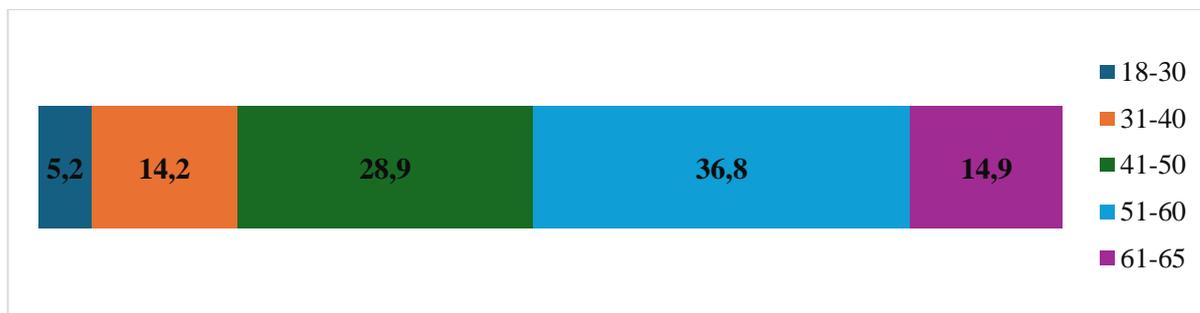


Рисунок 10 – Распределение больных БА по возрасту (% от общего числа)

На отягощенную наследственность по БА или атопии указывали 55,7 % обследуемых (54 человек). Длительность основного заболевания у 69 человек (71,1 %) составила менее года, у 16 человек (16,5%) – свыше одного года, а 12 пациентов (12,4%) отмечали симптомы астмы более 5 лет.

Больные проходили курс базисной терапии, включающей применение фиксированной комбинации ингаляционных глюкокортикостероидов (будесонид в дозировке от 200 до 400 микрограммов в сутки) совместно с  $\beta$ 2-адреномиметиками длительного действия, в частности формотеролом. Данные подходы соответствуют рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (GINA, 2021) и национальным клиническим протоколам лечения бронхиальной астмы [5, 80].

У обследованных пациентов определялся разный уровень контроля БА (таблица 1).

На частично контролируемое течение БА указывало наличие эпизодов непродуктивного кашля в дневное время у 65% пациентов. Реже встречался продуктивный кашель с выделением мокроты, в 35% случаев. Ощущение дефицита воздуха отмечали 51,4% больных, а применение  $\beta$ 2-агонистов короткого действия более двух раз в неделю - 54%. Ночные пробуждения, вызванные симптомами астмы, отмечались у 43,2% обследуемых. Как показано на рисунке 11, данные опросника ACQ-5, отражающие субъективные симптомы заболевания

за последнюю неделю, составили 1,16 балла.

Таблица 1 – Частота встречаемости симптомов у пациентов с разным уровнем контроля БА

Показатели	Группа здоровых лиц, n = 48	Пациенты с контролир. БА, n = 60	Пациенты с частично контролир. БА, n = 37
Кашель сухой	0/0	8 / 13,3	24 / 64,9
Кашель влажный	0 / 0	0 / 0	13 / 35,1
Чувство нехватки воздуха	0 / 0	9 / 15	19 / 51,4
Одышка,	0 / 0	9 / 15	20 / 54
Потребность в КДБА больше 2 раз в неделю	0 / 0	0 / 0	20 / 54,0
Потребность в КДБА реже 2 раз в неделю	0 / 0	11 / 18,3	0 / 0
Ночные симптомы (пробуждения)	0 / 0	0 / 0	16 / 43,2

Примечание: показатели представлены в виде абс. число / % от кол-ва в подгруппе

На контролируемое течение БА указывало наличие эпизодов непродуктивного кашля в дневное время у 13% пациентов, ощущение дефицита дыхания и потребность в применении  $\beta$ 2-адреномиметиков короткого действия реже двух раз в неделю у 18,3% больных (табл. 1). Показатель опросника ACQ-5 составил 0,45 балла (рис. 11).

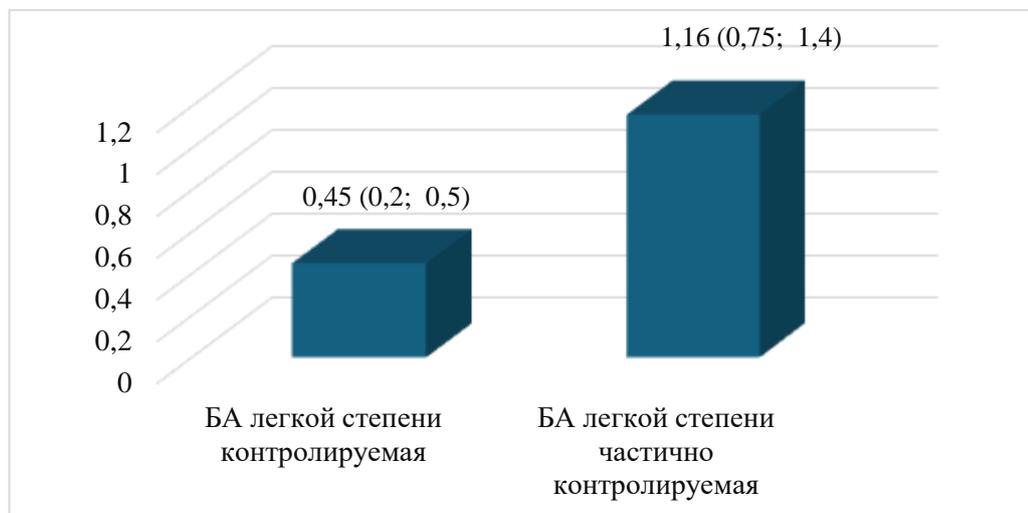


Рисунок 11 – Показатель опросника ACQ-5 у обследованных больных, n = 97, (Me (Q 25; Q75))

Анализ сопутствующих заболеваний показал, что у пациентов независимо от степени контроля симптомов преобладала аллергопатология, в виде аллергического ринита, аллергического дерматита, поллиноза и др. – 61,7 % (37 чел.) с контролируемой и 64,9% (24 чел.) с частично контролируемой астмой (табл. 2).

Таблица 2 – Сопутствующая патология у пациентов с БА

Сопутствующая патология	Пациенты с контролируемой БА, n = 60		Пациенты с частично контролируемой БА, n = 37	
	абс.	отн., %	абс.	отн., %
Аллергопатология (ал. ринит, ал. дерматит и др.)	38	63,3	23	62,2
Хронические очаги инфекции респираторного тракта (хр. тонзиллит, хр. гайморит)	15	25	18	48,6
Хронические вирусные инфекции (хр. герпесвирусная инфекция)	3	5	5	13,5
Сердечно-сосудистые заболевания (ГБ I-II ст.)	2	3,3	3	8,1
Заболевания желудочно-кишечного тракта (хр. гастрит, дискинезия желчев. путей, ГЭРБ и др.)	20	33,3	14	37,8
Заболевания почек (хр. пиелонефрит)	2	3,3	3	8,1
Нарушения обмена веществ (ожирение I ст., избыточная масса тела)	8	13,3	4	10,8

Следует отметить, что при частично контролируемом течении БА хронический тонзиллит и гайморит встречались чаще в 2 раза, а герпетическая инфекция – 2,7 раз, чем при контролируемом течении. Заболевания сердечно-сосудистой системы, мочевыводящих путей и обмена веществ, рассматриваемые как коморбидные состояния, выявлялись у пациентов с частично контролируемой и контролируемой астмой с одинаковой частотой.

Функцию внешнего дыхания у пациентов с БА оценивали по показателям спирографии (табл. 3).

Таблица 3 – Показатели функции внешнего дыхания обследуемых пациентов с бронхиальной астмой до пробы с бронхолитиком (ЖЕЛ, ФЖЕЛ и ОФВ1 указаны в % от должного, остальные показатели в %)

	ЖЕЛ	ФЖЕЛ	ОФВ1	ОФВ1/ФЖЕЛ	ОФВ1/ЖЕЛ
Группа контроля, n = 48	108,7 (96,7; 120,4)	109,1 (98,7; 120,5)	104,2 (94,7; 111,6)	78,7 (74,5; 85,2)	77,6 (73,1; 83,4)
Пациенты с контролируемой БА, n = 60	102,5 (98,8; 111,2)	103,7 (101,7; 108,6)	97,4 (89,9; 110,3)	75,9 (73,4; 88,6)	77,5 (70,6; 85,7)
Пациенты с частично контролируемой БА, n = 37	95,1 (91,8; 102,4)	91,4 (88,6; 98,4)	95,6 (89,5; 106,2)	77,2 (71,7; 87,8)	78,6 (69,9; 81,7)

У пациентов с частично контролируемой и контролируемой БА, а также у здоровых лиц отсутствовали статистически значимые различия в спирометрических параметрах. Анализ функции внешнего дыхания с применением бронхолитической пробы показал, что у 48,6% пациентов с частично контролируемой БА (18 из 37 участников исследования) наблюдалась постбронходилатационная обратимость спирометрических показателей. Так, объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) увеличился в среднем на 12,5% (с интерквартильным размахом 12; 14) и на 215 мл (с интерквартильным размахом 210; 230). У всех пациентов с БА показатели пикового экспираторного потока находились в пределах «зеленой зоны», что свидетельствует о нормальных значениях, однако отмечался разброс значений пикового выдоха до 20%.

Экспериментальные исследования проводились *in vitro* с участием биологического материала (цельная кровь) 49 больных БА легкой степени тяжести, контролируемого и частично контролируемого течения и 37 условно здоровых добровольцев.

## 2.7. Методы статистического анализа

Для статистической обработки данных был применен программный продукт Statistica версии 10.0 (Stat Soft, США). Количественные данные были описаны с использованием медианы (Me) и интерквартильного размаха, определяемого как разница между 25-м и 75-м перцентилями (Q25 и Q75 соответственно). В связи с тем, что распределение данных в большинстве исследуемых групп не соответствовало нормальному, для статистического анализа межгрупповых различий был использован непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Для корректировки уровня значимости при множественных сравнениях была применена поправка Бонферрони. Статистическая значимость различий была определена при уровне значимости  $p < 0,05$ .

вклада жирных кислот и N-ацилэтаноламинов в процесс формирования воспалительной реакции

Для оценки взаимодействия цитокинов с составом ЖК и эндогенным синтезом их производных НАЕ использовали методику Веремчук Л.В. и соавт, (2022). Проводили отбор парных корреляций «r» при  $p < 0,05$ . Рассчитывали по формуле показатель интегральной сопряженности (D) с использованием статистически значимых корреляционных связей «r» ( $p < 0,05$ ), фактическая величина которых суммировалась и определялось их соотношение к максимальной сумме корреляционных связей при  $R=1,0$ :

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

где: D – показатель сопряженности (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 [2]. 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.

### **ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**

#### **3.1. Цитокиновый и оксилипиновый статус у больных легкой бронхиальной астмой**

Как уже упоминалось, ключевым компонентом патогенеза БА является системная воспалительная реакция, в регуляторных механизмах которой участвует большое количество медиаторов воспаления. Они могут вызывать основные клинические проявления бронхиальной астмы, такие как отек слизистой оболочки бронхов, гиперсекрецию слизи, бронхokonстрикцию, бронхиальную гиперреактивность. Среди множества воспалительных медиаторов важная роль при бронхиальной астме принадлежит цитокинам, регулирующим силу и продолжительность воспалительного процесса [31]. Цитокины инициируют привлечение в легкие клеток врожденного иммунитета (нейтрофилов и моноцитов) и адаптивного иммунитета (Т-лимфоцитов) из кровеносного русла. Эти клетки усиливают развитие воспаления через секрецию интерлейкинов и повреждение легочной ткани. Количество и пропорции различных цитокинов определяют механизмы и виды воспалительных реакций при бронхиальной астме, что, в свою очередь, влияет на эффективность лечения данного заболевания [209]. Иммунный ответ, опосредованный Т-хелперными клетками, играет центральную роль в развитии БА [3, 88]. Синтез определённых типов цитокинов влияет на их баланс посредством конкурентных взаимодействий, что определяет риск прогрессирования патологического процесса.

*Уровень цитокинов периферической крови у больных легкой БА.* Проведено сравнение содержания цитокинов в крови здоровых лиц и больных для выявления особенностей цитокинового статуса при легкой БА (табл. 4).

Таблица 4 – Уровни цитокинов в сыворотке крови у больных легкой БА, пг/мл

Группы	INF- $\gamma$	IL-17a	IL-2	IL-10	TNF-a	IL-4	IL-6
Здоровые n=11	113,84 ** [104,91- 123,5]	53,61 *** [50,96- 56,61 ]	3,02 * [2,89-3,13 ]	3,44*** [3,37 - 3,5 ]	3,19 * [2,85 - 3,36]	4,61 [3,97- 4,74]	2,99 *** [2,55- 3,36]
Больные БА n=48	83,73 [79,71 - 88,58]	116,33 [102,68- 128,04 ]	3,61 [3,18 - 3,84]	2,50 [2,07 - 2,91 ]	3,93 [3,64 - 3,99]	5,34 [4,67 -6,78]	5,77 [ 4,93 - 6,08]

Примечания: Здесь и далее результаты представлены в виде медианы и диапазона квартильных значений; статистическая значимость различий показателей между группами определяли с помощью критерия Манна-Уитни: \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

Системное воспаление у больных БА характеризовалось активацией провоспалительных цитокинов. Наибольшее повышение наблюдалось для IL-17A (увеличение на 117%,  $p < 0,001$ ) и IL-6 (на 93%,  $p < 0,001$ ) (рис. 12). Умеренное повышение выработки отмечено для IL-2 (на 20%,  $p < 0,05$ ) и TNF- $\alpha$  (на 23%,  $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями у здоровых лиц. В сыворотке крови пациентов с БА также зафиксирована тенденция к увеличению концентрации IL-4.

Выявлено статистически достоверное снижение уровня INF- $\gamma$  и IL-10 на 26% ( $p < 0,01$ ) и 27% ( $p < 0,001$ ) соответственно в группе пациентов с бронхиальной астмой по сравнению с группой здоровых лиц.

Чтобы определить тип иммунного ответа использовались соотношения ключевых цитокинов, участвующих в формировании T-хелперного пути. В группе здоровых участников соотношение IL-17A и INF- $\gamma$  составило 0,47; IL-17A /TNF- $\alpha$  — 0,06; IL-17A/IL-4 — 11,63. У больных БА эти показатели были увеличены до 1,39; 29,6 и 21,78 соответственно. Таким образом, полученные данные демонстрируют перераспределение основных цитокинов, регулирующих T-хелперные иммунные пути, у больных бронхиальной астмой.

Наиболее выражен дисбаланс в оси IL-17A/INF- $\gamma$  из-за одновременного повышения уровня IL-17A и снижения INF- $\gamma$ , что ведет к активации Th17-типа иммунного ответа.

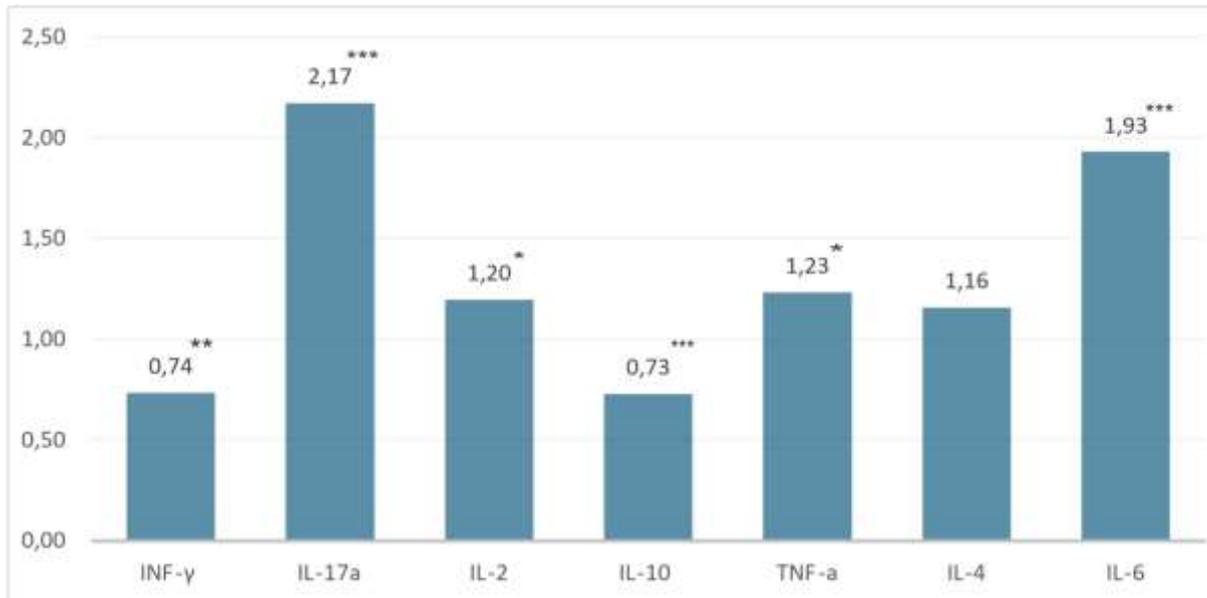


Рисунок 12 – Изменение уровней цитокинов в крови больных легкой БА относительно здоровых лиц (здесь и далее расчет показателей производился относительно уровня цитокинов здоровых лиц, принятого за единицу (y.e)).

**Уровень эйкозаноидов в сыворотке крови у больных легкой БА.** Помимо цитокинов, существенную роль в модуляции воспаления при бронхиальной астме играют окисленные метаболиты полиненасыщенных жирных кислот — оксилипины, также известные как эйкозаноиды. Эти вещества выполняют множество функций в организме, регулируя процессы в иммунной, сердечно-сосудистой и дыхательной системах. Арахидоновая кислота и полиненасыщенные жирные кислоты семейства n-3, служат основными прекурсорами для синтеза эйкозаноидов. Метаболиты арахидоновой кислоты характеризуются значительной провоспалительной активностью, а также способностью вызывать бронхоконстрикцию и вазоконстрикцию. В противоположность этому, эйкозаноиды, образованные из n-3 жирных кислот, обладают либо умеренной провоспалительной активностью, либо демонстрируют противовоспалительные, вазодилатирующие и антитромботические свойства. Важную роль в регуляции воспалительных процессов выполняют простагландины, тромбоксаны и лейкотриены, которые выступают основными медиаторами на ранних этапах воспалительной реакции. Кроме того, появились новые классы биологически активных веществ — липидные медиаторы, отвечающие за разрешение

воспаления, расширяющие горизонты понимания механизмов контроля воспалительных процессов.

Для оценки воспалительной реакции у пациентов с бронхиальной астмой были исследованы уровни образования про- и противовоспалительных эйкозаноидов — метаболитов арахидоновой и эйкозапентаеновой ПНЖК — в сравнении со здоровыми лицами. Изучались следующие соединения: липоксин А4, простагландин Е2, лейкотриен В4, а также представители группы гидрокسيэйкозапентаеновой кислоты – 5-, 12-, 15-, 18-НЕРЕ. Были проанализированы данные 48 пациентов с бронхиальной астмой и 11 здоровых лиц (Табл. 5).

Таблица 5 – Уровень эйкозаноидов в крови больных легкой БА

Показатель, pg/ml	Группа здоровых, n=11	Группа больных БА, n=48
LTB4	398,07 [381,63; 428,60]	508,86 [493,04; 523,10]**
LXA4	205,1 [191,07; 214,53]	234,26 [219,35; 249,34]
PGE2	16,96 [15,32; 17,86]	16,64 [16,29; 19,84]
5-НЕРЕ	46,25 [43,93; 49,18]	32,33 [30,90; 35,40]**
12-НЕРЕ	5,30 [4,79; 5,62]	3,47 [3,29; 3,94]*
15-НЕРЕ	63,16 [61,21; 64,51]	23,22 [19,75; 26,08]***
18-НЕРЕ	444,51 [411,69; 520,22]	258,08 [219,19; 303,38]***

В группе БА было выявлено увеличение уровня провоспалительного медиатора LTB4 на 28% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой контроля. Одновременно наблюдалось существенное снижение концентраций большинства противовоспалительных и проразрешающих оксипинов: на 30% ( $p < 0,01$ ) снизился уровень 5-НЕРЕ, на 35% ( $p < 0,05$ ) – 12-НЕРЕ, на 63% ( $p < 0,001$ ) – 15-НЕРЕ, на 42% ( $p < 0,001$ ) – 18-НЕРЕ (Рис. 13). Эти данные свидетельствуют об истощении пула противовоспалительных медиаторов на фоне усиленного синтеза провоспалительных веществ, что способствует хронизации воспалительного процесса у пациентов с бронхиальной астмой.

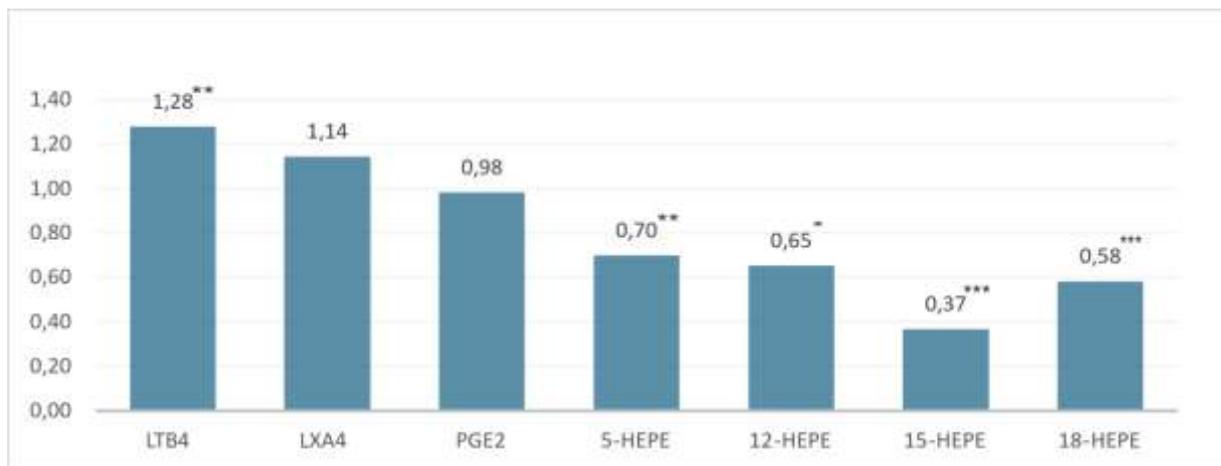


Рисунок 13 – Изменения уровней оксипинов у больных с бронхиальной астмой относительно здоровых лиц (уровни оксипинов здоровых лиц приняты за единицу)

Нарушение баланса в эйкозаноидном цикле при БА может быть вызвано изменением состава и метаболизма ПНЖК, перераспределением образования про- и противовоспалительных их дериватов, что является неблагоприятным признаком дизрегуляции воспалительного процесса и способствует его хронизации.

Выявленное нарушение баланса про- и противовоспалительных медиаторов у пациентов легкой БА диктуют необходимость разработки патогенетически обоснованных методов иммунорегуляции системного воспалительного ответа.

### **3.2. Особенности метаболизма жирных кислот у больных легкой бронхиальной астмой**

#### **3.2.1. Состав жирных кислот плазмы крови и активность их метаболических превращений у больных легкой БА**

Проведен анализ состава ЖК в плазме крови 48 больных БА. Модификация состава ЖК оценивалась относительно показателей условно здоровых лиц (контрольная группа, 11 человек). Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Состав жирных кислот плазмы крови пациентов с легкой 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 ] **
17:0	0,21 [ 0,2 ; 0,24 ]	0,22 [ 0,2 ; 0,24 ]
18:0	6,79 [ 6,47 ; 6,99 ]	6,63 [ 6,1 ; 7,07 ]
Мононенасыщенные ЖК		
16:1n9	0,35 [ 0,34 ; 0,38 ]	0,34 [ 0,31 ; 0,36 ]
16:1n7	1,47 [ 1,15 ; 1,76 ]	1,34 [ 1,28 ; 1,45 ]
18:1n9	18,9 [ 18,36 ; 19,51 ]	14,67 [ 13,91 ; 16,43 ] **
18:1n7	1,57 [ 1,36 ; 1,69 ]	1,58 [ 1,49 ; 1,7 ]
Полиненасыщенные ЖК		
18:2n6	35,8 [ 35,03 ; 36,79 ]	36,68 [ 34,38 ; 37,93 ]
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 ] **
Суммарные показатели ЖК		
Sum насыщенных	29,24 [ 28,2 ; 30,21 ]	31,48 [ 30,23 ; 33,28 ] **
Sum моноеновых	22,21 [ 21,5 ; 22,82 ]	18,24 [ 17,09 ; 19,77 ] **
Sum 20-22n6	7,52 [ 6,54 ; 8,17 ]	8,75 [ 8,27 ; 9,19 ] **
Sum 20-22n3	2,9 [ 2,81 ; 3,32 ]	2,05 [ 1,81 ; 2,25 ] **
Sum n6	43,4 [ 42,08 ; 45,18 ]	45,4 [ 43 ; 47,2 ]
Sum n3	4,02 [ 3,65 ; 4,24 ]	2,48 [ 2,36 ; 2,84 ] **
Sum n6/n3	11,57 [ 10,04 ; 12,44 ]	18,03 [ 15,86 ; 19,49 ] **
Sum 20-22n6/Sum 20-22n3	2,43 [ 2,31 ; 2,6 ]	4,38 [ 3,93 ; 4,8 ] **
20:4n6/20:5n3	8,18 [ 7,57 ; 9,14 ]	14,4 [ 11,1 ; 20,43 ] **

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

В ходе исследования в составе ЖК идентифицировано 39 индивидуальных компонентов – насыщенных, мононенасыщенных и полиненасыщенных, с длиной углеродной цепи от 10 до 24 атомов. В таблицу не включены ЖК, концентрация которых была ниже 0,1%.

Выявлены достоверные ( $p < 0,01$ ) различия в относительном содержании отдельных представителей насыщенных жирных кислот в группе пациентов с БА в сравнении с контрольной группой. Так, в группе пациентов с БА увеличилось относительное содержание миристиновой (14:0) и пальмитиновой (16:0) ЖК. Увеличение доли маргариновой (17:0) ЖК относительно группы контроля достоверных значений не имело. Отмечено достоверное снижение в группе пациентов с БА показателей лауриновой (12:0) и пентадециловой (15:0) ЖК ( $p < 0,01$ ). Суммарный показатель насыщенных ЖК увеличился на 7,11% в группе больных БА ( $p < 0,01$ ).

Среди моноеновых ЖК статистически достоверные различия выявлены для олеиновой (18:1n9), ее доля снизилась у больных в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,01$ ). Доля пальмитолеиновой кислоты (16:1n7) имела тенденцию к снижению у больных. Относительное содержание других моноеновых ЖК у больных при сравнении с группой контроля не изменялось. Анализ суммарного показателя мононенасыщенных жирных кислот показал его достоверное снижение на 17,8% ( $p < 0,01$ ).

Значительные изменения относительно группы контроля обнаружены в относительном содержании полиненасыщенных жирных кислот у больных БА. Выявлена модификация состава минорной кислоты Мида (20:3n9), относящийся к ряду n-9 ПНЖК, ее доля снижалась ( $p < 0,01$ ).

Среди n-6 ПНЖК модификация состава наблюдалась практически для всех представителей семейства. В группе пациентов с БА отмечено увеличение относительного содержания дигомо- $\gamma$ -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% ( $p < 0,05$ ). Изменение уровня

линолевой (18:2n6) ЖК не имело достоверных значений. При увеличении большинства n-6 ПНЖК обнаружено снижение относительного содержания  $\gamma$ -линоленовой (18:3n6) на 42 % ( $p < 0,01$ ) в группе пациентов с БА.

Модификация состава физиологически важных n-3 ПНЖК определялась 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) – также 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% ( $p < 0,01$ ) (табл. 3).

Изменение физиологического баланса жирных кислот может зависеть от эффективности их эндогенной переработки путем процессов десатурации и элонгации, которые контролируются специфическими ферментами.

Проанализированы показатели метаболических превращений ЖК, отражающие активность ферментов десатураз, участвующих в биосинтезе жирных кислот у пациентов в группах наблюдения в сравнении с контролем. Соотношения жирных кислот 16:1n9/16:0 и 18:1n9/18:0 отражают активность фермента  $\Delta 9$  десатуразы, 18:3n6/18:2n6 –  $\Delta 6$  десатуразы, 20:4n6/20:3n6 –  $\Delta 5$  десатуразы (Табл. 7).

Таблица 7 – Показатели метаболических превращений жирных кислот

Показатели	Контрольная группа, n=11	Группа больных БА, n=48
16:1n9/16:0	0,0181 [0,0176; 0,0188 ]	0,01465 [ 0,01299 ; 0,01636 ]**
18:1n9/18:0	2,84 [2,63; 3,01 ]	2,19 [ 2,05 ; 2,48 ]**
18:3n6/18:2n6	0,0088 [0,0074; 0,0105]	0,00516 [ 0,00454 ; 0,00573 ] **
20:4n6/20:3n6	5,24 [4,74; 5,93 ]	4,8 [ 3,97 ; 5,52 ]

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

В группе больных БА выявлено снижение в сравнении с контролем показателей, отражающих биосинтез 16:1n9 и 18:1n9 (p<0,01 для обоих показателей). Значение соотношения 16:1n9/16:0 снизилось на 19%, соотношение 18:1n9/18:0 – на 23%. Аналогичная ситуация выявлена и для соотношения 18:3n6/18:2n6, характеризующего активность  $\Delta 6$  десатуразы. Достоверное снижение (p<0,01) показателя 18:3n6/18:2n6 наблюдалось на 41,3% у пациентов с БА. Изменение показателя 20:4n6/20:3n6, характеризующего активность  $\Delta 5$  десатуразы, достоверных значений не имело. Выявленное снижение показателей метаболических превращений ЖК указывает на угнетение ферментов  $\Delta 9$  и  $\Delta 6$  десатураз у пациентов с БА.

Таким образом, при бронхиальной астме наблюдаются изменения в составе жирных кислот плазмы крови. Эти изменения включают накопление определённых насыщенных жирных кислот, снижение уровня мононенасыщенной олеиновой кислоты и недостаток полиненасыщенных жирных кислот семейства n-3. Помимо этого, у пациентов имеются нарушения в метаболизме ПНЖК и дисбаланс между предшественниками медиаторов с провоспалительными и противовоспалительными свойствами. Такие изменения нарушают регуляцию воспаления при бронхиальной астме.

В патофизиологии БА важная роль отводится производным арахидоновой кислоты, таким как лейкотриены и тромбоксаны. Эти соединения выступают в качестве провоспалительных медиаторов и сильнейших бронхоконстрикторов, вызывая бронхиальную гиперреактивность, отёк дыхательных путей, изменения в секреции слизи и привлечение Th2-клеток в респираторный тракт. В

противоположность им, метаболиты n-3 жирных кислот уменьшают количество провоспалительных цитокинов и прооксидантов, стимулируют экспрессию антиоксидантных ферментов, что приводит к разрешению воспаления. Это наиболее выражено в слизистой оболочке верхних дыхательных путей. Так как разрешение острого воспаления связано с синтезом липидных метаболитов, обладающих противовоспалительным эффектом, соотношение представителей ПНЖК n-6 и n-3 семейств является крайне важным в патогенезе заболевания. Нарушения состава и метаболических превращений ЖК влияют на профиль липидных медиаторов, вызывая дисбаланс в механизмах регуляции воспаления, что влечет за собой переход острого воспалительного процесса в хроническую форму.

### **3.2.2. Содержание N-ацилэтанололаминов жирных кислот в плазме крови больных легкой бронхиальной астмой**

N-ацилэтанололамины и их производные представляют собой класс липидных медиаторов, которые играют важную роль в регуляции различных физиологических и патофизиологических процессов. Как описано в разделе 1.2, N-ацилэтанололамины жирных кислот синтезируются из мембранных фосфолипидов в результате последовательного действия ряда ферментов. При этом существует несколько альтернативных путей их биосинтеза, что подчеркивает сложный биосинтез этаноламинов ЖК в организме. Помимо биосинтеза, важное значение имеют пути гидролиза и деградации N-ацилэтанололаминов, которые приводят к образованию сложных липидных метаболитов с различными биологическими функциями. Механизм действия этих новообразованных метаболитов до конца не изучен [134].

К наиболее изученным этаноламинам жирных кислот относится анандамид – N-ацилэтанололамин арахидоновой кислоты, являющийся основным эндогенным лигандом каннабиноидных рецепторов. Роль этаноламинов других жирных кислот остается до конца не исследована. До сих пор остаются неустановленными точные

механизмы действия N-ацилэтаноломинов эйкозапентаеновой и докозагексаеновой ЖК в сложной цепи воспалительного каскада. Данные N-ацилэтаноломины демонстрируют определённую аффинность как к каннабиноидным, так и к неканнабиноидным рецепторам, что делает их объектом значительного интереса. Они являются одними из наиболее метаболически важных представителей семейства омега-3 в тканях нервной и периферической нервной системы.

В рамках исследования был проанализирован уровень эндогенных N-ацилэтаноломинов в плазме крови как у здоровых участников, так и у пациентов с БА (табл. 8). Идентифицированы следующие этаноламины жирных кислот: N-олеоилэтанолламин (NAE 18:1), N-пальмитоилэтанолламин (NAE 16:0), N-докозагексаноилэтанолламин (NAE 22:6n-3), N-арахидоноилэтанолламин (NAE 20:4n-6) и N-докозагексаноилэтанолламин (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 пальмитиновой кислоты. 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 мононенасыщенного NAE 18:1 в плазме крови зарегистрировано на значительно более низком уровне по сравнению с насыщенным NAE 16:0 и отличалось между группами на 9,2% ( $p < 0,01$ ). Концентрация в плазме крови полиненасыщенных N-ацилэтаноломинов – NAE 20:4n-6 и NAE 22:6n-3 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 (Табл. 8, рис. 14).

Таблица 8 – Уровень N-ацилэтаноломинов и их соотношений в плазме здоровых лиц и больных легкой БА

Показатель, pM/ml	Контрольная группа, n=11	Группа больных БА, n=48
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 20:4n-6	0,08 [0,06;0,09]	0,04 [0,02;0,07]**
NAE 22:6n-3	0,16 [0,15;0,16]	0,1 [0,08;0,14]*
NAE 16:0/20:4n-6	90,79 [76,94;121,72]	90,25 [53,84;122,35]
NAE 18:1/20:4n-6	16,76 [13,01;22,52]	24,93 [17,41;39,41]**
NAE 22:6n-3/20:4n-6	2,06 [1,8;2,41]	2,42 [1,74;4,19]
NAE 18:1/16:0	0,17 [0,16;0,2]	0,27 [0,27;0,3]**
NAE 22:6n-3/16:0	0,022 [0,020;0,024]	0,027 [0,02;0,04]
NAE 22:6n-3/18:1	0,13 [0,12;0,14]	0,1 [0,08;0,13]

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

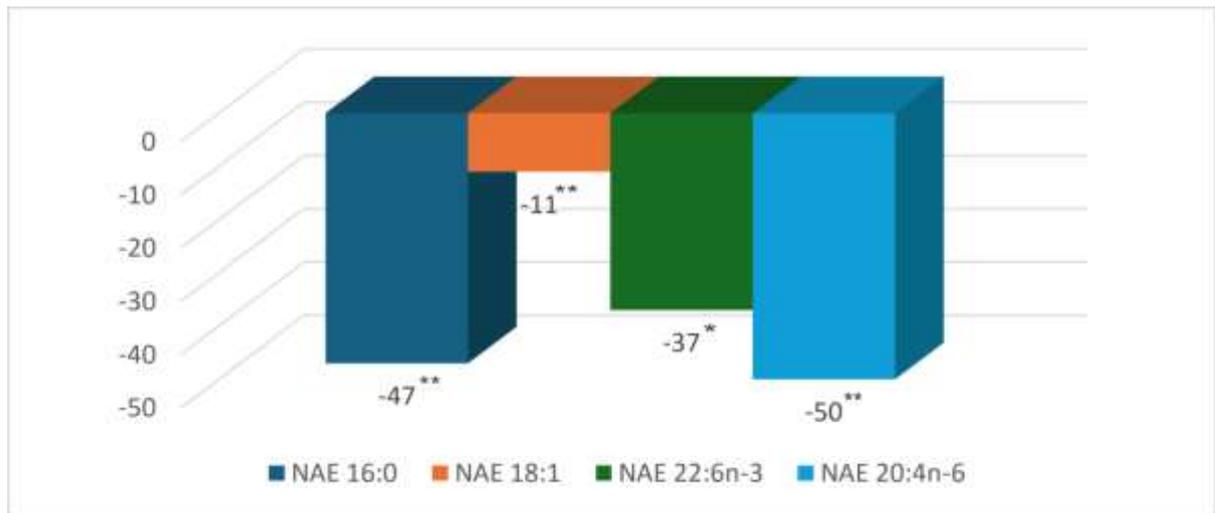


Рисунок – 14. Изменения уровней N-ацилэтаноломинов в плазме крови у пациентов с БА относительно значений в контрольной группе (%). Значения N-ацилэтаноломинов у лиц контрольной группы приняты за 0: \* (p<0,05); \*\* (p<0,01); \*\*\* (p<0,001).

Проанализированы соотношения между отдельными N-ацилэтаноломинами жирных кислот, отражающие нарушение их эндогенного баланса (рис. 15). Различия выявлены только для соотношений NAE18:1/NAE20:4n-6 и NAE18:1/NAE 16:0, наблюдалось увеличение этих показателей на 48% (p<0,001) на 52% (p<0,001) соответственно в группе пациентов с БА. Соотношения количества эндогенных этаноламинов пальмитиновой и арахидоновой ЖК в обеих

группах держались на одном уровне, показатели NAE22:6n-3/NAE16:0, NAE22:6n-3/NAE18:1 и NAE22:6n-3/NAE20:4n-6 так же были аналогичными в обеих группах обследованных.

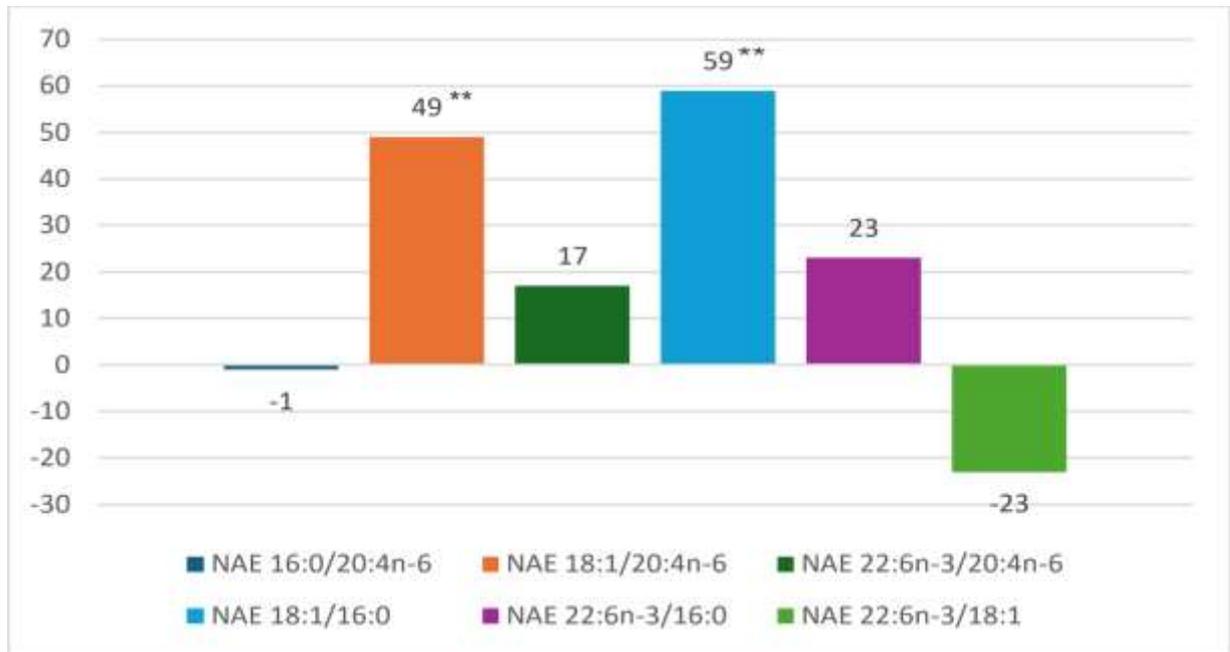


Рисунок – 15. Изменения показателей соотношений N-ацилэтаноломинов у пациентов с БА относительно значений в контрольной группе (%):\* (p<0,05); \*\* (p<0,01); \*\*\* (p<0,001).

Полученные данные свидетельствуют о снижении содержания эндогенных этаноламинов жирных кислот 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 N-ацилэтаноломинов при патологии.

### 3.3. Оценка вклада жирных кислот и эндогенных N-ацилэтаноломинов в формирование системного воспаления у больных легкой бронхиальной астмой

Системная воспалительная реакция при БА характеризуется активацией многочисленных сигнальных путей, которые способствуют ее поддержанию. В

регуляции адаптивных и врожденных иммунных реакций, согласно данным недавних исследований, значимая роль отводится метаболизму липидов. Липидные медиаторы функционируют в качестве центральных регуляторов сигнальных процессов на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Жирные кислоты оказывают влияние на функциональное состояние клеток, индуцируя изменения в эпигенетических механизмах [156, 185]. Это имеет существенное значение, учитывая, что эпигенетические модификации оказывают весомое влияние на патогенез БА [214]. Специфические липидные метаболиты, интегрируя сигналы внешней среды, взаимодействуют с внутриклеточными сигнальными каскадами, регулирующим иммунные реакции клеток. Детализация вклада компонентов липидома в регуляцию системного воспаления предполагает идентификацию наиболее значимых регуляторов.

В ходе работы проведен комплексный анализ вклада жирных кислот и N-ацилэтаноламинов в процесс формирования воспалительной реакции при легкой форме бронхиальной астмы. Исследование включало определение показателя сопряженности (D), который отражает степень реакции цитокинового профиля на изменения в составе ЖК и эндогенный синтез их производных – NAE – у больных (рис. 16). Высокие значения данного показателя указывают на значительный вклад триггерных параметров в функциональные характеристики анализируемого показателя.

***Взаимосвязь модификации состава ЖК с показателями иммунной системы.*** Исследование взаимодействия иммунных и липидных медиаторов при бронхиальной астме выявило, что основное внимание уделяется провоспалительному сигнальному пути. Полученные данные показывают, что показатель D, отражающий взаимосвязь между составом жирных кислот и интерлейкином-17, достигает максимального значения (0,77 у. е.), что указывает на потенциальную патогенность жирнокислотного профиля. Активация Th-17 пути иммунного ответа предполагает возможность хронизации заболевания и повышения устойчивости к терапии. Значимость вклада ЖК в регуляцию иммунного ответа подтверждается величиной индекса D для интерлейкина-10,

составляющего 0,69 у.е. Модуляция секреции данного цитокина влияет на баланс про- и противовоспалительных факторов, и его снижение может привести к дисрегуляции и реполяризации клеточной реакции Т-хелперного типа. Высокое значение D для интерферона- $\gamma$  (0,69 у.е.), может свидетельствовать о том, что при легкой форме БА жирные кислоты также стимулируют Th1 тип иммунного ответа. Интерлейкин-4, уровень продукции которого в патогенезе БА является неблагоприятным прогностическим фактором, демонстрирует значительное взаимодействие с профилем ЖК. Данный цитокин запускает ряд негативных биологических процессов, среди которых активация синтеза воспалительных цитокинов, модификация реполяризации Т-лимфоцитов-хелперов, а также избыточная стимуляция как врожденных, так и адаптивных звеньев иммунного ответа [122]. Среди исследованных цитокинов наименее выраженный ответ наблюдается у IL-2, который участвует в регуляции адаптивного иммунного ответа ( $D=0,08$  у.е.).

Исследование взаимосвязи профиля ЖК с цитокинами выявило, что максимальная реакция иммунного ответа наблюдается по отношению к показателям, отражающим ключевые аспекты дисбаланса и метаболических превращений жирных кислот. Наивысшее значение показателя D (0,86 у.е.) было отмечено для общего показателя n-6 полиненасыщенных жирных кислот (Sum20-22n-6), что указывает на отрицательное влияние увеличения доли этих кислот при астме. Оценка комплексного воздействия показателей, отражающих соотношение про- и противовоспалительных процессов, показала, что основную роль в формировании цитокинового профиля играет преобладание жирных кислот семейства n-6. В частности, показатель D для Sum20-22 n-3 и Sum n-3 составляет 0,14 у.е., в то время как для Sum n-6 он достигает 0,71 у.е. Соотношение n-6 и n-3 ЖК (Sum20-22n-6/Sum20-22n-3) также характеризуется высоким значением D (0,72 у.е.). Кроме того, высокий индекс D наблюдается для насыщенных (Sum. насыщ. ЖК) (0,62 у.е.) и мононенасыщенных ЖК (Sum. мононенасыщ. ЖК) (0,67 у.е.), что свидетельствует о значительном влиянии этих классов жирных кислот на воспалительный ответ.

Один из значимых 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.*** N-ацилэтанололамины являются ключевыми биоактивными регуляторами иммунных процессов. Возможности NAE в регуляции про- и противовоспалительных механизмов определяются специфическим взаимодействием рецепторов и сигнальных путей. Так, NAE регулируют в Т-лимфоцитах митоген-индуцированную пролиферацию клеток, миграцию CD8+ клеток, подавляя Th1/Th17 ответ, индуцируют апоптоз В-клеток, способствуют снижению экспрессии моноцитами различных цитокинов [45, 163]. В свою очередь провоспалительные стимулы способны усиливать синтез NAE в макрофагах [163], что показывает взаимосвязь иммунной системы и активность NAE.

Оценка интегрального индекса взаимосвязей между цитокинами и NAE показала 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 этаноламинов могут способствовать недостаточному сигналингу в регуляции баланса синтеза цитокинов, что способствует нарушению в работе иммунной системы.

Проведенное исследование доказывает, что имеется множество 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-ацилэтаноламинов n-6 и n-3 ПНЖК для регуляции системного воспаления.

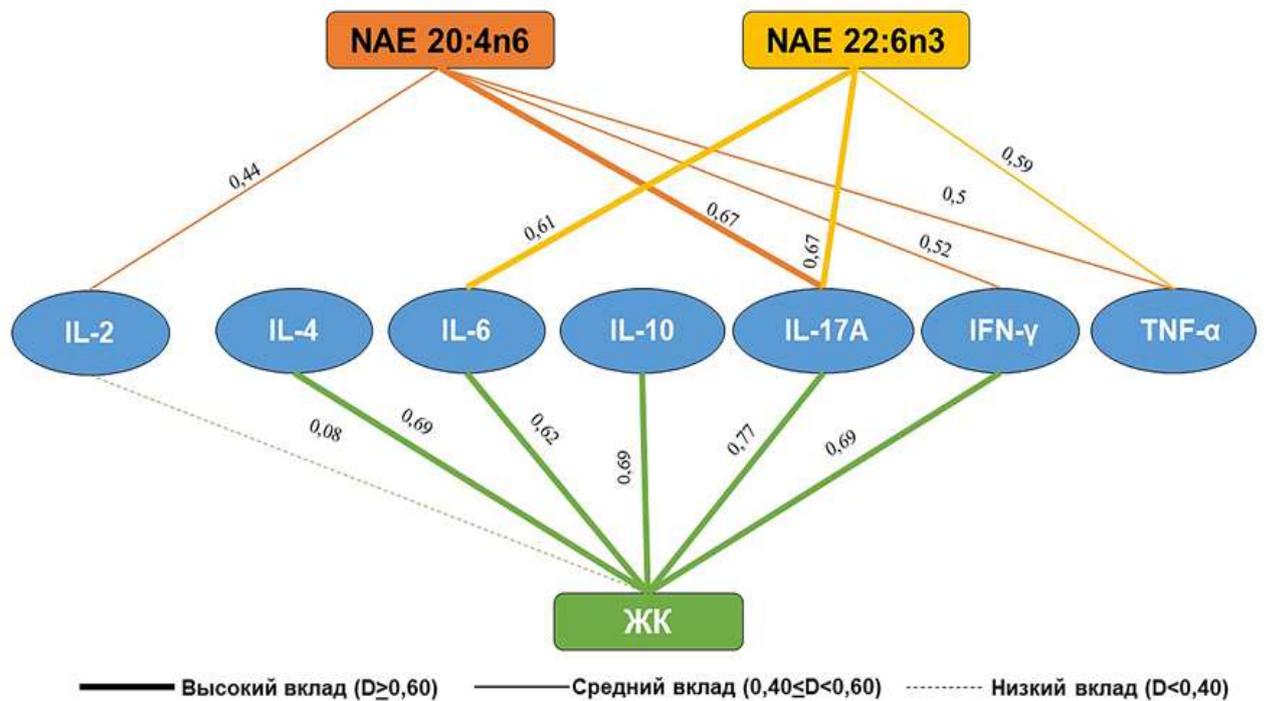


Рисунок – 16. Взаимосвязь компонентов ЖК и N-ацилэтаноламинов с цитокиновым профилем больных легкой БА

## ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ НА СИНТЕЗ ИММУННЫХ МЕДИАТОРОВ ПРИ ЛЕГКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Современные научные данные свидетельствуют о том, что N-ацилэтанолламины полиненасыщенных жирных кислот являются перспективными биорегуляторами иммунной системы. N-ацилэтанолламины в организме человека выполняют разнообразные и важные физиологические функции. Они регулируют иммунные реакции и воспалительные процессы, способствуют поддержанию энергетического баланса, контролируют рост и деление клеток нервной и иммунной систем, а также обладают свойствами, снижающими болевую чувствительность. Такое многообразие возможностей NAE подчеркивает необходимость детализации их роли в регуляции воспалительной реакции при бронхиальной астме, оценить их потенциал как источников ЖК, противовоспалительных и проразрешающих медиаторов для регуляции воспаления в дыхательной системе.

В эксперименте *in vitro* изучалось влияние N-ацилэтанолламинов n-6 и n-3 ПНЖК на синтез воспалительных медиаторов.

### **4.1. Влияние N-арахидоноилэтанолламина (анандамид) на синтез цитокинов и оксипинов клетками крови больных БА**

В условиях *in vitro* в клетках крови 18 пациентов с лёгкой формой бронхиальной астмы изучено влияние N-арахидоноилэтанолламина на продукцию цитокинов и оксипинов (табл. 9 и рис. 17). Исходно у пациентов с БА до добавления NAE 20:4 и инкубации, было обнаружено повышение концентраций TNF- $\alpha$  и IL-8 в 2 раза по сравнению с контрольной группой из 10 здоровых

участников. Кроме того, уровни лейкотриена В<sub>4</sub> и тромбоксана В<sub>2</sub> увеличились на 34% и 22% соответственно, при этом все различия были статистически значимыми ( $p < 0,001$ ). Усиление синтеза провоспалительных медиаторов указывает на наличие системного хронического воспаления при БА и может способствовать ухудшению течения заболевания.

При инкубации клеток крови при 37 °С в течение 6 часов без добавления LPS не наблюдалось изменений в уровнях исследуемых медиаторов (сравнение проводилось с показателями до инкубации). Введение N-арахидоноилэтаноламина в концентрациях 1 мкМ и 3 мкМ не оказало влияния на выработку TNF-α и оксилипинов. Однако при воздействии NAE 20:4 n-6 в дозе 3 мкМ отмечено значимое снижение синтеза IL-8 клетками ( $p < 0,05$ ). При концентрации 10 мкМ NAE 20:4 n-6 существенно повлиял на провоспалительные медиаторы: уровень TNF-α снизился в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), IL-8 — в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ), LTB<sub>4</sub> — в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), TXB<sub>2</sub> — в 1,14 раза ( $p < 0,05$ ). Таким образом, результаты показывают, что NAE 20:4 n-6 в дозе 10 мкМ и частично при 3 мкМ проявляет выраженный противовоспалительный эффект в крови пациентов с БА без стимуляции липополисахаридом.

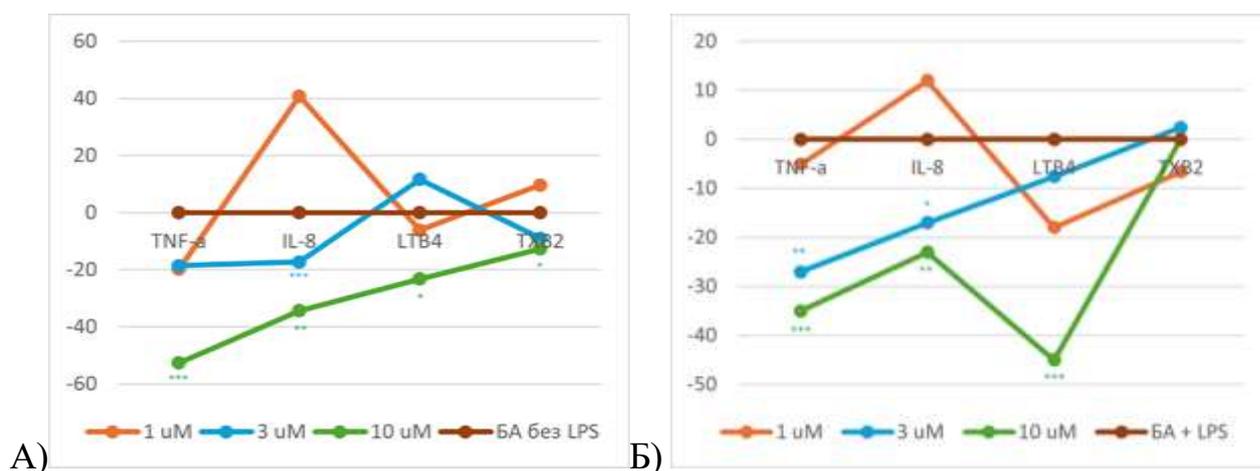


Рисунок 17 – Влияние NAE 20:4n-6 на цитокины и оксилипины плазмы крови больных БА: А) до стимуляции LPS (%), Б) после стимуляции LPS (%): \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

В ходе эксперимента для инициации иммунного ответа в образцы вводили липополисахарид до концентрации 10 мкг/мл, после чего проводили инкубацию при 37 °С на протяжении шести часов. Такая стимуляция иммунных клеток крови

пациентов с лёгкой формой бронхиальной астмы приводила к значительному росту продукции цитокинов и оксипинов, ответственных за развитие острой воспалительной реакции. По завершении нагрузочного теста с LPS и 6-часовой инкубации наблюдалось трехкратное повышение уровня TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$ ), тогда как концентрации IL-8 возросли в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), а показатели LTB<sub>4</sub> и TXB<sub>2</sub> увеличились вдвое ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходными значениями до инкубации с LPS.

В *in vitro* исследовании, направленном на оценку воздействия N-ацилэтаноламина 20:4n-6 на синтез провоспалительных медиаторов, было выявлено, что это соединение проявляет дозозависимое противовоспалительное действие в клетках крови пациентов с бронхиальной астмой, стимулированных липополисахаридом. При концентрации в 1  $\mu$ M N-ацилэтаноламин 20:4n-6 практически не оказывал воздействия на продукцию сигнальных молекул, однако наблюдалась тенденция к снижению уровня LTB<sub>4</sub>. При концентрации 3  $\mu$ M 20:4n-6 способствовал значительному уменьшению уровней исследуемых цитокинов: IL-8 — снизился на 17% ( $p < 0,05$ ), TNF- $\alpha$  на 27% ( $p < 0,01$ ), однако образование эйкозаноидов оставалось неизменным. При концентрации 10,0  $\mu$ M N-ацилэтаноламина 20:4n-6 наблюдалось значительное ингибирующее воздействие на синтез провоспалительных медиаторов иммунных клеток. В присутствии этого соединения уровни IL-8 снижались на 23% ( $p < 0,01$ ), TNF- $\alpha$  уменьшались на 35% ( $p < 0,001$ ), а концентрация LTB<sub>4</sub> снижалась на 45% ( $p < 0,001$ ). В то же время уровень тромбоксана B<sub>2</sub> не изменялся при воздействии 10,0  $\mu$ M NAE 20:4 n-6 после стимуляции LPS, в сравнении с группой контроля.

Был обнаружен значительный дозозависимый противовоспалительный эффект N-ацилэтаноламина арахидоновой кислоты. Он способен регулировать синтез провоспалительных цитокинов и оксипинов иммунными клетками *in vitro* как при отсутствии стимуляции, так и при активации LPS. Однако снижение уровня тромбоксана B<sub>2</sub> наблюдалось исключительно при отсутствии воздействия LPS, когда NAE 20:4n-6 эффективно уменьшал его концентрацию. В условиях усиленной активации иммунной системы с применением LPS уровень TXB<sub>2</sub>

оставался неизменным под влиянием этаноламина арахидоновой кислоты. Это свидетельствует о том, что подавляющее действие NAE 20:4n-6 на синтез провоспалительных липидных медиаторов ограничено при чрезмерно высоком уровне тромбксана B<sub>2</sub>, характерном для острых воспалительных состояний.

Таблица 9 – Уровни цитокинов и оксипинов при воздействии N-ацилэтанолamina арахидоновой кислоты

Группы	TNF- $\alpha$ пг/мл	IL-8 пг/мл	LTB <sub>4</sub> пг/мл	TXB <sub>2</sub> пг/мл
Контрольная (n=10)	2,33 [2,16; 2,45]	2,20 [2,08; 2,27]	12,09 [11,07; 13,03]	63,20 [61,94; 64,73]
<b>Группа больных БА (n=18)</b>				
До эксперимента/ без инкубации	4,77 [4,02; 5,15] ***	4,03 [3,84; 4,20] ***	18,37 [17,68; 19,45] ***	81,46 [77,26; 85,19] ***
<b>Инкубация 6 часов</b>				
<b>Без LPS</b>	<b>5,23 [5,15; 5,29]</b>	<b>3,23 [2,59; 3,94]</b>	<b>21,54 [20,15; 24,51]</b>	<b>79,53 [73,64; 87,87]</b>
1 $\mu$ M NAE 20:4	4,20 [4,06; 4,27]	4,54 [4,44; 4,60]	20,23 [18,65; 22,33]	87,29 [82,18; 93,79]
3 $\mu$ M NAE 20:4	4,26 [4,03; 4,39]	2,68 [2,59; 2,88] <sup>+++</sup>	24,07 [23,48; 25,97]	72,42 [65,85; 79,63]
10 $\mu$ M NAE 20:4	2,49 [2,35; 2,56] <sup>+++</sup>	2,13 [1,94; 2,29] <sup>++</sup>	16,55 [16,35; 16,72] <sup>+</sup>	69,52 [68,88; 70,44] <sup>+</sup>
<b>LPS</b>	<b>14,12 [13,53; 14,70]<sup>^^</sup></b>	<b>9,16 [8,95; 10,46]<sup>^^</sup></b>	<b>36,87 [34,37; 39,32]<sup>^^</sup></b>	<b>168,27 [150,46; 174,84]<sup>^^</sup></b>
LPS+1 $\mu$ M NAE 20:4	13,40 [12,25; 14,74]	10,26 [9,48; 11,07]	30,23 [27,77; 32,19]	157,22 [150,42; 63,92]
LPS+3 $\mu$ M NAE 20:4	10,23 [10,06; 10,38] <sup>###</sup>	7,56 [6,85; 8,43] <sup>#</sup>	34,07 [33,26; 35,67]	172,42 [166,46; 181,74]
LPS+10 $\mu$ M NAE 20:4	9,15 [8,71; 9,70] <sup>###</sup>	7,03 [6,69; 7,55] <sup>###</sup>	20,23 [19,28; 21,44] <sup>###</sup>	169,52 [162,46; 175,90]

Примечание. (\*<sup>+</sup>,<sup>^</sup>,<sup>#</sup>) – статистическая значимость различий: \* - относительно контрольной группы, <sup>+</sup> - относительно результатов после инкубации крови больных, но без LPS; <sup>^</sup> - относительно результатов до (без) инкубации крови больных; <sup>#</sup> - относительно результатов после инкубации крови больных с LPS; (\*<sup>+</sup>,<sup>^</sup>,<sup>#</sup>) – p < 0,05; \*\*<sup>(++)</sup><sup>###</sup>(<sup>^^</sup>) – p < 0,01; \*\*\*<sup>(+++)</sup><sup>###</sup>(<sup>^^</sup>) – p < 0,001.

Полученные в ходе исследования результаты открывают перспективы в разработке таргетных способов коррекции иммунных процессов при легкой БА. Однако необходимо учитывать, что анандамид является лигандом каннабиноидных

рецепторов CB<sub>2</sub>, что обуславливает наличие серьезных побочных эффектов. В связи с этим необходим поиск альтернативных N-ацилэтаноломидов с аналогичными противовоспалительными свойствами, но не обладающих сродством к каннабиноидным рецепторам.

#### **4.2. Влияние N-эйкозапентаеноилэтанололамина на синтез воспалительных медиаторов клетками крови больных легкой БА**

Конъюгаты n-3 ПНЖК с этаноламидами являются перспективным классом липидных медиаторов, способных осуществлять регуляцию различных патофизиологических процессов. В отличие от NAE арахидоновой кислоты, они не обладают сродством к каннабиноидным рецепторам. Известно, что N-ацилэтанололамин эйкозапентаеновой кислоты NAE 20:5n-3 имеет в 4-16,5 раз более слабое связывание с CB<sub>2</sub> по сравнению с анандамидом [134], его основные эффекты осуществляются за счет регуляции семейства G-связанных белковых рецепторов GPR, TRVP1, PPAR, а также за счет большого спектра оксимаболизмов [196].

В условиях *in vitro* проведено исследование влияния N-ацилэтанололамина эйкозапентаеновой кислоты (NAE 20:5n-3) на синтез клетками крови больных БА цитокинов и оксипинонов. В исследование включено 16 пациентов с БА, 15 здоровых лиц составили контрольную группу.

**Влияние NAE 20:5n-3 на синтез цитокинов.** Исходно в группе больных БА в сравнении с группой здоровых лиц 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). Выявленный характер цитокинового статуса свидетельствует о наличии хронического воспалительного процесса у больных БА (табл. 10).

Стимуляция крови липополисахаридом (LPS) вызвала значительное повышение уровней ряда цитокинов по сравнению с контрольными образцами, не подвергавшимися воздействию LPS.

Таблица 10 – Уровни цитокинов до и после воздействия NAE 20:5n-3

Группы	INF- $\gamma$ , пг/мл	IL-17a, пг/мл	IL-2, пг/мл	IL-10, пг/мл	TNF- $\alpha$ , пг/мл	IL-4, пг/мл	IL-6, пг/мл
Контрольная (n=15)	113,84 [104,91; 123,5]	53,61 [50,96; 56,61]	3,02 [2,89; 3,13]	3,44 [3,37; 3,5]	3,19 [2,85; 3,36]	4,61[3,97; 4,74]	2,99 [2,55; 3,36]
<b>Группа больных с БА (n=16)</b>							
До эксперимента/до инкубации	83,73 [79,71; 88,58] **	116,33 [102,68; 128,04] ***	3,61 [3,18; 3,84] *	2,50 [2,07; 2,91] ***	3,93 [3,44; 3,95] *	5,34 [4,67; 6,78]	5,77 [4,93; 6,08] ***
<b>Инкубация 6 часов</b>							
LPS	79,81 [60,47; 92,82]	185,49 [171,47; 198,21] ^^^	3,69 [3,48; 3,86]	1,89 [1,15; 2,78]	133,19 [100,48; 164,02] ^^^	11,04 [10,32; 12,36] ^^	1221 [1217; 1332,58] ^^^
LPS+ 1 $\mu$ M NAE 20:5n-3	76,98 [61,25; 86,41]	174,62 [163,15; 199,11]	3,23 [3,15; 3,56]	1,87 [1,47; 2,41]	141,03 [104,11; 164,17]	13,02 [10,91; 14,35]	1021 [984; 1152]
LPS+ 5 $\mu$ M NAE 20:5n-3	75,32 [60,12; 82,06]	167,36 [154,85; 181,38]	3,41 [3,11; 3,61]	1,81 [1,52; 2,28]	135,02 [87,53; 151,64]	13,50 [11,87; 14,91]	991 [912; 1059] #
LPS+ 10 $\mu$ M NAE 20:5n-3	78,8 [67,36; 88,94]	157,92 [114,98; 168,02] #	3,18 [2,97; 3,34] #	1,85 [1,67; 1,97]	119,38 [94,32; 135,02] #	9,92 [8,53; 11,27]	611 [554; 711] ###

Примечание. Здесь и в таблицах далее (\*, ^, #) – статистическая значимость различий: (\*) – относительно контрольной группы, (^) – относительно группы больных БА; (#) – относительно группы БА+ LPS; \*(^)# –  $p < 0,05$ ; \*\*(^)# –  $p < 0,01$ ; \*\*\*(^)# –  $p < 0,001$

В частности, наблюдалось увеличение IL-17A на 59% ( $p < 0,001$ ), IL-4 – на 107% ( $p < 0,01$ ), TNF $\alpha$  – на 3289% ( $p < 0,001$ ), IL-6 – на 21061% ( $p < 0,001$ ). Изменения уровней других цитокинов оказались несущественными и не достигли статистической значимости. Эти результаты свидетельствуют о сильной активации воспалительных путей в ответ на стимуляцию LPS у пациентов с бронхиальной астмой. Соотношения ключевых цитокинов, участвующих в формировании T-хелперного иммунного ответа, значительно изменились, что, вероятно, связано с активацией Th17-клеток под действием LPS.

При исследовании влияния различных доз NAE 20:5n-3 на клетки крови пациентов после стимуляции LPS были получены следующие результаты. Введение дозы 1  $\mu$ M NAE 20:5n-3 не привело к статистически значимым изменениям, хотя наблюдалась тенденция к повышению уровней TNF $\alpha$  и IL-4, а также снижению IL-17A, IL-6 и IL-2 (Табл. 10, рис. 18a).

Применение N-ацилэтанолamina 20:5n-3 в концентрации 5  $\mu$ M привело к снижению уровня цитокина IL-6 на 19% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с образцами

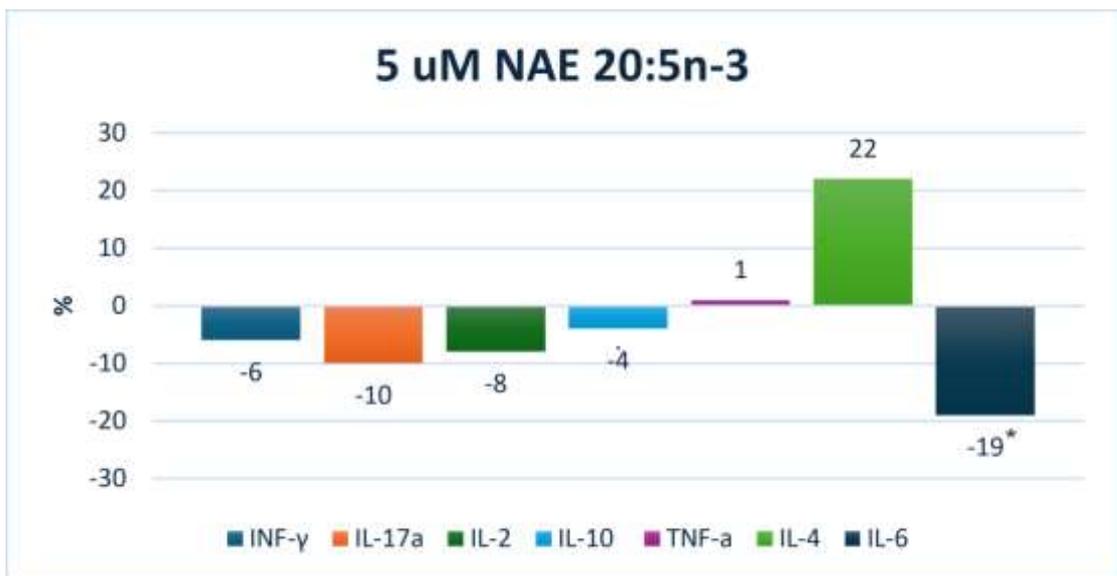
крови, обработанными исключительно липополисахаридом (LPS). Кроме того, наблюдалась склонность к уменьшению уровней IL-17A и TNF $\alpha$  (рис. 18б).

При увеличении дозы NAE 20:5n-3 до 10  $\mu$ M отмечались более выраженные изменения в уровнях цитокинов. Так, концентрация IL-17A снизилась на 15% ( $p < 0,05$ ), IL-2 – на 14% ( $p < 0,05$ ), уровень TNF $\alpha$  уменьшился на 10% ( $p < 0,05$ ), IL-6 – на 50% ( $p < 0,01$ ). Также была отмечена тенденция к снижению уровня IL-4 (рис.18в).

А)



Б)



В)



Рисунок 18 – Изменения уровней цитокинов под воздействием NAE 20:5n-3 в LPS-стимулированной крови пациентов с БА (%). Значения цитокинов в LPS-стимулированной крови приняты за 0: А) доза NAE 20:5 – 1uM, Б) доза NAE20:5 – 5uM, В) доза NAE20:5 – 10uM. Статистическая значимость: \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, в эксперименте *in vitro* на клетках периферической крови больных бронхиальной астмой, стимулированных LPS, был выявлен дозозависимый противовоспалительный эффект NAE 20:5n-3. Наиболее выраженное действие наблюдалось при максимальной дозе 10  $\mu$ M. Данное соединение способно ингибировать синтез провоспалительных цитокинов при бронхиальной астме.

**Влияние NAE 20:5n-3 на синтез оксипинов.** Оксипины играют важную роль в хронизации и разрешении воспалительного процесса, обладая как провоспалительными, так и противовоспалительными и проразрешающими свойствами.

В условиях *in vitro* исследован уровень 5-НЕРЕ, 12-НЕРЕ, 15-НЕРЕ, 18-НЕРЕ, а также PGE<sub>2</sub>, LXA<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub> в плазме крови больных легкой БА и здоровых лиц. Результаты представлены в таблице 11, на рисунке 19.

В проведенном исследовании было обнаружено, что уровень провоспалительного медиатора LTB<sub>4</sub> у пациентов с БА повышен на 28% ( $p < 0,01$ ) по сравнению со здоровыми людьми. Одновременно отмечалось снижение содержания противовоспалительных оксипинов: 18-НЕРЕ уменьшился на 42%

( $p < 0,001$ ), 15-НЕРЕ — на 63% ( $p < 0,001$ ), 12-НЕРЕ — на 35% ( $p < 0,05$ ) и 5-НЕРЕ уменьшился на 30% ( $p < 0,01$ ). Активация синтеза провоспалительных эйкозаноидов на фоне истощения пула проразрешающих липидных медиаторов свидетельствуют о хронизации процесса у больных БА, что не позволяет контролировать системную воспалительную реакцию.

Таблица 11 – Уровни эйкозаноидов до и после воздействия NAE 20:5n-3

Группы	PGE2 pg/ml	LTB4 pg/ml	LXA4 pg/ml	5-НЕРЕ pg/ml	12-НЕРЕ pg/ml	15-НЕРЕ pg/ml	18-НЕРЕ pg/ml
Контрольная (n=15)	16,95 [15,31;17,86]	398,065 [381,63;428,55]	205,08 [191,06;214,52]	46,245 [43,92;49,18]	5,3 [4,79;5,62]	63,11 [61,21;64,51]	444,51 [411,69;520,22]
<b>Группы больных БА (n=16)</b>							
До эксперимента/до инкубации	16,65 [16,29;19,84]	508,85 [493,03;523,10]**	234,29 [219,36;249,35]	32,31 [30,90;35,39]**	3,44 [3,28;3,93]*	23,24 [19,75;26,09]***	258,10 [219,20;303,40]***
<b>Инкубация</b>							
LPS	34,8 [30,76;35,98]^^^	683,5 [662,25;684,72]^^^	243,49 [224,71;305,63]	26,83 [25,85;27,39]^	3,88 [3,26;3,96]	24,60 [22,30;27,67]	202,85 [202,83;223,98]
LPS+ 1 $\mu$ M NAE 20:5n-3	17,09 [17,08;17,41]###	664,77 [614,2;703,57]	301,75 [301,08;303,71]	23,97 [23,76;24,79]	4,25 [4,14;4,57]	32,38 [31,81;33,87]#	294,38 [264,27;315,38]
LPS+ 5 $\mu$ M NAE 20:5n-3	17,1 [17,01;17,18]###	448,12 [389,56;452,27]###	311,83 [278,76;316,6]	28,93 [27,24;29,014]	5,17 [4,98;5,86]##	33,48 [33,42;34,9]#	378,61 [325,57;431,84]##
LPS+ 10 $\mu$ M NAE 20:5n-3	17,49 [16,05;18,49]###	433,96 [420,77;451,98]###	345,76 [338,57;362,86]###	33,68 [33,49;35,21]#	6,83 [5,69;6,99]###	43,09 [42,33;43,25]###	517,65 [487,51;583,62]###

Исследование влияния экзогенных NAE 20:5n-3 на синтез воспалительных медиаторов проводилось на стимулированной LPS крови больных БА. Инкубация клеток крови пациентов с липополисахаридом стимулировала воспалительный ответ: уровни провоспалительных медиаторов  $LTB_4$  и  $PGE_2$  увеличились на 34% ( $p < 0,001$ ) и 109% ( $p < 0,001$ ) соответственно, тогда как содержание 5-НЕРЕ снизилось на 17% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями до стимуляции LPS.

Введение экзогенного NAE 20:5n-3 в концентрации 1  $\mu$ M в LPS-стимулированную кровь пациентов вызвало увеличение количества 15-НЕРЕ на 32% ( $p < 0,05$ ) и снижение  $PGE_2$  на 51% ( $p < 0,001$ ) (рис. 19 а).

В дозе 5  $\mu$ M NAE 20:5n-3 вызывал увеличение уровней проразрешающих липидных медиаторов группы НЕРЕ – 18-, 15- 12-НЕРЕ на 87% ( $p < 0,01$ ), 36%

( $p < 0,05$ ) и 33% ( $p < 0,01$ ) соответственно, одновременно уменьшая содержание провоспалительных  $\text{PGE}_2$  на 51% ( $p < 0,001$ ) и  $\text{LTB}_4$  на 34% ( $p < 0,001$ ) (рис. 19б).

При воздействии  $\text{NAE } 20:5n-3$  в концентрации  $10 \mu\text{M}$  наблюдалась аналогичная тенденция со статистически значимыми изменениями по всему спектру исследованных оксипинов. Отмечалось повышение уровня противовоспалительного  $\text{LXA}_4$  на 42% ( $p < 0,001$ ). Образование оксипинов группы  $\text{NEPE}$  значительно возросло, уровень 18- $\text{NEPE}$  поднялся на 155% ( $p < 0,001$ ), 15- $\text{NEPE}$  – на 75% ( $p < 0,001$ ), 12- $\text{NEPE}$  – на 76% ( $p < 0,001$ ), 5- $\text{NEPE}$  – на 25% ( $p < 0,05$ ). Увеличение уровней провоспалительных и проразрешающих липидных медиаторов происходило на фоне снижения синтеза провоспалительных –  $\text{LTB}_4$  на 37% ( $p < 0,001$ ) и  $\text{PGE}_2$  на 50% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходными значениями до введения  $\text{N}$ -ацилэтаноламина (рис. 19в).

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что этаноламин эйкозапентаеновой кислоты обладает дозозависимыми противовоспалительными свойствами. Уже в самых низких концентрациях ( $1 \mu\text{M}$ )  $\text{NAE } 20:5n-3$  ингибирует образование провоспалительных медиаторов в стимулированной  $\text{LPS}$  крови. Максимальный противовоспалительный эффект этаноламина эйкозапентаеновой кислоты достигается в дозе  $10 \mu\text{M}$ . При этом  $\text{NAE } 20:5n-3$  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  $\text{NAE } 20:5n-3$  в концентрации 5 и  $10 \mu\text{M}$  дозозависимо снижает образование провоспалительных цитокинов ( $\text{IL-17a}$ ,  $\text{IL-6}$ ) клетками крови больных БА. Изменение оксипинового статуса под воздействием этаноламина эйкозапентаеновой кислоты характеризуется снижением содержания  $\text{PGE}_2$ ,  $\text{LTB}_4$  при концентрациях от 1 до  $10 \mu\text{M}$ . Синтез проразрешающих липидных медиаторов (12- $\text{NEPE}$ , 15- $\text{NEPE}$ , 18- $\text{NEPE}$ ) увеличивается при воздействии  $\text{NAE } 20:5n-3$  в концентрациях 5 и  $10 \mu\text{M}$ .

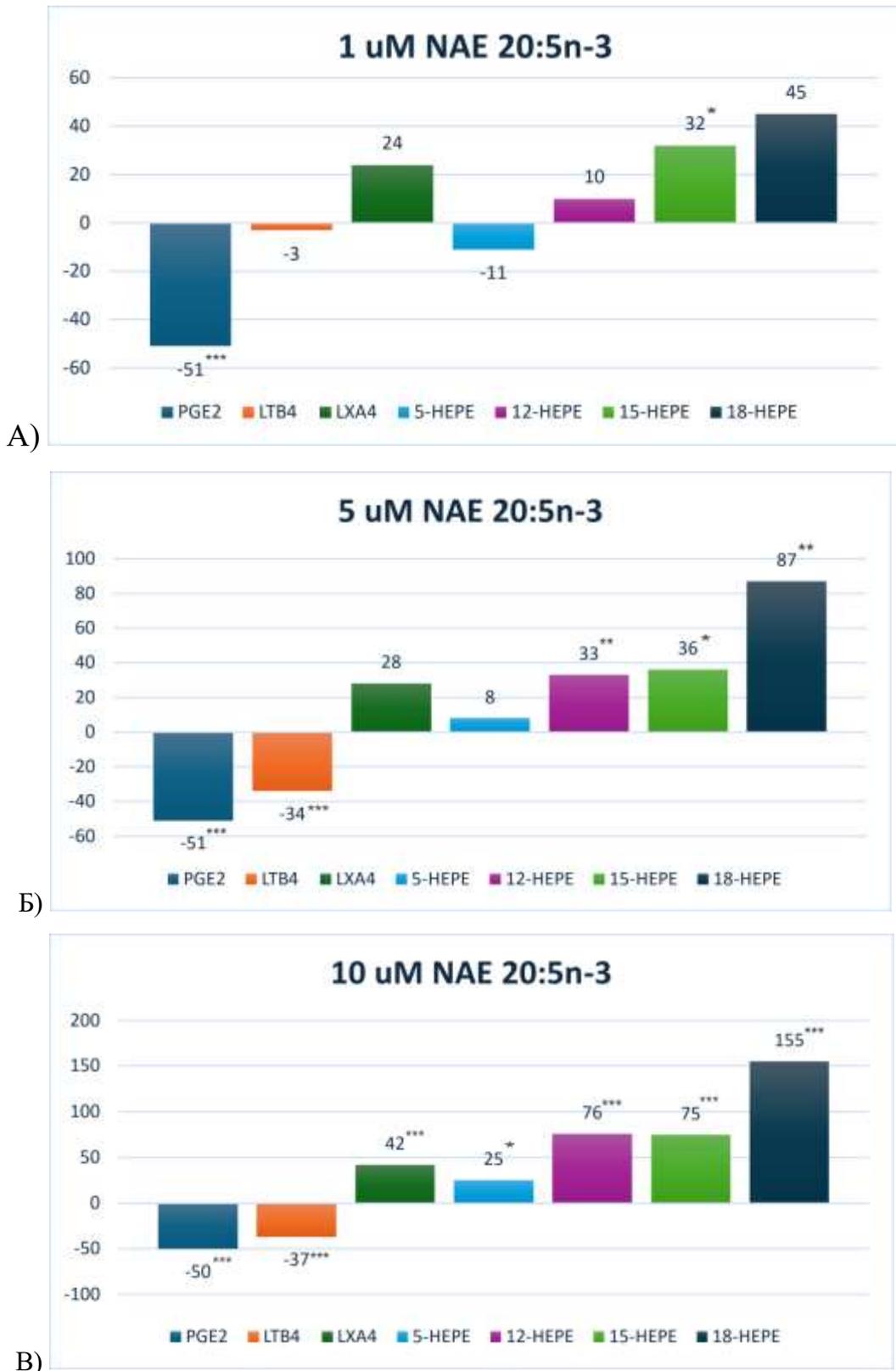


Рисунок – 19. Изменения уровней оксипинов под воздействием NAE 20:5n-3 в LPS-стимулированной крови пациентов с БА (%). Значения оксипинов в LPS -стимулированной крови приняты за 0: А) доза NAE 20:5 – 1uM, Б) доза NAE 20:5 – 5uM, В) доза NAE 20:5 – 10 uM. Статистическая значимость: \* (p<0,05); \*\* (p<0,01); \*\*\* (p<0,001).

Полученные данные свидетельствуют о реализации дозозависимых противовоспалительных эффектов NAE 20:5n-3 посредством регуляции цитокинового и оксипинового звена воспалительного процесса, что может способствовать разработке стратегии коррекции течения бронхиальной астмы и повышению контроля над заболеванием.

#### **4.3. Влияние N-докозагексаеноилэтанолamina (синаптамид) на синтез оксипинов и цитокинов клетками крови больных легкой БА**

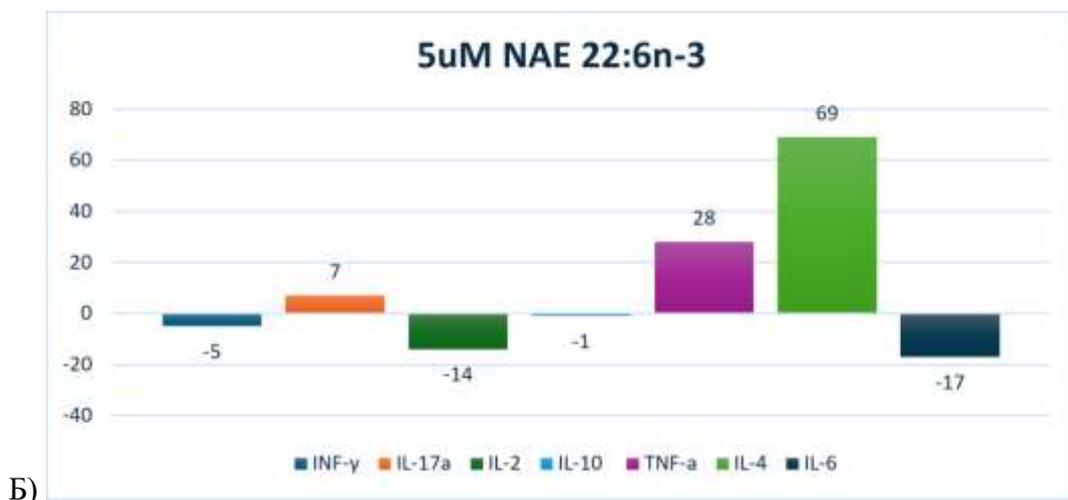
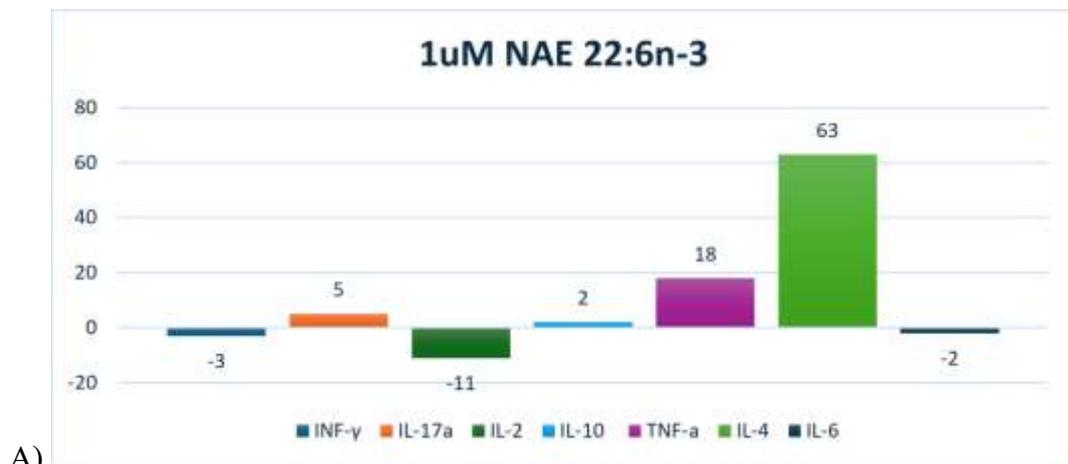
Исследовано в эксперименте *in vitro* влияние синаптамида (NAE 22:6n-3) на синтез клетками крови больных БА цитокинов и оксипинов.

Исходно в группе больных БА выявлено повышение относительно контрольной группы уровней провоспалительных медиаторов IL-17 $\alpha$  (p<0,001), IL-2 (p<0,05), IL-6 (p<0,001), LTB<sub>4</sub> (p<0,01), снижение содержания противовоспалительных INF $\gamma$  (p<0,01), IL-10 (p<0,001), LXA<sub>4</sub> (p<0,01), 5-HEPE (p<0,01), 12-HEPE (p<0,05), 15-HEPE (p<0,001), 18-HEPE (p<0,001) медиаторов, что свидетельствует о наличии системного воспаления у больных БА. Воздействие LPS в условиях *in vitro* на клетки крови больных БА вызвало повышение воспалительного фона: наблюдалось усиление синтеза IL-17 $\alpha$  (p<0,001), TNF- $\alpha$  (p<0,01), IL-4 (p<0,01), IL-6 (p<0,001), PGE<sub>2</sub> (p<0,001) и угнетение выработки LXA<sub>4</sub> (p<0,01) и 5-HEPE (p<0,05) в экспериментальных образцах крови больных БА (табл. 12, 13).

**Влияние NAE 22:6 n-3 на синтез цитокинов.** При воздействии NAE 22:6 в различных дозах (1, 5 и 10  $\mu$ M) на стимулированную кровь изменения в уровнях цитокинов отмечены только для максимальной дозы (10  $\mu$ M) экспериментального вещества. Наблюдалось снижение уровня IL-6 на 22,6% (p<0,01) относительно значений в LPS-стимулированной крови (Табл. 12, рис. 20).

Таблица 12. Уровень цитокинов до и после воздействия NAE 22:6n-3

Группы	INF- $\gamma$ , пг/мл	IL-17a, пг/мл	IL-2, пг/мл	IL-10, пг/мл	TNF-a, пг/мл	IL-4, пг/мл	IL-6, пг/мл
Контрольная (n=12)	113,84 [104,91; 123,5]	53,61 [50,96; 56,61]	3,02 [2,89; 3,13]	3,44 [3,37; 3,5]	3,19 [2,85; 3,36]	4,61 [3,97; 4,74]	2,99 [2,55; 3,36]
<b>Группа больных БА (n=15)</b>							
До эксперимента/до инкубации	83,73 [79,71; 88,58] **	116,33 [102,68; 128,04] ***	3,61 [3,18; 3,84] *	2,50 [2,07; 2,91] ***	3,83 [3,44; 3,95]	5,34 [4,67; 6,78]	5,77 [4,93; 6,08] ***
<b>Инкубация 6 часов</b>							
LPS	79,81 [60,47; 92,82]	185,49 [171,47; 198,21] ^^^	3,69 [3,48; 3,86]	1,89 [1,15; 2,78]	133,19 [100,48; 164,02] ^^^	11,04 [10,32; 12,36] ^^	1221,8 [1217,3; 1332,5] ^^
LPS+ 1 $\mu$ M NAE 22:6n-3	77,48 [59, 84; 85,92]	195,67 [183, 75; 201,48]	3,28 [2,89; 3,53]	1,92 [1,46; 2,31]	156,73 [123,43; 174,84]	17,99 [16,97; 19,79]	1202,6 [1188,4; 1222,7]
LPS+ 5 $\mu$ M NAE 22:6n-3	75,65 [54,48; 83,71]	197,86 [182,46; 204,92]	3,18 [2,80; 3,51]	1,87 [1,54; 2,09]	170,88 [144,63; 189,54]	18,65 [11,45; 20,08]	1014 [967,3; 1224,4]
LPS+ 10 $\mu$ M NAE 22:6n-3	76,81 [55,36; 84,29]	194,8 [184,94, 201,31]	3,36 [3,04; 3,75]	1,86 [1,53; 2,05]	179,82 [150,72; 194,34]	17,42 [11,86; 20,97]	945 [938,5; 1036,7]##



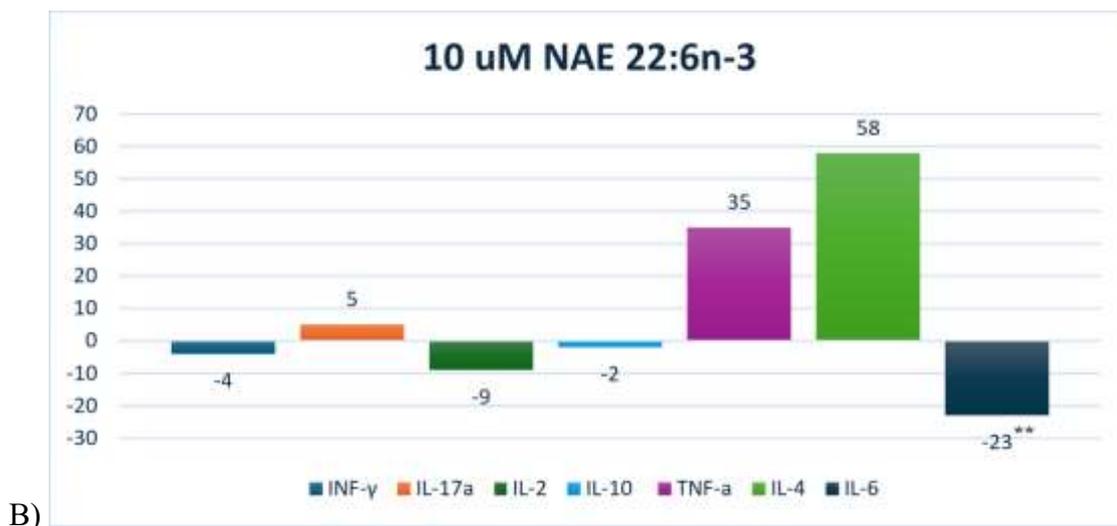


Рисунок 20 – Изменения уровней цитокинов под воздействием NAE 22:6n-3 в LPS-стимулированной крови пациентов с БА (%). Значения цитокинов в LPS-стимулированной крови приняты за 0: А) доза NAE 22:6 – 1 $\mu$ M, Б) доза NAE 22:6 – 5 $\mu$ M, В) доза NAE 22:6 – 10  $\mu$ M. Статистическая значимость: \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

**Влияние NAE 22:6n-3 на синтез оксилипинов.** Воздействие N-ацилэтаноламина 22:6n-3 на иммуноактивированные липополисахаридом клетки крови пациентов с бронхиальной астмой привело к изменениям уровней липидных медиаторов в экспериментальных образцах (Табл.13, рис. 21). Применение NAE 22:6n-3 в концентрации 1  $\mu$ M способствовало снижению уровня провоспалительного медиатора PGE2 на 28,2% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с исходными значениями до введения данного этаноламина у пациентов с БА. При этом уровень 15-НЕРЕ повысился на 145% ( $p < 0,001$ ). Внесение NAE 22:6n-3 в концентрации 5 $\mu$ 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  $\mu$ M NAE 22:6n-3 приводил к уменьшению уровней обоих провоспалительных оксилипинов – LTB4 на 14,6% ( $p < 0,001$ ), PGE2 на 50,2% ( $p < 0,001$ ); при этом наблюдалось увеличение образования LXA4 на 19% ( $p < 0,001$ ), 18-НЕРЕ на 50,6% ( $p < 0,001$ ), 15-НЕРЕ на 163,7% ( $p < 0,001$ ), 12-НЕРЕ на 24,8% ( $p < 0,01$ ), 5-НЕРЕ на 32,3% ( $p < 0,01$ ) в сравнении со значениями до воздействия NAE 22:6n-3.

Таблица 13 – Уровень оксилипинов до и после воздействия NAE 22:6n-3

Группы	5-HEPE pg/ml	LXA4 pg/ml	12-HEPE pg/ml	LTB4 pg/ml	15-HEPE pg/ml	PGE2 pg/ml	18-HEPE pg/ml
Контрольная (n=12)	46,245 [43,92;49,18]	398,065 [381,625;428,55]	5,3 [4,79;5,62]	205,08 [191,06;214,52]	63,11 [61,21;64,51]	16,95 [15,31;17,86]	444,51 [411,69;520,22]
БА до эксперимента (n=15)	31,58 [29,85;34,63]**	307,91 [292,05;322,58]**	3,33 [3,18;3,73]*	233,56 [218,77;248,28]**	22,84 [18,97;25,35]***	15,97 [15,67;18,33]	257,25 [218,18;302,74]***
<b>Инкубация 6 часов для группы БА (n=15)</b>							
LPS	27,04 [26,12;29,21]^	282,51 [261,32;293,68]^^	3,66 [3,19; 3,76]	304,70 [293,63;309,52]	25,01 [22,59;27,89]	35,13 [31,21;36,30]^^^	201,74 [201,34;222,55]
1 $\mu$ M NAE 22:6n-3	25,44 [25,41;25,70]	295,69 [273,59;309,20]	3,09 [3,02; 3,24]	299,47 [278,40;320,15]	60,38 [58,50;61,61]###	24,97 [24,03;25,68]###	212,62 [208,86;217,67]
5 $\mu$ M NAE 22:6n-3	29,86 [29,65;30,41]	308,16 [285,25;324,67]	4,12 [4,00; 4,22]	282,86 [262,99;304,39]	64,13 [60,78;69,35]###	20,17 [19,78;20,63]###	265,71 [261,08;281,87]###
10 $\mu$ M NAE 22:6n-3	35,52 [34,51;37,50]##	337,50 [315,90;343,88]###	4,86 [4,75;4,98]##	261,11 [232,61;280,75]###	64,72 [63,35;66,56]###	17,37 [17,19;7,35]###	305,51 [287,04;307,60]###

Как показали проведенные исследования, воздействие NAE 22:6n-3 в условиях *in vitro* способствует ингибированию синтеза провоспалительных (PGE2, LTB4, 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 в ходе исследования дозозависимый противовоспалительный эффект, проявляющийся в основном изменением синтеза липидных медиаторов, нежели регуляцией цитокинового статуса.

Полученные данные свидетельствуют о дозозависимом противовоспалительном эффекте NAE 22:6 n-3, способном корректировать баланс провоспалительных и противовоспалительных эйкозаноидов, что может быть использовано в фармакологической практике для терапии бронхиальной астмы, повышения контроля над заболеванием.

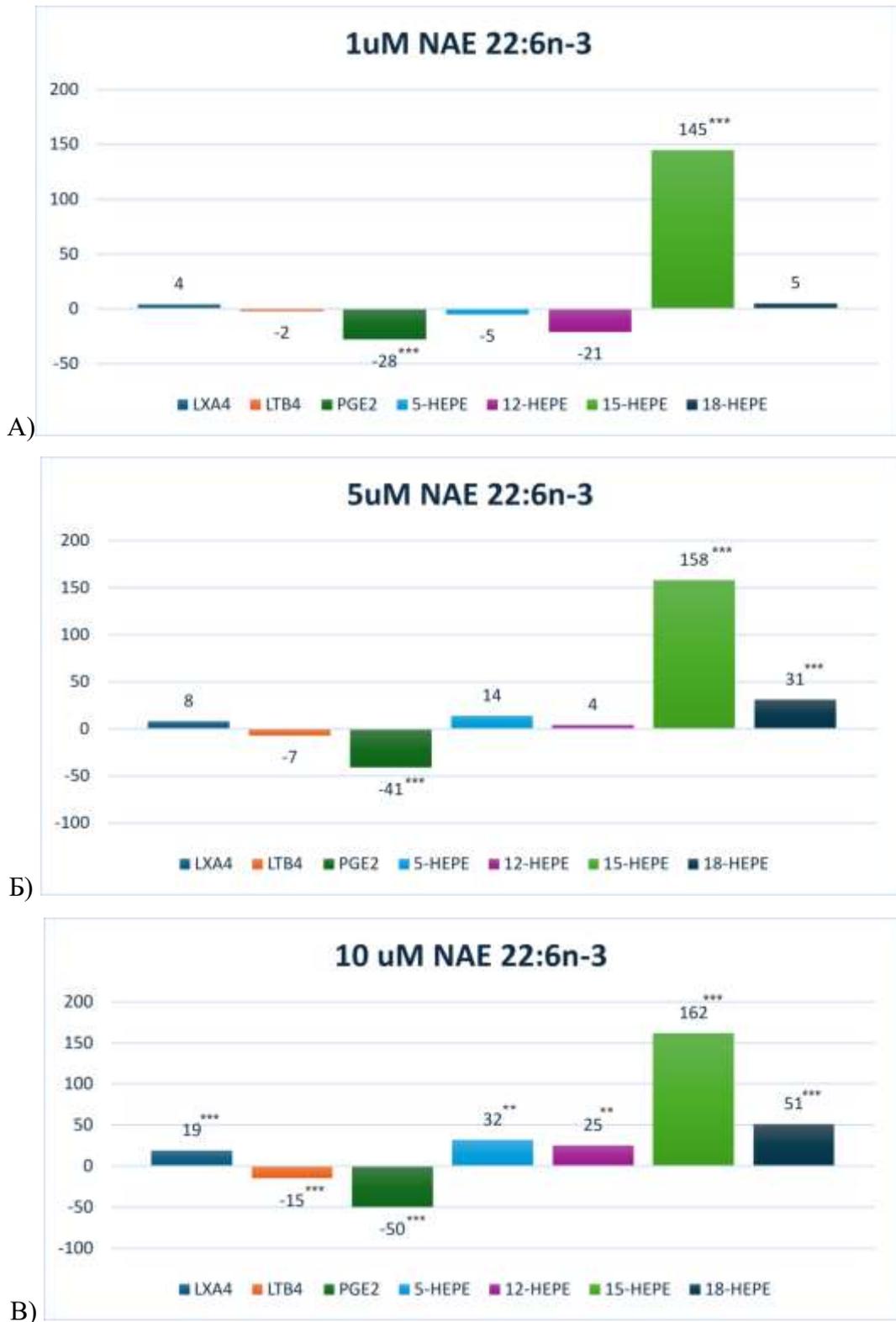


Рисунок 21 – Изменения уровней оксипинов под воздействием NAE 22:6n-3 в LPS-стимулированной крови пациентов с БА (%). Значения оксипинов в LPS-стимулированной крови приняты за 0: А) доза NAE 22:6 – 1uM, Б) доза NAE 22:6 – 5uM, В) доза NAE 22:6 – 10 uM. Статистическая значимость: \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ); \*\*\* ( $p < 0,001$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Бронхиальная астма (БА) в связи со своей гетерогенностью и распространенностью остается важной медицинской проблемой. Несмотря на значительные достижения в изучении этого заболевания, множество механизмов ее патогенеза остаются неясными. Основными особенностями БА являются гиперреактивность бронхов, развитие хронического иммунного воспаления и ремоделирование дыхательных путей [9]. Патофизиологическую основу БА составляет комплексное и многоаспектное хроническое воспаление, включающее воспалительные процессы в дыхательных путях и системное воспаление.

Системное воспаление при БА является патогенетическим механизмом, лежащим в основе обструкции дыхательных путей, регулируется сложной сетью медиаторов иммунной, липоксигеназной и других систем. Характер системной воспалительной реакции при БА легкой степени тяжести и механизмы формирования системного воспаления остаются малоизученными. Основным признаком системного воспаления является накопление в крови больных провоспалительных медиаторов и смещение равновесия в сторону провоспалительных реакций. Длительное присутствие провоспалительных медиаторов в крови поддерживает воспалительную реакцию и ее хронизацию. Угнетение синтеза противовоспалительных медиаторов препятствует разрешению системного воспаления у таких пациентов, что ухудшает течение заболевания и приводит к потере контроля над БА [188, 209]. В связи с этим актуально изучение особенностей системной воспалительной реакции при легкой БА и установление возможности влияния на механизмы хронизации этого заболевания.

Согласно поставленным задачам, изучен характер системной воспалительной реакции у больных легкой БА. Основываясь на современных научных данных, проанализированы как провоспалительные, так и противовоспалительные медиаторы – цитокины (INF- $\gamma$ , IL-17a, IL-2, IL-10, TNF-a,

IL-4, IL-6) и оксипирины (PGE<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>, LXA<sub>4</sub>, 5-HEPE, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE).

Исследования цитокинового профиля показали, что у пациентов с лёгкой БА развитие системного воспаления взаимосвязано с изменением баланса основных цитокинов участвующих в регуляции Т-хелперных путей. Было зафиксировано значительное увеличение концентраций цитокинов IL-17A на 117%, IL-2 на 20%, IL-6 на 93% и TNF- $\alpha$  на 23% по сравнению с контрольной группой. Одновременно наблюдалось снижение уровней IL-10 на 27% и INF- $\gamma$  на 26%. Такой цитокиновый профиль указывает на преобладание иммунного ответа типа Th-17 среди пациентов с лёгкой формой бронхиальной астмы. По данным современной литературы особенностью цитокинов семейства IL-17 является их способность активировать и привлекать в слизистую оболочку бронхов нейтрофилы. В ряде исследований показано, что нейтрофильное воспаление в бронхах, усиливающееся во время астматических приступов, ассоциируется со стероидной резистентностью [37, 86]. Кроме того, повышенные уровни IL-17 в лёгких, мокроте и бронхоальвеолярном лаваже связаны с выраженностью бронхиальной гиперреактивности [66]. Это может объясняться способностью IL-17 усиливать выработку муцина и вызывать гиперплазию бокаловидных клеток в слизистой оболочке бронхов у пациентов с астмой, как показали исследования Chou et al. (2015). Воздействие IL-17 на местные воспалительные процессы осуществляется через стимуляцию производства провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  и G-CSF, а также факторов хемотаксиса нейтрофилов, включая CXCL1 и IL-8. Эти механизмы отвечают за отложение коллагена и ремоделирование дыхательных путей.

В ходе исследования установлено, что усиленная продукция интерлейкина-6 способствует дифференцировке Т-лимфоцитов, оказывая влияние на формирование иммунных ответов CD4<sup>+</sup> Th2 и Th17. Этот процесс ведет к инфильтрации эозинофилов, повышенной секреции слизи и гиперреактивности дыхательных путей. IL-6 вырабатывается не только клетками иммунной системы, но и эпителиальными клетками легких в ответ на воздействие аллергенов, что

играет ключевую роль в патогенезе и прогрессировании астмы. Блокада транссигнализации IL-6 уменьшает количество Th2 клеток и продукцию эффекторных цитокинов, что подтверждает важность IL-6 в воспалительном процессе при астме [52].

IL-10, уровень которого у больных легкой БА оказался пониженным, играет ключевую роль в регуляции врожденного и адаптивного иммунного ответа. Как показано рядом исследователей, IL-10 способствует иммунной толерантности и снижению воспаления [30]. Этот цитокин синтезируется моноцитами, регуляторными T- и B-клетками, натуральными киллерами, макрофагами, дендритными клетками и врожденными лимфоидными клетками. Интерлейкин-10 осуществляет свою биологическую функцию посредством взаимодействия с двумя типами рецепторов – IL-10R1 и IL-10R2. Это взаимодействие инициирует каскад сигнализации, в ходе которого активируются транскрипционные факторы STAT3, STAT1 и STAT5. В результате данного процесса происходит ингибирование продукции медиаторов воспаления, снижение эффективности презентации антигенов и усиление процессов фагоцитоза. Кроме того, IL-10 оказывает регуляторное воздействие на CD4<sup>+</sup> T-лимфоциты, приводя к уменьшению секреции IL-2 IFN- $\gamma$  клетками типа Th1, а также IL-4 и IL-5 клетками типа Th2. При аллергических реакциях IL-10 подавляет эффекторные функции T-клеток, блокируя их пролиферацию и синтез цитокинов. В моделях на мышах, передача CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-клеток уменьшала гиперреактивность дыхательных путей и рекрутирование эозинофилов, что зависело от IL-10 [30].

В исследовании оксилипинов у пациентов с лёгкой бронхиальной астмой выявлено значительное увеличение уровня LTB<sub>4</sub> на 28%. LTB<sub>4</sub> обладает мощным провоспалительным эффектом. Он является метаболитом арахидоновой кислоты и синтезируется благодаря ферменту 5-липоксигеназы. В патогенезе астмы LTB<sub>4</sub> воздействует на гладкие мышцы дыхательных путей, вызывая их ремоделирование, а также участвует за привлечение и активацию различных воспалительных медиаторов [208]. Основными источниками LTB<sub>4</sub> являются нейтрофилы, макрофаги и тучные клетки. Лейкотриен B<sub>4</sub> является ключевым

медиатором, который индуцирует хемотаксис нейтрофилов, эозинофилов и Т-лимфоцитов к очагам воспаления в респираторной системе, тем самым способствуя поддержанию хронического воспалительного процесса [15]. В результате активации нейтрофилов, LTB<sub>4</sub> усиливает их адгезионные свойства к эндотелиальным клеткам, что способствует их миграции в область воспаления и секреции реактивных форм кислорода. Это, в свою очередь, ведет к усилению воспалительного процесса в дыхательных путях. LTB<sub>4</sub> также модулирует другие воспалительные медиаторы, стимулируя продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ , которые важны для поддержания воспалительной реакции при астме. Также LTB<sub>4</sub> способствует сужению гладких мышц дыхательных путей, приводящее к уменьшению воздушного потока и характерному для астмы свистящему дыханию, одышке [101, 202].

У больных БА с повышенным уровнем LTB<sub>4</sub>, было выявлено снижение противовоспалительных липидных медиаторов: 18-HEPE – на 42%, 15-HEPE — на 63%, 5-HEPE – на 30%, а 12-HEPE — на 35%, по сравнению с показателями контрольной группы. В настоящее время представители класса HEPE остаются недостаточно изученными, и многие аспекты их противовоспалительного действия при бронхиальной астме всё ещё требуют дальнейшего исследования. Известно, что 18-HEPEs являются предшественниками резолвинов серии E, обладающих противовоспалительными и проразрешающими свойствами. Эти молекулы способствуют разрешению воспаления и модуляции иммунного ответа. 5-HEPEs образуются из эйкозапентаеновой кислоты под действием 5-LOX. Продукты метаболизма 5-HEPEs, включая 5-оксо-эйкозапентаеновую кислоту (5-охо-ЕРЕ) и 5-оксогидроксиэйкозапентаеновую кислоту (5-охо-НЕТЕ), способствуют индукции синтеза антиоксидантных ферментов в клетках сосудистого эндотелия. Этот процесс осуществляется через активацию механизма, который зависит от фактора транскрипции Nrf2. В свою очередь, 12-HEPEs образуется в результате окислительного превращения эйкозапентаеновой кислоты с участием 12-LOX. Основная функция 12-HEPEs заключается в их способности

ингибировать агрегацию тромбоцитов и предотвратить формирование тромбов. 15-НЕРЕs образуются из эйкозапентаеновой кислоты под действием 15-LOX. 15-НЕРЕs ингибируют активность тромбоцитов, однако есть исследования, указывающие на их проагрегационные эффекты. Эта молекула также участвует в ингибировании синтеза лейкотриенов и хемотаксиса нейтрофилов [211]. Рядом авторов в экспериментальных исследованиях представителей этой группы липидных медиаторов было показано, что 18-НЕРЕ ингибирует синтез IL-6 кардиальными фибробластами, в то время как другие метаболиты, такие как RvE1, RvE2 и RvE3, не оказывают такого эффекта. Введение 18-НЕРЕ значительно уменьшает воспаление, ингибируя активацию кардиальных фибробластов, опосредованную макрофагами, что выражается в снижении уровней IL-6 и других провоспалительных цитокинов и хемокинов [64]. 18-НЕРЕs, активируя макрофаги для фагоцитоза патогенов и клеточных остатков, уменьшают инфильтрацию провоспалительных иммунных клеток и регулируют провоспалительные медиаторы, способствуя увеличению производства противовоспалительных медиаторов. В контексте воспаления 18-НЕРЕs ограничивают инфильтрацию нейтрофилов в очаг воспаления, способствуют очищению от апоптотических клеток и клеточных остатков, усиливают эффероцитоз и смещают макрофаги в проразрешающий фенотип. Они также модулируют адаптивную иммунную систему, инициируют процессы восстановления и регенерации тканей [136]. 12-НЕРЕs, как и другие производные n-3 жирных кислот, демонстрируют значительные противовоспалительные свойства. Эти эффекты включают ингибирование воспалительных процессов в макрофагах и адипоцитах. Одним из механизмов действия 12-НЕРЕ является экспрессия PPARs, которые регулируют липидный обмен [60].

Исходя из имеющейся информации и полученных данных можно заключить, что НЕРЕs обладают противовоспалительными свойствами. В крови больных легкой БА их уровень значительно ниже, чем у здоровых лиц, что приводит к нарушению регуляции и поддержанию хронического системного воспаления. Однако в другом исследовании при оценке уровня 5-НЕРЕ, 12-НЕРЕ и 15-НЕРЕ в

бронхоальвеолярном лаваже больных аллергической БА легкой степени тяжести авторами выявлено увеличение уровня NEPEs у астматиков по сравнению с здоровыми лицами, как в базовом состоянии, так и после провокации, что указывает на их возможное участие в поддержании хронического воспаления и гиперреактивности дыхательных путей при астме [121]. Можно предположить, что в крови и БАЛ больных бронхиальной астмой данные соединения ведут себя по-разному.

На основании проведенных исследований можно заключить о выраженном нарушении регуляции воспалительной реакции у больных легкой БА. В ходе работы у больных легкой БА было обнаружено значительное нарушение баланса между про- и противовоспалительными медиаторами. Этот дисбаланс способствует поддержанию системного воспалительного процесса, его хронизации, что в свою очередь приводит к потере контроля над патологическим состоянием и повышает устойчивость заболевания к применяемым терапевтическим методам.

Следующим этапом работы явился анализ состава жирных кислот и их метаболических превращений у пациентов с лёгкой формой бронхиальной астмы. Жирные кислоты играют центральную роль в патофизиологии системного воспаления, поскольку они служат основным субстратом для синтеза разнообразных воспалительных медиаторов [51, 68, 103, 126, 220].

Изучение состава жирных кислот плазмы крови показало наличие 39 компонентов ЖК разной степени насыщенности и различной длины углеродной цепи. Модификация состава ЖК в группе больных легкой БА характеризовалась увеличением 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 C20-22 ПНЖК на 16,5% ( $p < 0,01$ ) в сравнении с группой здоровых лиц. 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%,  $p < 0,01$ ). Наиболее важным явилось достоверное увеличение количества жирных кислот семейства n-6 ПНЖК на фоне снижения представителей семейства n-3 ПНЖК. Дисбаланс между двумя семействами ПНЖК предполагает нарушение образования про- и противовоспалительных дериватов вследствие их конкурентных взаимоотношений за ферменты синтеза различных типов эйкозаноидов – циклооксигеназу и липоксигеназу. В патогенезе бронхиальной астмы важными медиаторами являются производные арахидоновой кислоты – лейкотриены и тромбоксаны. Они вызывают бронхиальную гиперреактивность, бронхоконстрикцию, отёк дыхательных путей, нарушают процессы секреции слизи и привлечение Th2-клеток в респираторный тракт. Под воздействием воспалительных факторов арахидоновая кислота освобождается из мембранных фосфолипидов и преобразуется в PGE2 и LTB4 с участием COX и LOX. Этот метаболический путь приводит к развитию воспаления, способствуя агрегации тромбоцитов и сужению кровеносных сосудов [143]. Противоположным эффектом обладают производные n-3 ПНЖК, такие как EPA и DHA. Они подавляют выработку провоспалительных цитокинов и прооксидантов, а также стимулируют экспрессию антиоксидантных ферментов [75, 114]. К тому же, эти липидные медиаторы влияют на различные типы клеток, такие как нейтрофилы, макрофаги и Т-клетки, что подчеркивает их значимость для поддержания гомеостаза и иммунного ответа организма [95, 116].

В контексте патогенеза бронхиальной астмы, критическую значимость приобретает соотношение между полиненасыщенными жирными кислотами n-3 и n-6, а также их метаболиты. Процесс переключения синтеза липидных медиаторов с провоспалительных на формирование метаболитов, обладающих противовоспалительными свойствами, является ключевым. Нарушения в составе и метаболизме жирных кислот, а также изменения профиля липидных медиаторов могут индуцировать дисбаланс в регуляторных механизмах воспалительного процесса, что, в свою очередь, способствует его хронизации [10]. [10]. Существующие литературные данные и результаты нашего исследования

подтверждают, что ПНЖК и их метаболиты играют важную роль в регуляции воспалительных процессов.

У пациентов с лёгкой формой БА изменения в составе и метаболических превращениях жирных кислот могут оказывать влияние на метаболизм других липидных медиаторов, таких как NAE, для производства которых жирные кислоты являются субстратом. В нашем исследовании выявлено снижение уровней всех исследуемых эндогенных N-ацилэтаноломинов, включая производные насыщенных, мононенасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот, в группе больных лёгкой БА: N-пальмитоилэтаноломина на 47% ( $p < 0,001$ ), N-олеоилэтаноломина на 9,2% ( $p < 0,01$ ), N-арахидоноилэтаноломина на 41,6 ( $p < 0,05$ ) и N-докозагексаеноилэтаноломина на 37,5% ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. Установлено также нарушение баланса эндогенных N-ацилэтаноломинов: показатель NAE18:1/NAE20:4n-6 увеличился на 48% ( $p < 0,001$ ), NAE18:1/NAE16:0 – на 52% ( $p < 0,001$ ). Выявленная закономерность может быть связана с нарушением их биосинтеза или метаболизма. По данным литературы NAE обладают противовоспалительными свойствами и снижение их количества приводит к нарушению регуляции системной воспалительной реакции и в итоге – к поддержанию хронического системного воспаления [62]. В ряде экспериментальных исследованиях обсуждается способность NAE 20:5n-3 и NAE 22:6n-3 ингибировать синтез провоспалительных цитокинов (TNF, IL1 $\beta$ , IL6, INF $\gamma$ ), продукцию активных форм кислорода и оксида азота в макрофагах и сыворотке крови мышей, подвергнутых воздействию липополисахарида. Эти соединения способствуют поляризации макрофагов к типу M2, обладающему противовоспалительными свойствами. Биологически активные добавки на основе NAE демонстрируют способность ингибировать синтез провоспалительных цитокинов и усиливать активность CD163-позитивных клеток. Данные эффекты свидетельствуют о многоаспектном влиянии экзогенных NAE на регуляцию воспалительных реакций. Имеющиеся результаты подчеркивают потенциал NAE как мощных противовоспалительных агентов с широким спектром действия [62]. Для NAE16:0 основной биологической мишенью является ядерный рецептор

PPAR- $\alpha$ , который опосредует его противовоспалительное и анальгезирующее действие. PPAR образуют гетеродимеры с рецептором ретиноида X и связываются с последовательностями ДНК, которые называются элементами ответа PPAR, что создает изменения в транскрипции целевых генов. Эти гены участвуют в регуляции метаболизма и энергетического гомеостаза, клеточной дифференцировке и воспалении [148]. Основные механизмы действия NAE18:1 опосредованы также через активацию PPAR- $\alpha$ . Этот N-ацилэтаноламин уменьшает экспрессию провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$  и IL-6), а также ферментов iNOS и COX-2, что приводит к снижению воспалительного ответа и окислительного стресса. NAE18:1 блокирует активацию NF- $\kappa$ B путем предотвращения деградации его ингибиторного белка I $\kappa$ B $\alpha$ , что также уменьшает воспаление [174].

Таким образом, изменение состава и метаболических превращений жирных кислот у больных легкой БА, приводящее к дисбалансу липидных медиаторов – оксипинонов и эндогенных N-ацилэтаноламинов способствует развитию и хронизации системной воспалительной реакции. В рамках исследования проведена оценка влияния модификации состава жирных кислот и их производных, в частности N-ацилэтаноламинов, на формирование воспалительного процесса у пациентов с легкой формой бронхиальной астмы. Для количественной характеристики интегральной сопряженности систем был использован показатель D, что позволяет судить о степени участия данных веществ в патогенезе указанного заболевания. Системный анализ показал, что наибольший отклик иммунной системы по показателю сопряженности (D) выявлен для расчетных индексов, характеризующих интенсивность образования ЖК с провоспалительными свойствами – Sum C20-22 n-6ЖК (D=0,86 у.е.), Sum C20-22n-6/Sum C20-22n-3, (D=0,72у.е.) и показателя активности  $\Delta^9$  десатуразы 18:1n9/18:0 (D=0,84 у.е.). Взаимосвязь между показателями ЖК и уровнем цитокинов наиболее выражена для IL-17A, где коэффициент интеграции D составляет 0,77 у.е., а также для IL-10 (D=0,69 у.е.), IL-4 (D=0,69 у.е.) и IL-6 (D=0,62у.е.). На значимость перекрестных взаимодействий между модификацией

состава ЖК и воспалением указывают данные ряда исследований. Известно, что неэтерифицированные жирные кислоты усиливают секрецию цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 [215], при этом ненасыщенные ЖК повышают выработку IL-1 $\alpha$ , активируют воспаление в макрофагах [70]. Иммунорегуляторные функции ЖК зависят как от состава, так и соотношения между их компонентами. Жирные кислоты выступают в роли эндогенных лигандов для рецепторов PPAR, которые представляют собой транскрипционные факторы, модулирующие экспрессию множества генов, участвующих в процессах метаболизма, дифференцировки и функциональной активности клеток [76]. Степень насыщенности ЖК является ключевым параметром, определяющим их иммунорегуляторные свойства, поскольку она оказывает влияние как на биоэнергетические процессы, так и на механизмы клеточной сигнализации. В частности, арахидоновая кислота (20:4n-6) подвергается метаболическим превращениям с образованием различных классов биоактивных липидов, в том числе простагландинов. [122]. n-3 ПНЖК, помимо участия в синтезе специализированных медиаторов, обладающих проразрешающим действием, также демонстрируют противовоспалительные свойства, ингибируя экспрессию провоспалительных цитокинов и тем самым предотвращая развитие гипериммунного ответа, что является важным аспектом в регуляции воспалительных процессов. [90, 169].

Среди эндогенных N-ацилэтаноламинов максимальную вовлеченность в цитокиновую регуляцию при легкой БА имели анандамид (D=0,54) и синаптамид ((D=0,52), при этом анандамид проявлял максимальную взаимосвязь с IL-17A (D=0,67), INF- $\gamma$  (D=0,52), TNF- $\alpha$  (D=0,5) и IL-2 (D=0,44); синаптамид – с IL-17A (D=0,67), IL-6 (D=0,61), TNF- $\alpha$  (D=0,59). Действие NAE на иммунные клетки осуществляется активацией различных сигнальных путей, реализующих иммунный ответ. Анандамид наибольшую активность проявляет как участник эндоканнабиноидной системы, являясь одним из основных лигандов СВ-рецепторов. Под действием активации эндоканнабиноидных рецепторов на иммунных клетках подавляется секреция провоспалительных цитокинов и повреждающих протеиназ [45]. Кроме того, взаимосвязь анадамида и воспаления

осуществляется через ингибирование киназы IκB, снижающей активацию NF-κβ, и экспрессию провоспалительных генов [24]. Что касается синаптамида, как представителя N-ацилэтанололаминов n-3 ПНЖК, его противовоспалительные, синаптогенные, вазодилатационные свойства опосредуются либо непосредственно докозагексаеновой ЖК, либо косвенно через продуцируемые ими эпоксидные метаболиты [78]. Слабое сродство к каннабиноидным рецепторам определяет его основные регуляторные механизмы через другие пути. Эти пути включают активацию PPAR-α, подавление NF-κB и ERK1/2-зависимого сигнального пути, а также накопление цАМФ с последующим фосфорилированием протеинкиназы A и белка, связывающего элемент ответа цАМФ [198].

Выявленные в нашем исследовании у больных пониженные значения эндогенных NAE, вызывают усиление влияния провоспалительного компонента при легкой БА. 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 воспалительной реакции.

В рамках настоящего исследования проведен анализ воздействия экзогенных N-ацилэтанололаминов арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот на синтез воспалительных медиаторов. Была поставлена задача – определить роль этих соединений в регуляции воспалительной реакции при лёгкой форме бронхиальной астмы. В ходе экспериментальных исследований *in vitro* было установлено, что анандамид в дозах 3–10 мкМ оказывает ингибирующее воздействие на синтез клетками крови больных БА провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин-8, а также эйкозаноидов, включая лейкотриен B4 и тромбоксан B2. При этом отмечено, что анандамид оказывает минимальное влияние на синтез TXB2 в условиях стимуляции клеток крови липополисахаридом. Это может быть связано с тем, что NAE ПНЖК способны ингибировать экспрессию мРНК циклооксигеназы 2 – ключевого фермента, участвующего в синтезе оксипинонов, о чем говорится в исследованиях Meijerink

et al. (2014) [130]. Можно предположить, что, NAE 20:4n-6 могут более эффективно модулировать системное хроническое воспаление по сравнению с острыми воспалительными процессами. Кроме того, снижение синтеза TNF- $\alpha$  и IL-8 может быть обусловлено способностью NAE 20:4 ингибировать экспрессию NF- $\kappa$ B через активацию PPAR $\alpha$  [18]. Эти механизмы подчеркивают потенциальную роль NAE 20:4n-6 в контроле хронических воспалительных процессов.

Полученные в эксперименте *in vitro* результаты демонстрируют противовоспалительные дозозависимые эффекты NAE 20:4n-6 на клетках крови больных легкой БА. Учитывая высокое сродство анандамида к каннабиноидным рецепторам, приоритетными стали исследования влияния экзогенных NAE n-3 ПНЖК — NAE 20:5n-3 и NAE 22:6n-3. Этот класс NAE до сих пор остается малоизученным.

В ходе эксперимента *in vitro* был выявлен выраженный противовоспалительный эффект N-эйкозапентаеноилэтаноламина (NAE 20:5n-3). Он проявлялся дозозависимым снижением продукции клетками крови больных бронхиальной астмой провоспалительных цитокинов (IL-17A, IL-6) и оксилипинов (PGE<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>), а также увеличением уровней противовоспалительных и проразрешающих липидных медиаторов (LXA<sub>4</sub>, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE) в стимулированной липополисахаридом крови пациентов с лёгкой формой БА. Примечательно, что ингибирование образования провоспалительных медиаторов наблюдалось уже при самых низких концентрациях (1  $\mu$ M). Максимальный противовоспалительный эффект NAE 20:5n-3 достигался при дозе 10  $\mu$ M. Эти результаты свидетельствуют о том, что NAE 20:5 обладают потенциалом регулирования воспалительной реакции у пациентов с лёгкой формой бронхиальной астмы.

NAE 22:6n-3 также показал дозозависимые противовоспалительные эффекты в культуре клеток больных БА стимулированной LPS. Особенностью противовоспалительного эффекта синаптамида явилась преимущественная регуляция синтеза липидных медиаторов – снижение количества PGE<sub>2</sub> и LTB<sub>4</sub>, на

фоне усиления образования проразрешающих метаболитов таких-как 5-НЕРЕ, 12-НЕРЕ, 15-НЕРЕ и 18-НЕРЕ, что приводит к уменьшению воспаления. Эффект воздействия синаптамида на цитокиновый статус проявлялся при воздействии только наивысшей дозы 10  $\mu\text{M}$  в виде снижения уровня IL-6. Полученные результаты также демонстрируют регуляторную роль NAE 22:6 в механизмах воспаления при легкой бронхиальной астме.

NAE n-3 ПНЖК – эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот— являются важными биоактивными соединениями с широким спектром биологических эффектов. Тем не менее, в научных публикациях мирового уровня исследования их влияния на цитокины и оксипирины представлены в ограниченном количестве. В ходе экспериментальных исследований, проведенных на клеточных культурах микроглии, было установлено, что NAE 20:5n-3 способствует снижению концентрации TNF- $\alpha$  и IL-6, что свидетельствует о переключении клеток с провоспалительного на противовоспалительный фенотип. Кроме того, имеются данные об ингибирующем воздействии NAE 20:5n-3 на синтез воспалительных медиаторов в перитонеальных макрофагах и адипоцитах, что приводит к значительному снижению уровней IL-6, оксида азота и моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1) [129, 165]. В другом исследовании было выявлено, что NAE 20:5n-3 также ингибируют продукцию воспалительных медиаторов в дермальных слоях кожи у пациентов, страдающих псориазом [186]. Эти данные коррелируют с результатами, полученными в рамках нашего исследования.

Роль лейкотриена B<sub>4</sub> и простагландина E<sub>2</sub> в патогенезе бронхиальной астмы хорошо изучена. LTB<sub>4</sub> обладает сильным хемотаксическим действием на нейтрофилы и эозинофилы, которые являются основными эффекторными клетками в производстве воспалительных медиаторов [91, 211]. PGE<sub>2</sub>, как основной регуляторный медиатор воспаления, усиливает активацию лейкотриенов и препятствует апоптозу эозинофилов [40, 218]. В нашем исследовании показано, что подавление синтеза LTB<sub>4</sub> и PGE<sub>2</sub> под воздействием NAE полиненасыщенных жирных кислот семейства n-3 может препятствовать развитию воспалительного

процесса в крови пациентов с лёгкой бронхиальной астмой, стимулированной липополисахаридом.

Кроме того, наблюдаемое увеличение синтеза LXA<sub>4</sub>, 12-НЕРЕ, 15-НЕРЕ и 18-НЕРЕ играет важную роль в подавлении воспалительных процессов. LXA<sub>4</sub> является мощным противовоспалительным медиатором, а оксипирины группы НЕРЕ служат предшественниками для синтеза резолвинов — ключевых проразрешающих медиаторов [50]. Снижение уровней провоспалительных оксипиринов и увеличение концентраций проразрешающих медиаторов доказывает противовоспалительный эффект воздействия N-ацилэтаноламинов n-3 ПНЖК на клетки крови больных лёгкой бронхиальной астмой.

NAE могут превращаться в метаболиты, обладающие сигнальными функциями. Под действием цитохрома P450 образуются эпоксидные производные NAE, которые воздействуют на различные воспалительные сигнальные каскады [60]. В современных работах продемонстрировано, что NAE n-3 ПНЖК функционируют как эндогенные активаторы PPARs. Стимуляция PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  индуцирует процессы, способствующие редукции воспалительных реакций в разнообразных тканевых структурах, что, предположительно, осуществляется через модуляцию сигнального каскада ядерного фактора NF- $\kappa$ B [54, 59]. Возможность N-ацилэтаноламинов из n-3 ПНЖК контролировать воспалительные процессы увеличивает их эффективность по сравнению с исходными субстратами.

Хотя NAE 20:5n-3 и NAE 22:6n-3 обладают схожими свойствами, последний демонстрирует более высокую проапоптотическую и антипролиферативную активность. NAE 20:5n-3, в свою очередь, имеет уникальные эффекты, такие как ингибирование агрегации тромбоцитов и антиангиогенные свойства, благодаря образованию эпоксидных производных. Оба соединения взаимодействуют с рецепторами CB и PPAR- $\gamma$ , но механизмы их действия и метаболические пути различаются, что объясняет различия в их некоторых биологических эффектах [54].

Подводя итог проведённым исследованиям, можно заключить, что характер системной воспалительной реакции у больных лёгкой бронхиальной астмой

связан с переключением синтеза провоспалительных липидных медиаторов на образование противовоспалительных и проразрешающих метаболитов. Дисбаланс в составе и метаболизме жирных кислот, а также изменения в профилях липидных медиаторов нарушают регуляцию воспалительных процессов и способствуют их хронизации. Результаты экспериментальных исследований *in vitro* позволяют сделать вывод, что экзогенные NAE n-6 и n-3 ПНЖК являются регуляторами системной воспалительной реакции при лёгкой форме БА. Они способствуют стимуляции синтеза противовоспалительных медиаторов и подавлению продукции провоспалительных. Противовоспалительный эффект N – арахидоноилэтаноламина осуществляется посредством ингибирования продукции 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 стимулированной липополисахаридом крови (модель острого воспаления), но эффективен в регуляции хронического воспаления (рис. 22).

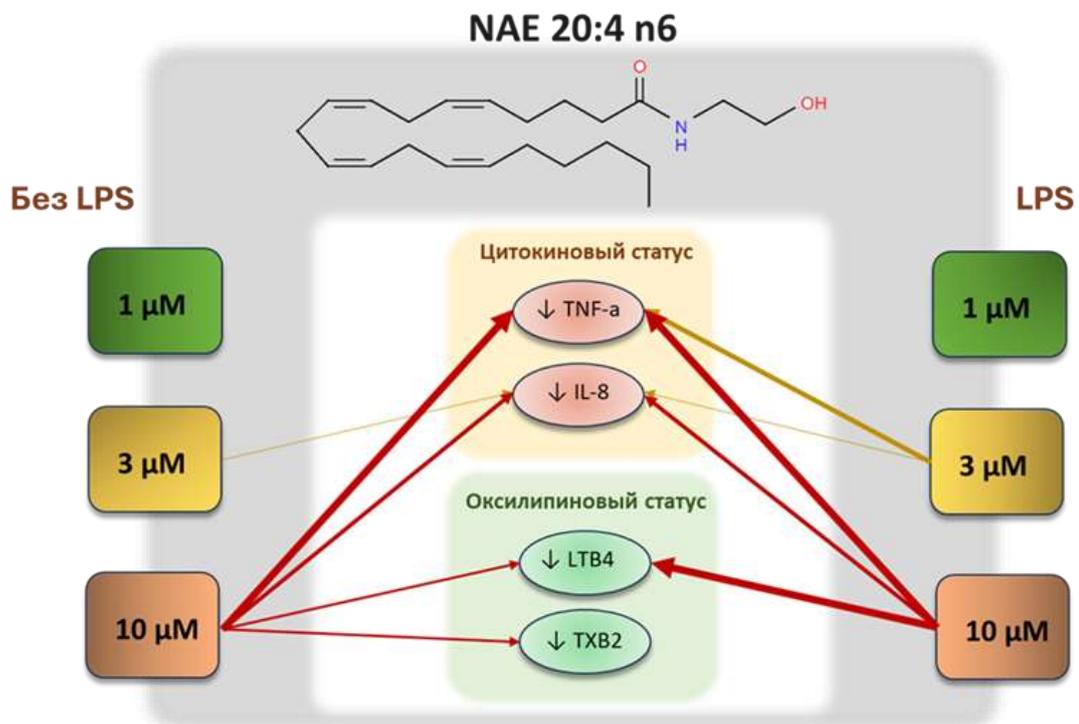


Рисунок 22 – Дозозависимое влияние анандамида на синтез воспалительных медиаторов в условиях *in vitro* у больных легкой бронхиальной астмой.

N- ацилэтаноламины n-3 ПНЖК – NAE 20:5n-3 и NAE 22:6n-3 показали различные дозозависимые эффекты на синтез воспалительных медиаторов клетками иммунной системы больных легкой БА. Так, NAE 20:5 дозозависимо снижает производство провоспалительных цитокинов (IL-17a, IL-6) и оксилипинов (PGE2, LTB4), увеличивая уровень противовоспалительных и проразрешающих липидных медиаторов (LXA4, 12-HEPE, 15-HEPE, 18-HEPE). Особенности воздействия NAE 22:6n-3 заключаются в влиянии на цитокиновый статус исключительно при самой высокой дозе 10  $\mu\text{M}$ , а также в дозозависимом регулировании уровня проразрешающих липидных медиаторов. (рис. 23).

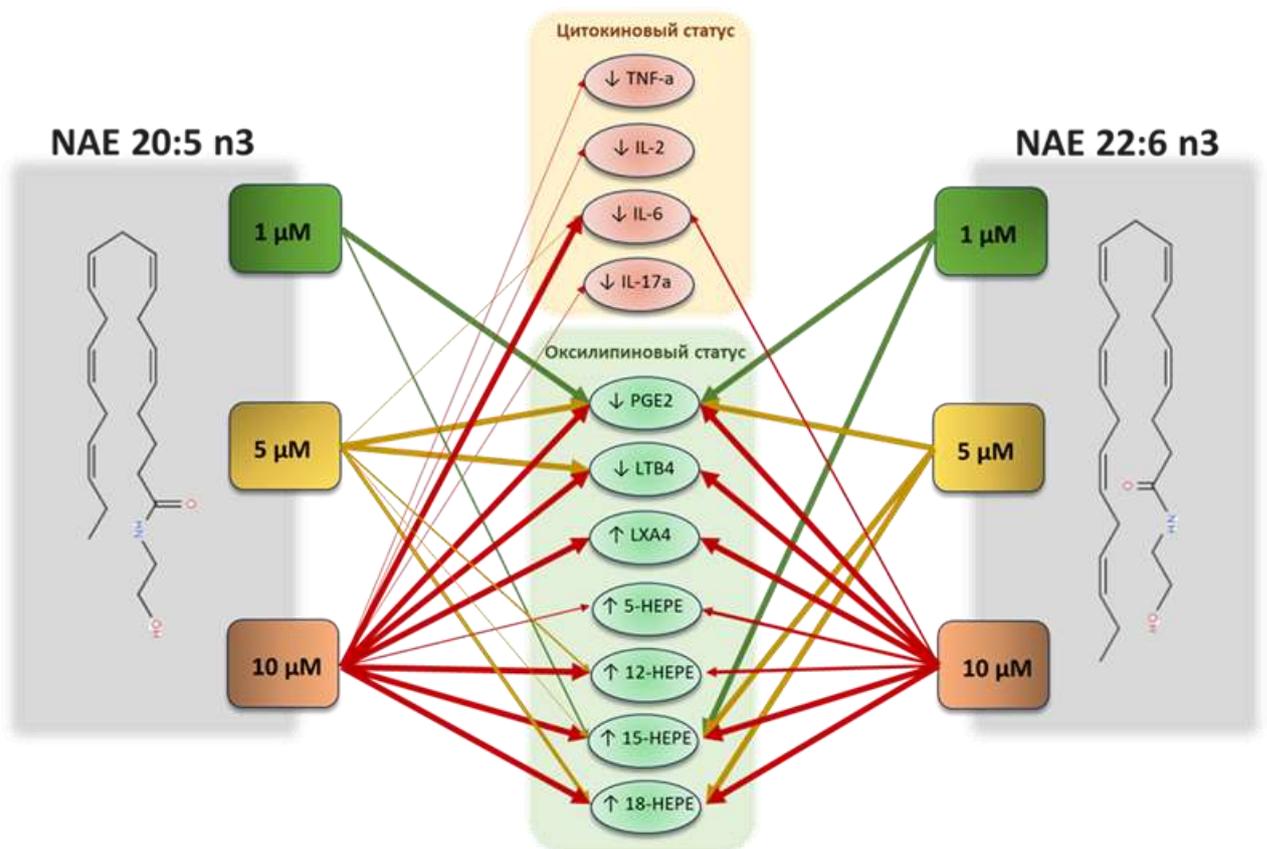


Рисунок 23 – Дозозависимое влияние N-ацилэтаноламинов n-3 ПНЖК на синтез воспалительных медиаторов в условиях *in vitro* у больных легкой бронхиальной астмой

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.

## ВЫВОДЫ

1. 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.
2. Системное воспаление у больных БА легкой степени тяжести сопровождается истощением пула противовоспалительных на фоне усиления синтеза провоспалительных липидных медиаторов. Наблюдается снижение всех представителей группы HETE: 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.
3. 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 C20-22 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

этанолламинов: N-пальмитоилэтанолламина на 47% ( $p < 0,001$ ), N-олеоилэтанолламина на 9,2% ( $p < 0,01$ ), N-арахидоноилэтанолламина на 41,6 ( $p < 0,05$ ) и N-докозагексаеноилэтанолламина на 37,5% ( $p < 0,05$ ). Установлено нарушение баланса эндогенных N-ацилэтанолламинов: 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-ацилэтанолламинов 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-ацилэтанолламинов 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-ацилэтанолламинов n-6 и n-3 ПНЖК в регуляции системного воспаления.

6. Установлена в эксперименте *in vitro* способность экзогенных N-ацилэтанолламинов 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 оксилипинов LTB<sub>4</sub>, TXB<sub>2</sub> 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 -17а, -6, простагландина PGE2, лейкотриена B4; увеличении уровней противовоспалительных липидных медиаторов LXA4, 12-НЕРЕ, 15-НЕРЕ, 18-НЕРЕ. Эффект наблюдается в дозах 1, 3 и 10  $\mu\text{M}$ .

– 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-НЕРЕ. Эффект синаптамида на цитокиновый статус проявляется при воздействии только наивысшей дозы 10  $\mu\text{M}$  – 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 бронхиальной астме легкой степени тяжести», описывающее возможности использования воспалительных медиаторов в прогнозной оценке контроля БА.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БА – бронхиальная астма  
 ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматомасс-спектрометрия  
 ЖЕЛ – жизненная емкость легких  
 ЖК – жирная кислота  
 ИФА – иммуноферментный анализ  
 МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот  
 ОФВ<sub>1</sub> – Объем форсированного выдоха за первую секунду  
 ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты  
 ТСХ – тонкослойная хроматография  
 ФВД – функция внешнего дыхания  
 ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких  
 ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких  
 цАМФ – циклический аденозинмонофосфат  
 ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота  
 АА – арахидоновая кислота  
 ACQ-5 – Asthma Control Questionnaire  
 АЕА – N-арахидоноилэтаноламин  
 BLT – рецептор лейкотриена В<sub>4</sub>  
 CB1 – каннабиноидный рецептор 1  
 CB2 – каннабиноидный рецептор 2  
 CCL2 – C-C хемокин 2  
 COX – циклооксигеназа  
 CXCL1 – C-X-C хемокин 1  
 CYP 450 – цитохром P450  
 CysLT – цистеинил лейкотриены  
 CysLTR – рецептор цистеинил лейкотриена 1  
 DHA – докозагексаеновая кислота  
 DHEA – N-докозагексаноилэтаноламин  
 ECP – катионный белок эозинофилов  
 EDN – нейротоксин производный эозинофилов  
 EET – эпоксиэйкозатриеновую кислота  
 ELOVL – элонгаза жирных кислот  
 EPA – эйкозапентаеновая кислота  
 EPEA – N-эйкозапентаноилэтаноламин  
 EpETE – эпоксиэйкозатетраеновую кислота  
 EPO – эозинофильная пероксидаза  
 FAAH – гидролаза амидов жирных кислот  
 FADS – десатураза жирных кислот  
 G-CSF – гранулоцитарно колоннестимулирующий фактор  
 GDE – глицерофосфодиэстераза  
 GPCR – рецептор, сопряженный с G-белком  
 HEPE – гидроксиейкозапентаеновая кислота  
 HETE – гидроксиейкозатетраеновая кислота

Iba-1 – ионизирующий кальций-связывающий пептид 1  
 IgE – иммуноглобулин E  
 IL – интерлейкин  
 ILC – врожденные лимфоидные клетки  
 INF – интерферон  
 iNOS – индуцируемая синтаза оксида азота  
 LOX – липоксигеназа  
 LPS – липополисахарид  
 LT – лейкотриен  
 LX – липоксин  
 lysoNAPE – N-ацил-лизофосфатидилэтаноламин  
 MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа  
 MaR – марезины  
 MBP – основной связывающий белок  
 MCP-1 – моноцитарный хемотаксический белок-1  
 MRM – мониторинг множественных реакций  
 NAAA – амидаза N-ацилэтаноламин-гидролизующей кислоты  
 NAE – N-ацилэтаноламины  
 NAPE – N-ацилфосфатидилэтаноламин  
 NAPE-PLD – N-ацетилфосфатидилэтаноламин-гидролизующая фосфолипаза D  
 NAT – N-ацилтрансфераза  
 NF- $\kappa$ B – ядерный фактор каппа-би  
 NO – оксид азота  
 OEA – N-олеоилэтаноламин  
 oxo-EETE - оксоэйкозатетраеновую кислоту  
 PD – протектин  
 PEА – N-пальмитоилэтаноламид  
 PG – простагландины  
 PPAR – рецептор, активируемый пролифератором пероксисом  
 RPTN22 – протеинтирозинфосфатаза нерецепторного типа 22  
 Rv – резольвин  
 SHIP1 – фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат-5-фосфатаза 1  
 SPM – специализированные проразрешающие медиаторы  
 ST2 – стимулирующий фактор роста, экспрессируемый геном 2  
 TGF- $\beta$  – трансформирующий фактор роста бета  
 Th – Т-хелперы  
 TLR – толл-подобный рецептор  
 TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли – альфа  
 TP – тромбоксановый рецептор  
 Treg – регуляторные Т-лимфоциты  
 TRP – ионные каналы с транзиторным рецепторным потенциалом  
 TRPV1 – ванилоидный рецептор типа 1  
 Tx - тромбоксан  
 VCAM-1 – молекула адгезии сосудистых клеток-1

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С.Н. Легкая бронхиальная астма: настоящее и будущее / С.Н. Авдеев, З.Р. Айсанов, А.С. Белевский [и др.] // Пульмонология. – 2018. Т. 28, № 1. – С. 84-95.
2. Веремчук, Л.В. Метеореакции у лиц с заболеваниями органов дыхания, проживающих в условиях морского климата Владивостока / Л.В. Веремчук, Т.И. Виткина, Е.Е. Минеева [и др.] // Гигиена и санитария. – 2022. – Т.101, № 12. – С. 1438–1442.
3. Виткина, Т.И. Иммунные механизмы формирования бронхиальной астмы контролируемого и частично контролируемого течения / Т.И. Виткина, Т.П. Новгородцева, Е.П. Калинина [и др.] // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 3. – С. 495–502.
4. Караман, Ю.К. Эндоканнабиноиды и эйкозаноиды: биосинтез, механизмы их взаимосвязи, роль в иммунных процессах / Ю.К. Караман, Е.Г. Лобанова // Медицинская иммунология. – 2013. – Т. 15, № 2. – С. 119–130.
5. Клинические рекомендации: Бронхиальная астма. // Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 2021. – 118 с.
6. Кытикова, О.Ю. Рецепторы свободных жирных кислот со средней и длинной цепью в патофизиологии заболеваний органов дыхания / О.Ю. Кытикова, Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2021. – Т. 80. – С. 115–128.
7. Кытикова, О.Ю. Роль гидроксикоэкозатетраеновых кислот в регуляции воспаления при бронхиальной астме / О.Ю. Кытикова, И.С. Коваленко, Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2023. – Т. 90. – С. 147–159.
8. Кытикова, О.Ю. Роль эндоканнабиноидной сигнальной системы в патофизиологии бронхиальной астмы и ожирения / О.Ю. Кытикова, Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко [и др.] // Вестник РАМН. – 2019. – Т. 74, № 3. – С. 200–209.
9. Кытикова, О.Ю. Современные аспекты распространенности хронических бронхолегочных заболеваний / О.Ю. Кытикова, Т.А. Гвозденко, М.В. Антонюк // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2017. – Т. 64. – С. 94–100.
10. Кытикова, О.Ю. Эпоксиды полиненасыщенных жирных кислот в регуляции воспаления / О.Ю. Кытикова, Ю.К. Денисенко, Т.П. Новгородцева [и др.] // Биомедицинская химия. – 2022. – Т. 68, № 3. – С. 177–189.

11. Лобанова, Е.Г. Роль эндоканнабиноидных рецепторов в регуляции иммунного ответа / Е.Г. Лобанова // *Медицинская иммунология*. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 189–194.
12. Хаитов, М.Р. Роль интерлейкина 33 в патогенезе бронхиальной астмы. Новые экспериментальные данные / М.Р. Хаитов, А.Р. Гайсина, И.П. Шиловский [и др.] // *Биохимия*. – 2018. – Т. 83, № 1. – С. 19–33.
13. Agache, I. EAACI Biologicals Guidelines– Recommendations for severe asthma. / I. Agache, C.A. Akdis, M. Akdis [et al.] // *Allergy* – 2021. – Vol. 76, № 1. – P. 14–44.
14. Akdis, C.A. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and immune tolerance to allergens / C.A. Akdis, M. Akdis // *World Allergy Organ. J.* – 2015. – Vol. 8, № 1. – P. 17.
15. Al-Azzam, N. Leukotriene D(4) role in allergic asthma pathogenesis from cellular and therapeutic perspectives / N. Al-Azzam, L. Elsalem // *Life Sci.* – 2020. – Vol. 260. – P. 118452.
16. Ambrosino, P. Activation and desensitization of TRPV1 channels in sensory neurons by the PPAR $\alpha$  agonist palmitoylethanolamide / P. Ambrosino, C. Soldovieri, C. Russo, M. Tagliatela // *Br J Pharmacol.* – 2013. – № 168. – P. 1430–1444.
17. Antosova, M. Bronchial hyperreactivity: pathogenesis and treatment options / M. Antosova, A. Strapkova, J. Plevkova // *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology*. – 2011. – № 1. – P. 43–51.
18. Augimeri, G. N-Eicosapentaenoyl Dopamine, A Conjugate of Dopamine and Eicosapentaenoic Acid (EPA), Exerts Anti-inflammatory Properties in Mouse and Human Macrophages / G. Augimeri, P. Plastina, G. Gionfriddo [et al.] // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11, № 9. – P. 2247.
19. Badrani, J.H. Lower serum 15-HETE level predicts nasal ILC2 accumulation during COX-1 inhibition in AERD / J.H. Badrani, K. Cavagnero, J.J. Eastman [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2023. – Vol. 152, № 5. – P. 1330–1335.
20. Balvers, M.G. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid are converted by 3T3-L1 adipocytes to N-acyl ethanolamines with antiinflammatory properties / M.G. Balvers, K.C. Verhoeckx, P. Plastina // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010. – Vol. 1801, № 10. – P. 1107–1114.
21. Balvers, M.G. Time-dependent effect of in vivo inflammation on eicosanoid and endocannabinoid levels in plasma, liver, ileum and adipose tissue in C57BL/6 mice fed a fish-oil diet / M.G. Balvers, K.C. Verhoeckx, J. Meijerink [et al.] // *Int. Immunopharmacol.* – 2012. – Vol. 13, № 2. – P. 204–214.
22. Barnig, C. Innate immunity is a key factor for the resolution of inflammation in asthma / C. Barnig, B.D. Levy // *Eur. Respir. Rev.* – 2015. – Vol. 24, № 135. – P. 141–153.

23. Barnig, C. Towards targeting resolution pathways of airway inflammation in asthma / C. Barnig, N. Frossard, B.D. Levy // *Pharmacol Ther.* – 2018. – № 186. – P. 98-113.
24. Barrie, N. The endocannabinoid system in pain and inflammation: Its relevance to rheumatic disease / N. Barrie, N. Manolios // *Eur J Rheumatol.* – 2017. – Vol. 4, № 3. – P. 210–218.
25. Bayani, A. Mechanisms and Points of Control in the Spread of Inflammation: A Mathematical Investigation / A. Bayani, J.L. Dunster, J.J. Crofts, M.R. Nelson // *Bull Math Biol.* – 2020. Vol. 84, № 4. – 45.
26. Berdine, G. Clinical entities, phenotypes, causation, and endotypes based on selected asthma publications / G. Berdine, R. Alexander, K. Nugent // *Baylor University Medical Center Proceedings.* – 2020. – Vol. 33, № 4. – P. 580–585.
27. Biringer, R.G. The enzymology of the human prostanoid pathway / R.G. Biringer // *Mol. Biol. Rep.* – 2020. – Vol. 47, № 6. – P. 4569–4586.
28. Biringer, R.G. The rise and fall of anandamide: processes that control synthesis, degradation, and storage / R.G. Biringer // *Molecular and Cellular Biochemistry.* – 2021. – Vol. 476, № 7. – P. 2753–2775.
29. Blight, E.G. A rapid method of total lipid extraction and purification / E.G. Blight, W.J. Dyer // *Can J Biochem Physiol.* – 1959. – Vol. 37, № 8. – P. 911–917.
30. Boonpiyathad, T. IL-10 producing T and B cells in allergy / T. Boonpiyathad, P. Satitsuksanoa, M. Akdis, C.A. Akdis // *Semin Immunol.* – 2019. – Vol. 44. – 101326.
31. Boonpiyathad, T. Immunologic mechanisms in asthma / T. Boonpiyathad, Z.C. Sozener, P. Satitsuksanoa, C.A. Akdis // *Semin Immunol.* – 2019. – № 46. – 101333.
32. Bowen, K.J. Oleic acid-derived oleoylethanolamide: A nutritional science perspective / K.J. Bowen, P.M. Kris-Etherton, G.C. Shearer [et al.] // *Prog Lipid Res.* – 2017. – № 67. – P. 1–15.
33. Braune, S. Effect of Prostanoids on Human Platelet Function: An Overview / S. Braune, J.H. Kupper, F. Jung // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 23. – 9020.
34. Brusseau, G.G. Biologic Therapies for Severe Asthma / G.G. Brusseau, G.H. Koppelman // *N. Engl. J. Med.* – 2022. – № 386. – P. 157–171.
35. Calder, P.C. Eicosanoids / P.C. Calder // *Essays Biochem.* – 2020 – Vol. 64, № 3. – P. 423–441.
36. Cannon, A.E. Lipid Signaling through G Proteins / A.E. Cannon, K.D. Chapman // *Trends Plant Sci.* – 2021. – Vol. 26, № 7. – P.720–728.
37. Cao, T.B.T. Immune Cell-Mediated Autoimmune Responses in Severe Asthma / T.B.T. Cao, Q.L. Quoc, J.H. Jang, H.S. Park // *Yonsei medical journal.* – 2024. – Vol 65, № 4. – P. 194–201.

38. Carnevale, L.N. Novel Anti-inflammatory and Vasodilatory  $\omega$ -3 Endocannabinoid Epoxide Regioisomers / L.N. Carnevale, A. Das // *Adv Exp Med Biol.* – 2019. – № 1161. – P. 219-232.
39. Carreau, J.P. Adaptation of a macroscale method to the microscale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract / J.P. Carreau, J.P. Duback // *Journal of Chromatography.* – 1978. – Vol. 151. – P. 384–390.
40. Cebulla, D. The role of PGE2 and EP receptors on lung's immune and structural cells; possibilities for future asthma therapy / D. Cebulla, C. van Geffen, S. Kolahian // *Pharmacol Ther.* – 2023. – Vol. 241. – 108313.
41. Cevheryas, L. Advances and recent developments in asthma in 2020 / L. Cevhertas, I. Ogulur, D.J. Maurer [et al.] // *Allergy.* – 2020. – Vol. 75, № 12. – P. 3124–3146.
42. Chanda, D. The endocannabinoid system: Overview of an emerging multifaceted therapeutic target / D. Chanda, D. Neumann, J.F.C. Glatz // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 2019. – № 140. – P. 51–56.
43. Chen, L.C. Levels of 15-HETE and TXB2 in exhaled breath condensates as markers for diagnosis of childhood asthma and its therapeutic outcome / L.C. Chen, H.M. Tseng, M.L. Kuo [et al.] // *Pediatr Allergy Immunol.* – 2021. – Vol. 32, № 8. – P. 1673–1680.
44. Chiang, N. Specialized pro-resolving mediator network: an update on production and actions / N. Chiang, C.N. Serhan // *Essays Biochem.* – 2020. – Vol. 64, № 3. – P. 443–462.
45. Chiurchiu, V. Endocannabinoid signalling in innate and adaptive immunity / V. Chiurchiu, L. Battistini, M. Maccarrone // *Immunology.* – 2015. – Vol. 144, № 3. – P. 352–364.
46. Choy, D.F. TH2 and TH17 inflammatory pathways are reciprocally regulated in asthma / D.F. Choy, K.M. Hart, L.A. Borthwick [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 7, № 301. – 301ra129.
47. Cintosun, A. Mechanisms of Cannabinoids and Potential Applicability to Skin Diseases / A. Cintosun, I. Lara-Corrales, E. Pope // *Clin. Drug Investig.* – 2020. – № 40. – P. 293–304.
48. Clayton, P. Palmitoylethanolamide: A Potential Alternative to Cannabidiol / P. Clayton, S. Subah, R. Venkatesh [et al.] // *J Diet Suppl.* – 2023. – Vol. 20, № 3. – P. 505–530.
49. Conrad, L.A. Defining pediatric asthma: Phenotypes to endotypes and beyond / L.A. Conrad, M.D. Cabana, D. Rastogi // *Pediatr Res.* – 2021 – Vol. 90, № 1. – P. 45–51.
50. Crean, D. Specialised lipid mediators and their targets / D. Crean, C. Godson // *Semin Immunol.* – 2015. – Vol. 27, № 3. P. 169–176.
51. Das, U. N. Bioactive Lipids in Age-Related Disorders / U.N. Das // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol. 1260. – P. 33–83.

52. Dawson, R.E. IL-6 family cytokines in respiratory health and disease / R.E. Dawson, B.J. Jenkins, M.I. // *Cytokine*. – 2021. – Vol. 143. – 155520.
53. De Bus, I. Immunomodulating effects of 13- and 16-hydroxylated docosahexaenoyl ethano-lamide in LPS stimulated RAW264.7 macrophages / I. de Bus, S. Krimpen, G.J. Hooiveld [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* – 2021. – Vol. 1866, № 6. – 158908.
54. De Bus, I. The role of n-3 PUFA-derived fatty acid derivatives and their oxygenated metabolites in the modulation of inflammation / I. de Bus, R. Witkamp, H. Zuilhof [et al.] // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* – 2019. – Vol. 144. – 106351.
55. De Gregorio, D. Role of palmitoylethanolamide (PEA) in depression: translational evidence / D. De Gregorio, M. Manchia, B. Carpiniello [et al.] // *J. Affect. Disord.* – 2018. – № 255. – P. 195–200.
56. Derada, T.C. Pro-resolving lipid mediator lipoxin A4 attenuates neuro-inflammation by modulating T cell responses and modifies the spinal cord lipidome / T.C. Derada, G. Enzmann, V. Chiurciu [et al.] // *Cell Rep.* – 2021. – Vol. 35, № 9. – 109201.
57. Dholia, N. Cysteinyl leukotriene D4 (LTD4) promotes airway epithelial cell inflammation and remodelling / N. Dholia, G.S. Sethi, A.S. Naura, U.C.S. Yadav // *Inflamm Res.* – 2021. – Vol. 70, № 1. – P. 109–126.
58. Doherty, T.A. Insights into the biology of IL-9 in asthma / T.A. Doherty, D.H. Broide // *J Allergy Clin Immunol.* – 2022. – Vol. 150, № 3. – P. 585–586.
59. Drewery, M. L. Maternal fatty acid and inflammatory status during pregnancy are related to infant heart rate and heart rate variability: Doctoral Dissertation / Drewery Merritt LeAnne. – LSU, 2017. – 135 p.
60. Duan, J. Effect of  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids-Derived Bioactive Lipids on Metabolic Disorders / J. Duan, Y. Song, X. Zhang, C. Wang // *Front Physiol.* – 2021. – Vol. 21. – 646491.
61. Duvall, M.G. Natural killer cell-mediated inflammation resolution is disabled in severe asthma / M. G. Duvall, C. Barnig, M. Cernadas [et al.] // *Science immunology.* – 2017. – Vol. 2, № 9. – eaam5446.
62. Egoraeva, A. Anti-inflammatory Effect of Polyunsaturated Fatty Acid N-Acylethanolamines Mediated by Macrophage Activity In Vitro and In Vivo / A. Egoraeva, A. Tyrtysnaia, A. Ponomarenko [et al.] // *Inflammation.* – 2023. – Vol. 46, № 6. – P. 2306–2319.
63. Elagizi, A. An Update on Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular / A. Elagizi, C.J. Lavie, E. O’Keefe [et al.] // *Health.Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, № 1, – 204.
64. Endo, J. 18-HEPE, an n-3 fatty acid metabolite released by macrophages, prevents pressure overload-induced maladaptive cardiac remodeling / J. Endo, M. Sano, Y. Isobe [et al.] // *J Exp Med.* – 2014. – Vol. 211, № 8. – P. 1673–87.

65. Etemad, L. Pharmacological effects of cannabidiol by transient receptor potential channels / L. Etemad, G. Karimi, M.S. Alavi, A. Roohbakhsh // *Life Sci.* – 2022. – № 300 – 120582.
66. Evasovic, J.M. Regulation of IL-17A and implications for TGF- $\beta$ 1 comodulation of airway smooth muscle remodeling in severe asthma / J.M. Evasovic, C.A. Singer // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2019. – Vol. 316, № 5. – P. 843–868.
67. Feng, X. Prostaglandin I<sub>2</sub> mediates weak vasodilatation in human placental microvessels / X. Feng, Y. Zhang, Y. Zhang [et al.] // *Biol Reprod.* – 2020. – Vol. 103, № 6. – P. 1229–1237.
68. Fisk, H.L. Dysregulation of endocannabinoid concentrations in human subcutaneous adipose tissue in obesity and modulation by omega-3 polyunsaturated fatty acids / H.L. Fisk, C.E. Childs, E.A. Miles [et al.] // *Clin Sci.* – 2021. – Vol. 135, № 1. – P. 185–200.
69. Fraguas-Sanchez, A.I. Insights into the effects of the endocannabinoid system in cancer: a review // A.I. Fraguas-Sanchez, C. Martin-Sabroso, A.I. Torres-Suarez // *British J Pharmacol.* – 2018. – Vol. 175, № 13. – P. 2566–2580.
70. Freigang, S. Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling elicits inflammasome-independent IL-1 $\alpha$  and sterile vascular inflammation in atherosclerosis / S. Freigang, F. Ampenberger, A. Weiss [et al.] // *Nat Immunol.* – 2013. – Vol. 14, № 10. – 1045-53.
71. Fromel, T. Cytochrome P450-derived fatty acid epoxides and diols in angiogenesis and stem cell biology / T. Fromel, Z. Naeem, L. Pirzeh, I. Fleming // *Pharmacol. Ther.* – 2021. – Vol. 234. – 108049.
72. Fromel, T. Lipid mediators generated by the cytochrome P450-Epoxyde hydrolase pathway / T. Fromel, J. Hu, I. Fleming // *Adv Pharmacol.* – 2023. – № 97 – P. 327–373.
73. Gabrielsson, L. Palmitoylethanolamide for the treatment of pain: pharmacokinetics, safety and efficacy / L. Gabrielsson, S. Mattsson, C.J. Fowler // *Br J Clin Pharmacol.* – 2016. – № 82. – P. 932–942.
74. Galiazzo, G. Localization of cannabinoid receptors CB1, CB2, GPR55, and PPAR $\alpha$  in the canine gastrointestinal tract / G. Galiazzo, F. Giancola, A. Stanzani [et al.] // *Histochem. Cell Biol.* – 2018. – № 150, P. 187–205.
75. Ganesan, R. D-series Resolvins activate Phospholipase D in phagocytes during inflammation and resolution / R. Ganesan, K.M. Henkels, K. Shah [et al.] // *FASEB J.* – 2020. – Vol. 34, № 12. P. 15888–15906.
76. Ganss, R. Maternal Metabolism and Vascular Adaptation in Pregnancy: The PPAR Link / R. Ganss // *Trends Endocrinol Metab.* – 2017. – Vol. 28, № 1. – P. 73–84.

77. Garcia-Martin, A. Cannabinoid derivatives acting as dual PPAR $\gamma$ /CB2 agonists as therapeutic agents for systemic sclerosis / A. Garcia-Martin, M. Garrido-Rodriguez, C. Navarrete [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 2019. – № 163. – P. 321–334.
78. Ghanbari, M.M. The  $\omega$ -3 endocannabinoid docosahexaenoyl ethanolamide reduces seizure susceptibility in mice by activating cannabinoid type 1 receptors / M.M. Ghanbari, A.G. Loron, M. Sayyah // *Brain Res Bull.* – 2021. – Vol. 170. – P. 74–80.
79. Giacobbe, J. The Anti-Inflammatory Role of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Metabolites in Pre-Clinical Models of Psychiatric, Neurodegenerative, and Neurological Disorders / J. Giacobbe, B. Benoiton, P. Zunszain // *Front Psychiatry.* – 2020. – № 11. – 112.
80. Global Initiative for Asthma (GINA). Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2024. [Электронный ресурс], 01.10.2024. URL: <https://ginasthma.org/2024-report/>
81. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy For Prevention, Diagnosis And Management Of Copd Report, 2024. [Электронный ресурс], 05.05.2024. URL: <https://goldcopd.org/2024-gold-report/>
82. Gouveia-Figueira, S. Validation of a tandem mass spectrometry method using combined extraction of 37 oxylipins and 14 endocannabinoid-related compounds including prostamides from biological matrices / S. Gouveia-Figueira, M.L. Nording // *Prostaglandin Other Lipid Mediat.* – 2015. – № 121. – P. 110-121.
83. Grebenciucova, E. Interleukin 6: at the interface of human health and disease / E. Grebenciucova, S. VanHaerents // *Frontiers in immunology.* – 2023. – Vol. 14. – 1255533.
84. Habib, N. Current Understanding of Asthma Pathogenesis and Biomarkers / N. Habib, M.A. Pasha, D.D. Tang // *Cells.* – 2022. – Vol. 11, № 17. – 2764.
85. Hajeyah, A.A. The biosynthesis of enzymatically oxidized lipids / A.A. Hajeyah, W.J. Griffiths, Y. Wang [et al.] // *Front. Endocrinol.* – 2020. – № 11. – 591819.
86. Ham, J. The Dynamic Contribution of Neutrophils in the Chronic Respiratory Diseases / J. Ham, J. Kim, Y.G. Ko, H.Y. Kim // *Allergy, asthma & immunology research.* – 2022. – Vol. 14, № 4. – P. 361–378.
87. Hamilton, D. Asthma Phenotypes as a guide for current and future biologic therapies / D. Hamilton, H. Lehman // *Clin Rev Allergy Immunol.* – 2020. – Vol. 59, № 2. – P. 160–174.
88. Hammad, H. The basic immunology of asthma / H. Hammad, B.N. Lambrecht // *Cell.* – 2021. – Vol. 184, № 6. – P. 1469–1485.
89. Harb, H. Regulatory T-cells in asthma / H. Harb, T.A. Chatila // *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* – 2023. – Vol. 23, № 2. – P. 151–157.
90. Hidalgo, M.A. Long Chain Fatty Acids as Modulators of Immune Cells Function: Contribution of FFA1 and FFA4 Receptors / M.A. Hidalgo, M.D. Carretta, R.A. Burgos // *Front Physiol.* – 2021. – Vol 12. – 668330.

91. Higham, A. Leukotriene B4 levels in sputum from asthma patients / A. Higham, P. Cadden, T. Southworth [et al.] // *ERJ Open Res.* – 2016. – Vol.2, № 4. – 00088-2015.
92. Hussain, Z. Mammalian enzymes responsible for the biosynthesis of N-acylethanolamines / Z. Hussain, T. Uyama, K. Tsuboi, N. Ueda // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* – 2017. – Vol. 1862, № 12. – P. 1546–1561.
93. Hutch, C.R. Oea Signaling Pathways and the Metabolic Benefits of Vertical Sleeve Gastrectomy / C.R. Hutch, D.R. Trakimas, K. Roelofs [et al.] // *Ann Surg.* – 2020. – Vol. 271, № 3. – P. 509–518.
94. Insuela, D.B.R. Could Arachidonic Acid-Derived Pro-Resolving Mediators Be a New Therapeutic Strategy for Asthma Therapy? / D.B.R. Insuela, M.R. Ferrero, D.S. Coutinho [et al.] // *Front Immunol.* – 2020. – № 11. – 580598.
95. Ishihara, T. Omega-3 fatty acid-derived mediators that control inflammation and tissue homeostasis / T. Ishihara, M. Yoshida, M. Arita // *Int Immunol.* – 2019. – Vol. 31, № 9. – P. 559–567.
96. Jenkins, C.R. What have we learnt about asthma control from trials of budesonide/formoterol as maintenance and reliever? / C.R. Jenkins, E.D. Bateman, M.R. Sears, P.M. O’Byrne // *Respirology.* – 2020. – Vol. 25, № 8. – P. 804-815.
97. Kasatkina, L.A. Neuroprotective and Immunomodulatory Action of the Endocannabinoid System under Neuroinflammation / L.A. Kasatkina, S. Rittchen, E.M. Sturm // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 11. – 5431.
98. Kerstjens, H.A.M. Prostaglandin D(2): the end of a story or just the beginning? / H.A.M. Kerstjens, R. Gosens // *Lancet Respir Med.* – 2021. – Vol. 9, № 1. – P. 2–3.
99. Kilaru, A. The endocannabinoid system / A. Kilaru, K.D. Chapman // *Essays Biochem.* – 2020. – Vol. 64, № 3. – P. 485–499.
100. Kim, J. Docosahexaenoyl ethanolamide improves glucose uptake and alters endocannabinoid system gene expression in proliferating and differentiating C2C12 myoblasts // J. Kim, M.E. Carlson, B.A. Watkins // *Front.Physiol.* – 2014. – № 5. – 100.
101. Kolmert, J. Urinary Leukotriene E(4) and Prostaglandin D(2) Metabolites Increase in Adult and Childhood Severe Asthma Characterized by Type 2 Inflammation. A Clinical Observational Study / J. Kolmert, C. Gomez, D. Bagloma [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2021. – Vol. 203, №1. – P. 37–53.
102. Kytikova, O. Molecular Targets of Fatty Acid Ethanolamides in Asthma. / O. Kytikova, T. Novgorodtseva, M. Antonyuk [et al.] // *Medicina.* – 2019. – Vol. 55, № 4. – 87.
103. Kytikova, O.Y. Medium and long chain free fatty acid receptors in the pathophysiology of respiratory diseases / O.Y. Kytikova, T.P. Novgorodtseva, Y.K. Denisenko [et al.] // *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration.* – 2021. – Vol. 80. – P. 115–128.

104. Kytikova, O.Y. Pro-resolving lipid mediators in the pathophysiology of asthma / O.Y. Kytikova, T.P. Novgorodtseva, M.V. Antonyuk [et al.] // *Medicina*. – 2019. – Vol. 55, № 6. – 284.
105. Lacombe, R.J.S. Brain docosahexaenoic acid uptake and metabolism / R.J.S. Lacombe, R. Chouinard-Watkins, R.P. Bazinet // *Mol Aspects Med*. – 2018. – Vol. 64. – P. 109–134.
106. Laleh, P. Oleoylethanolamide: A novel pharmaceutical agent in the management of obesity-an updated review / P. Laleh, K. Yaser, O. Alireza // *Journal of Cellular Physiology*. – 2018. – Vol. 234, № 6. – P. 7893 – 7902.
107. Lambrecht, B.N. The Cytokines of Asthma / B.N. Lambrecht, H. Hammad, J.V. Fahy // *Immunity*. – 2019. – Vol. 50, № 4. – P. 975–991.
108. Lamon-Fava, S. Dose- and time-dependent increase in circulating anti-inflammatory and pro-resolving lipid mediators following eicosapentaenoic acid supplementation in patients with major depressive disorder and chronic inflammation / S. Lamon-Fava, J. So, D. Mischoulon [et al.] // *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. – 2021. – Vol. 164. – 102219.
109. Larsen, C. Dosage, Efficacy and Safety of Cannabidiol Administration in Adults: A Systematic Review of Human Trials / C. Larsen, J. Shahinas // *J. Clin. Med. Res*. – 2020. – Vol. 12. – P. 129–141.
110. Latyshev, N.A. Concentration and purification of polyunsaturated fatty acids from squid liver processing wastes / N.A. Latyshev, E.V. Ermolenko, S.P. Kasyanov // *European Journal of Lipid Science and Technology*. – 2014. – Vol. 116, № 11. – P. 1608–1613.
111. Lau, K.E. Physiology, Prostaglandin I2 [Электронный ресурс] / К.Е. Lau, F. Lui // *StarPearls*. – 2023. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562273/>
112. Lee, Y. Endocannabinoids in the gastrointestinal tract / Y. Lee, J. Jo, H.Y. Chung [et al.] // *Am. J. Physiol. Liver Physiol*. – 2016. – Vol. 311. – P. 655–666.
113. Leishman, E. Lipidomics profile of a NAPE-PLD KO mouse provides evidence of a broader role of this enzyme in lipid metabolism in the brain / E. Leishman, K. Mackie, S. Luquet, H.B. Bradshaw // *Mol Cell Biol Lipids*. – 2016. – № 1861. – P. 491–500.
114. Levy, B.D. Cysteinyl maresins regulate the prophlogistic lung actions of cysteinyl leukotrienes / B.D. Levy, R.E. Abdulnour, A. Tavares [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2020. – Vol. 145, № 1. – P. 335–344.
115. Li, D. Maresin 1 alleviates the inflammatory response, reduces oxidative stress and protects against cardiac injury in LPS-induced mice / D. Li, M. Wang, J. Ye [et al.] // *Life Sci*. – 2021. – Vol. 277. – 119467.
116. Li, Y. Associations of  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 polyunsaturated fatty acids intake and  $\omega$ -6:  $\omega$ -3 ratio with systemic immune and inflammatory biomarkers: NHANES 1999-2020 / Y. Li, H. Tang, X. Yang [et al.] // *Front Nutr*. – 2024. – Vol. 11. – 1410154.

117. Li, Y. Endocannabinoid activation of the TRPV1 ion channel is distinct from activation by capsaicin / Y. Li, X. Chen, Y. Nie [et al.] // *J Biol Chem.* – 2021. – Vol. 297. – 101022.
118. Liu, J. A biosynthetic pathway for anandamide / J. Liu, L. Wang, J. Harvey-White [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2006. – Vol. 103, №36. P.13345–13350.
119. Liu, T. Leukotriene D4 paradoxically limits LTC4-driven platelet activation and lung immunopathology / T. Liu, N.A. Barret, J. Nagai // *J Allergy Clin Immunol.* – 2021. – Vol. 148, № 1. – P. 195–208.
120. Lu, H.C. Review of the Endocannabinoid System / H.C. Lu, K. Mackie // *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging.* – 2021. – Vol. 6, № 6. – P. 607–615.
121. Lundstrom, S.L. Allergic asthmatics show divergent lipid mediator profiles from healthy controls both at baseline and following birch pollen provocation / S.L. Lundstrom, J. Yang, H.J. Kallberg [et al.] // *PloS one.* – 2012. – Vol. 7, № 3. – e33780.
122. Ma, S. Cellular metabolism regulates the differentiation and function of T-cell subsets / S. Ma, Y. Ming, J. Wu, G. Cui // *Cell Mol Immunol.* – 2024. – Vol 21, № 5. – P. 419–435.
123. Maccarrone, M. Metabolism of the endocannabinoid anandamide: open questions after 25 years / M. Maccarrone // *Front Mol Neurosci.* – Vol. 10, № 166.
124. Maehara, T. Prostaglandin F2 $\alpha$  receptor antagonist attenuates LPS-induced systemic inflammatory response in mice / T. Maehara, F. Higashitarumi, R. Kondo, K. Fujimori // *FASEB J.* – 2020. – Vol 34, № 11. – P. 15197–15207.
125. Margelidon-Cozzolino, V. Role of Th17 Cytokines in Airway Remodeling in Asthma and Therapy Perspectives / V. Margelidon–Cozzolino, A. Tsicopoulos, C. Chenivesse, P. de Nadai // *Front Allergy.* – 2022. – Vol. 3. – 806391.
126. Margina, D. Analysis of the intricate effects of polyunsaturated fatty acids and polyphenols on inflammatory pathways in health and disease / D. Margina, A. Ungurianu, C. Purdel [et al.] // *Food Chem Toxicol.* – 2020. – Vol. 143. – 111558.
127. Matsuyama, T. The Functional Role of Group 2 Innate Lymphoid Cells in Asthma / T. Matsuyama, K. Machida, K. Mizuno [et al.] // *Biomolecules.* – 2023. – Vol. 13, № 6. – 893.
128. Maurya, N. Therapeutic applications of cannabinoids / N. Maurya, B.K. Velmurugan // *Chem Biol Interact.* – 2018. – Vol. 293. – P. 77–88.
129. McDougle, D.R. Anti-inflammatory  $\omega$ -3 endocannabinoid epoxides / D.R. McDougle, J.E. Watson, A.A. Abdeen [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2017. – Vol. 114, № 30. – P. 6034–6043.
130. Meijerink, J. Inhibition of COX-2-mediated eicosanoid production plays a major role in the anti-inflammatory effects of the endocannabinoid N-docosahexaenoylethanolamine (DHEA) in macrophages / J. Meijerink, M. Poland, M.G. Balvers [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 172, № 1. – P. 24–37.

131. Meijerink, J. N-acyl amines of docosahexaenoic acid and other n-3 polyunsaturated fatty acids – from fishy endocannabinoids to potential leads / J. Meijerink, M. Balvers, R. Witkamp // *Br J Pharmacol.* – 2013. – Vol. 169. – P. 772–783.
132. Meijerink, J. The ethanolamide metabolite of DHA, docosahexaenoylethanolamine, shows immunomodulating effects in mouse peritoneal and RAW264.7 macrophages: evidence for a new link between fish oil and inflammation / J. Meijerink, P. Plastina, J.P. Vincken [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2011. – Vol. 105, № 12. – P. 1798–1807.
133. Miyata, J. 12/15-Lipoxygenase Regulates IL-33-Induced Eosinophilic Airway Inflammation in Mice / J. Miyata, Y. Yokokura, K. Moro [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 19, № 12. – 687192.
134. Mock, E.D. Anandamide and other N-acylethanolamines: A class of signaling lipids with therapeutic opportunities / E.D. Mock, B. Gagestein, M. van der Stelt // *Prog Lipid Res.* – 2023. – Vol. 89. – 101194.
135. Moldaver, D.M. An update on lymphocyte sub-types in Asthma and Airway Disease / D.M. Moldaver, M. Larche, C.D. Rudulier // *Chest.* – 2017. – Vol. 151, № 5. – P. 1122–1130.
136. Moller, I. Randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the effect of treatment with an SPMs-enriched oil on chronic pain and inflammation, functionality, and quality of life in patients with symptomatic knee osteoarthritis: GAUDI study / I. Moller, G. Rodas, J.M. Villalon [et al.] // *J Transl Med.* – 2023. – Vol. 21, № 1. – 423.
137. Morales, P. Towards a better understanding of the cannabinoid-related orphan receptors GPR3, GPR6, and GPR12 / P. Morales, I. Isawi, P.H. Reggio // *Drug Metab. Rev.* – 2018. – Vol. 50, № 1. – P. 74–93.
138. Moran, M.M. TRP Channels as Potential Drug Targets / M.M. Moran // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2018. – Vol. 58. – P. 309–330.
139. Morishima, Y. Th17-associated cytokines as a therapeutic target for steroid-insensitive asthma / Y. Morishima, S. Ano, Y. Ishii [et al.] // *Clin Dev Immunol.* – 2013. – Vol. 2013. – 609395.
140. Navarro, G. Pharmacological data of cannabidiol- and cannabigerol-type phytocannabinoids acting on cannabinoid CB1, CB2 and CB1/CB2 heteromer receptors / G. Navarro, K. Varani, A. Lillo [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2020. – Vol. 159. – 104940.
141. Ni, K.D. The Functions of Cytochrome P450 omega-hydroxylases and the Associated Eicosanoids in Inflammation-Related Diseases / K.D. Ni, J.Y. Liu // *Front Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – 716801.
142. Nichols, J.M. Immune Responses Regulated by Cannabidiol / J.M. Nichols, B.I.F. Kaplan // *Cannabis Cannabinoid Res.* – 2020. – Vol. 5. – P. 12–31.

143. Nicolaou, A. Polyunsaturated Fatty Acid-derived lipid mediators and T cell function / A. Nicolaou, C. Mauro, P. Urquhart, F. Marelli-Berg // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – 75.
144. Nie, L. The structural basis of fatty acid elongation by the ELOVL elongases / L. Nie, T.C. Pascoa, A.C.W. Pike [et al.] // *Nat Struct Mol Biol.* – 2021. – Vol. 28, № 6. – P. 512–520.
145. Norel, X. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CIX. Differences and Similarities between Human and Rodent Prostaglandin E(2) Receptors (EP1-4) and Prostacyclin Receptor (IP): Specific Roles in Pathophysiologic Conditions. *Pharmacol* / X. Norel, Y. Sugimoto, G. Ozen [et al.] // *Pharmacol Rev.* – 2020. – Vol. 72, № 4. – P. 910 – 968.
146. Ohyama, K. Evaluation of the Association between Topical Prostaglandin F2 $\alpha$  Analogs and Asthma Using the JADER Database: Comparison with  $\beta$ -Blockers / K. Ohyama, M. Sugiura // *Yakugaku Zasshi.* – 2018. – Vol. 138, № 4. – P. 559–564. In Japanese.
147. Orio, L. Oleoylethanolamide, Neuroinflammation, and Alcohol Abuse / L. Orio, F. Alen, F.J. Pavon [et al.] // *Front Mol Neurosci.* – 2019. – Vol. 11, №490.
148. O'Sullivan, S.E. An update on PPAR activation by cannabinoids / S.E. O'Sullivan // *Br J Pharmacol.* – 2016. – Vol. 173, № 12. – P. 1899–1910.
149. Pacher, P. Beyond THC and endocannabinoids / P. Pacher, N.M. Kogan, R. Mechoulam // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2020. – Vol. 60. – P. 637–659.
150. Pan, R. Diagnostic value of IL-6 for patients with asthma: a meta-analysis / R. Pan, S. Kuai, Q. Li [et al.] // *Allergy, asthma, and clinical immunology.* – 2023. – Vol. 19, №1. – 39.
151. Panigrahy, D. Resolution of inflammation: An organizing principle in biology and medicine / D. Panigrahy, M.M. Gilligan, C.N. Serhan, K. Kashfi // *Pharmacol Ther.* – 2021. – Vol. 26. – 107879.
152. Papi, A. Asthma / A. Papi, C. Brightling, S.E. Pedersen [et al.] // *Lancet.* – 2018. Vol. 391, № 10122. – P. 783–800.
153. Paterniti, L.D. Docosahexaenoic acid attenuates the early inflammatory response following spinal cord injury in mice: In-vivo and in-vitro studies / I.D. Paterniti, R. Impellizzeri, E. Di Paola [et al.] // *Journal of Neuroinflammation.* – 2014. – Vol. 11, № 6.
154. Paton, K.F. N-docosahexaenoyl ethanolamine (synaptamide) has antinociceptive effects in male mice / K.F. Paton, R. Shirazi, M. Vyssotski, B.M. Kivell // *Eur J Pain.* – 2020. – Vol. 24, №10. – P. 1990–1998
155. Peng, Z. Phospholipase A2 superfamily in cancer / Z. Peng, Y. Chang, J. Fan [et al.] // *Cancer Lett.* – 2021. – Vol. 28, № 497. – P. 165–177.
156. Perez-Mojica, J.E. Docosahexaenoic acid and oleic acid induce altered DNA methylation of individual CpG loci in Jurkat T cells / J.E. Perez-Mojica, K.A.

Lillycrop, C. Cooper [et al.] // Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. – 2020. – Vol. 158. – 102128.

157. Petrosino, S. The pharmacology of palmitoylethanolamide and first data on the therapeutic efficacy of some of its new formulations / S. Petrosino, V. Di Marzo // *Br J Pharmacol.* – 2017. – Vol. 174, № 11. – P. 1349–1365.

158. Piper, K. Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators / K. Piper, W.C. William, J.L. Harwood // *Essays in Biochemistry.* – 2020. – Vol. 64. – P. 401–421.

159. Powell W.S. Biosynthesis, biological effects, and receptors of hydroxyeicosatetraenoic acids (HETEs) and oxoeicosatetraenoic acids (oxo-ETEs) derived from arachidonic acid / W.S. Powell, J. Rokach // *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids.* – 2015. – Vol. 1851, № 4. – P. 340–355.

160. Qin, Z. Immunometabolism in the pathogenesis of asthma / Z. Qin, Y. Wang, Y. Xu [et al.] // *Immunology.* – 2024. – Vol. 171, № 1. – P. 1–17.

161. Quoc, Q.L. Role of thymus and activation-regulated chemokine in allergic asthma / Q.L. Quoc, J.Y. Moon, D.H. Lee [et al.] // *J Asthma Allergy.* – 2022. – Vol. 15. – P. 157 – 167.

162. Radmark, O. Formation of eicosanoids and other oxylipins in human macrophages / O. Radmark // *Biochem Pharmacol.* – 2022. – Vol. 204. – 115210.

163. Rahaman, O. Endocannabinoids in immune regulation and immunopathologies / O. Rahaman, D. Ganguly // *Immunology.* – 2021. – Vol. 164, № 2. – P. 242–252.

164. Rahman, S.M.K. Roles of Endocannabinoids and Endocannabinoid-Like Molecules in Energy Homeostasis and Metabolic Regulation: A Nutritional Perspective / S.M.K. Rahman, T. Uyama, Z. Hussain, N. Ueda // *Annu Rev Nutr.* – 2021. – Vol. 41. – P. 177–202.

165. Ramakrishnan, R. K. Role of IL-17 in asthma pathogenesis and its implications for the clinic / R.K. Ramakrishnan, S. Al Heialy, Q. Hamid // *Expert review of respiratory medicine.* – 2019. – Vol. 13, № 11. – P. 1057–1068.

166. Rankin, L. The Basal Pharmacology of Palmitoylethanolamide / L. Rankin, C.J. Fowler // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 21. – 7942.

167. Raso, G.M. Palmitoylethanolamide in CNS health and disease / G. M. Raso, R. Russo, A. Calignano, R. Meli // *Pharmacol Res.* – 2014. – Vol. 86. – P. 32–41.

168. Ray, A. Neutrophilic Inflammation in Asthma and Association with Disease Severity / A. Ray, J.K. Kolls // *Trends Immunol.* – 2017. – Vol. 38, №4. – P. 942–954.

169. Rodrigues, H.G. Fatty acids as modulators of neutrophil recruitment, function and survival / H.G. Rodrigues, F. Takeo Sato, R. Curi, M.A.R. Vinolo // *Eur J Pharmacol.* – 2016. – Vol. 785. – P. 50–58.

170. Romero-Sandoval, A. Spinal microglial and perivascular cell cannabinoid receptor type 2 activation reduces behavioral hypersensitivity without tolerance after

peripheral nerve injury / A. Romero-Sandoval, N. Nutile-McMenemy, J.A. DeLeo // *Anesthesiology*. – 2008. – Vol. 108. – P. 722–734

171. Rucker, D. Physiology, Thromboxane A2. [Электронный ресурс] / D. Rucker, A.S. Dhamoon // *StarPearl*. – 2022. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539817/>

172. Saini, R.K. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review / R.K. Saini, Y. S. Keum // *Life Sci*. – 2018. – Vol. 203. – P. 255–267.

173. Sarparast, M. Cytochrome P450 Metabolism of Polyunsaturated Fatty Acids and Neurodegeneration / M. Sarparast, D. Dattmore, J. Alan, K.S.S. Lee // *Nutrients*. – 2020. – Vol. 12, № 11. – 3523.

174. Sayd, A. Systemic administration of oleoylethanolamide protects from neuroinflammation and anhedonia induced by LPS in rats / A. Sayd, M. Anton, F. Alen [et al.] // *Int J Neuropsychopharmacol*. – 2016. – Vol. 19, № 3. – pyw004.

175. Scheau, C. Cannabinoids in the Pathophysiology of Skin Inflammation / C. Scheau, I.A. Badarau, L.G. Mihai [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – 652.

176. Schulze, M.B. Intake and metabolism of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: nutritional implications for cardiometabolic diseases / M.B. Schulze, A.M. Minihane, R.N.M. Saleh, U. Riserus // *Lancet Diabetes Endocrinol*. – 2020. – Vol. 8, № 11. – P. 915–930.

177. Schwartz, G.J. The lipid messenger OEA links dietary fat intake to satiety / G.J. Schwartz, J. Fu, G. Astarita [et al.] // *Cell Metab*. – 2008. – Vol. 8, № 4. – P. 281–288.

178. Sekheri, M. 15-Epi-LXA4 and 17-epi-RvD1 restore TLR9-mediated impaired neutrophil phagocytosis and accelerate resolution of lung inflammation / M. Sekheri, D. El Kebir, N. Edner, J.G. Filep // *Proc Natl Acad Sci*. – 2020. – Vol. 177, № 14. – P. 7971–7980.

179. Serhan, C.N. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators / C.N. Serhan, B.D. Levy // *J Clin Invest*. – 2018. – Vol. 128. – P. 2657–2669.

180. Serhan, C.N. The Atlas of Inflammation Resolution (AIR) / C.N. Serhan, S.K. Gupta, M. Perretti [et al.] // *Mol Aspects Med*. – 2020. – Vol. 74. – 100894.

181. Seumois, G. Single-cell transcriptomic analysis of allergen-specific T cells in allergy and asthma / G. Seumois, C. Ramirez-Suastegui, B.J. Schmiedel [et al.] // *Sci Immunol*. – 2020. – Vol. 5, №48. – eaba6087.

182. Shramko, V.S. The Short Overview on the Relevance of Fatty Acids for Human Cardiovascular Disorders / V.S. Shramko, Y.V. Polonskaya, E.V. Kashtanova [et al.] // *Biomolecules*. – 2020. – Vol.10, № 8. – 1127.

183. Siddiqui, S. Eosinophils and tissue remodeling: Relevance to airway disease / S. Siddiqui, C. Bachert, L. Bjermer [et al.] // *J Allergy Clin Immunol*. – 2023. – Vol. 152, № 4. – P. 841–857.

184. Sihag, J. Oleoylethanolamide: the role of a bioactive lipid amide in modulating eating behaviour / J. Sihag, P.J.H. Jones // *Obes Rev.* – 2018. – Vol 19. – P. 178–197.
185. Silva-Martinez, G.A. Arachidonic and oleic acid exert distinct effects on the DNA methylome / G.A. Silva-Martinez, D. Rodriguez-Rios, Y. Alvarado-Caudillo [et al.] // *Epigenetics.* – 2016. – Vol. 11, № 5. – P. 321–334.
186. Simard, M. N-eicosapentaenoyl-ethanolamine decreases the proliferation of psoriatic keratinocytes in a reconstructed psoriatic skin model / M. Simard, A. Tremblay, S. Morin [et al.] // *Sci Rep.* – 2023. – Vol. 13. – 12113.
187. Siripornpanich, S. Zinc and vitamin C deficiencies associate with poor pulmonary function in children with persistent asthma / S. Siripornpanich, N. Chongviriyaphan, W. Manuyakorn, P. Matangkasombut // *Asian Pac J Allergy Immunol.* – 2020. – Vol. 40, № 2. – P.103–110.
188. Sokolowska, M. Current perspective on eicosanoids in asthma and allergic diseases: EAACI Task Force consensus report, part I / M. Sokolowska, G.E. Rovati, Z. Diamant [et al.] // *Allergy.* – 2021. – Vol. 76, № 1. – P. 114–130.
189. Sun, J. Protective effects of metformin on lipopolysaccharide induced airway epithelial cell injury via NF  $\kappa$ B signaling inhibition / J. Sun, N. Huang, W. Ma [et al.] // *Mol Med Rep.* – 2019. – Vol. 19, № 3. – P. 1817–1823.
190. Takemura, M. Imbalance of endogenous prostanoids in moderate-to-severe asthma / M. Takemura, A. Niimi, H. Matsumoto [et al.] // *Allergol Int.* – 2017. – Vol. 66, № 1. – P. 83–88.
191. Tan, R. The Role of 12/15-Lipoxygenase and Its Various Metabolites Generated from Multiple Polyunsaturated Fatty Acids as Substrates in Inflammatory Responses / R. Tan, B. Yan, C. Wang, L. Zhang // *Biomed Res Int.* – 2023. – Vol. 2023. – 9810176.
192. Tanno, H. Production of branched-chain very-long-chain fatty acids by fatty acid elongases and their tissue distribution in mammals / H. Tanno, T. Sassa, M. Sawai, A. Kihara // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* – 2021. – Vol. 1866, № 1. – 158842.
193. Toth, K.F. Cannabinoid Signaling in the Skin: Therapeutic Potential of the “C(ut)annabinoid” System / K.F. Toth, D. Adam, T. Biro, A. Olah // *Molecules.* – 2019. – Vol. 24, № 5. – 918.
194. Tripathi, R.K.P. A perspective review on fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitors as potential therapeutic agents / R.K.P. Tripathi // *Eur J Med Chem.* – 2020. – Vol. 188. – 111953.
195. Tsabouri, S. Corrigendum: Subcutaneous and sublingual immunotherapy in allergic asthma in children / S. Tsabouri, A. Mavroudi, G. Feketea, G. V. Guibas // *Frontiers in Pediatrics.* – 2017. – Vol. 21, № 5. – 82.

196. Tsuboi, K. Endocannabinoids and related N-acylethanolamines: biological activities and metabolism / K. Tsuboi, T. Uyama, Y. Okamoto, N. Ueda // *Inflamm Regen.* – 2018. – Vol. 38. – 28.
197. Tyrtysnaia, A. Anti-Inflammatory Activity of N-Docosahexaenoylethanolamine and N-Eicosapentaenoylethanolamine in a Mouse Model of Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation / A. Tyrtysnaia, S. Konovalova, A. Bondar [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 19. – 10728.
198. Tyrtysnaia, A. Fatty Acid-Derived N-acylethanolamines Dietary Supplementation Attenuates Neuroinflammation and Cognitive Impairment in LPS Murine Model / A. Tyrtysnaia, S. Konovalova, A. Ponomarenko [et al.] // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 14, № 18. – 3879.
199. Uchida, Y. Implications of prostaglandin D2 and leukotrienes in exhaled breath condensates of asthma / Y. Uchida, T. Soma, K. Nakagome [et al.] // *Ann Allergy Asthma Immunol.* – 2019. – Vol. 123, № 1. – P. 81–88.
200. Venter, C. EAACI position paper: Influence of dietary fatty acids on asthma, food allergy, and atopic dermatitis / C. Venter, R.W. Meyer, B.I. Nwaru [et al.] // *Allergy.* – 2019. – Vol. 74, № 8. – P. 1429–1444.
201. Wambre, E. Specific immunotherapy modifies allergen-specific CD4(+) Tcell responses in an epitope-dependent manner / E. Wambre, J.H. DeLong, E.A. James [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 133, № 3. – P. 872–879.
202. Wangberg, H. Aspirin-exacerbated respiratory disease / H. Wangberg, A.A. White // *Curr Opin Immunol.* – 2020. – Vol. 66. – P. 9–13.
203. Watson, J.E. Emerging class of omega-3 fatty acid endocannabinoids & their derivatives / J.E. Watson, J.S. Kim, A. Das // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* – 2019. – Vol. 143. – 106337.
204. Werz, O. Introduction to the lipid mediators special issue / O. Werz // *Biochem Pharmacol.* – 2023. – Vol. 207. – 115375.
205. Wu, S. OEA loaded liposomes with the neuroprotective effect for stroke therapy / S. Wu, X. Yang // *Front Chem.* – 2022. – Vol. 10. – 1014208.
206. Xia, H. Protectin DX ameliorates inflammation in sepsis-induced acute lung injury through mediating PPARgamma/NF-kappaB pathway / H. Xia, Y. Ge, F. Wang [et al.] // *Immunol Res.* – 2020. – Vol. 68, № 5. – P. 280–288.
207. Xia, J. Prostaglandin D2 receptors in human mast cells / J. Xia, S. Abdu, T.J.A. Maguire [et al.] // *Allergy.* – 2020. – Vol. 75, № 6. – P. 1477–1480.
208. Xie, Y. Modeling Inflammation in Zebrafish for the Development of Anti-inflammatory Drugs / Y. Xie, A.H. Meijer, M.J.M. Schaaf // *Front Cell Dev Biol.* – 2021. – Vol. 8. – 620984.
209. Xie, Y. Th17 cells and corticosteroid insensitivity in severe asthma / Y. Xie, P.W. Abel, T.B. Casale, Y. Tu // *J Allergy Clin Immunol.* – 2022. – Vol. 149, №2. – P. 467–479.

210. Xu, X. Arachidonic Acid 15-Lipoxygenase: Effects of Its Expression, Metabolites, and Genetic and Epigenetic Variations on Airway Inflammation / X. Xu, J. Li, Y. Zhang, L. Zhang // *Allergy Asthma Immunol Res.* – 2021. – Vol. 13, № 5. – P. 684–696.
211. Yamaguchi, A. Eicosanoids in inflammation in the blood and the vessel / A. Yamaguchi, E. Botta, M. Holinstat // *Front Pharmacol.* – 2022. – Vol. 13. – 997403.
212. Yang, A. Role of specialized pro-resolving lipid mediators in pulmonary inflammation diseases: mechanisms and development / A. Yang, Y. Wu, G. Yu, H. Wang // *Respir Res.* – 2021. – Vol. 22, № 1. – 204.
213. Yonker, L.M. Untapped Potential: Therapeutically Targeting Eicosanoids and Endocannabinoids in the Lung / L.M. Yonker, J. Barrios, H. Mou, B.P. Hurley // *Clin Pharmacol Ther.* – 2021. – Vol. 110, № 1. – P. 69–81.
214. Zhang, L. Epigenetics in Health and Disease / L. Zhang, Q. Lu, C. Chang // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol. 1253. – P. 3–55.
215. Zhang, S. Interplay between Cellular Metabolism and Cytokine Responses during Viral Infection / S. Zhang, J. Carriere, X. Lin [et al.] // *Viruses.* – 2018. – Vol. 10, № 10. – 521.
216. Zhang, Y.F. A COX-2/sEH dual inhibitor PTUPB ameliorates cecal ligation and puncture-induced sepsis in mice via anti-inflammation and anti-oxidative stress / Y.F. Zhang, C.C. Sun, J.X. Duan [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2020. – Vol. 126. – 109907.
217. Zhao, S.T. Regulatory T cells and asthma / S.T. Zhao, C.Z. Wang // *J Zhejiang Univ Sci B.* – 2018. – Vol. 19, № 9. – P. 663–673.
218. Zhao, Y. Pharmacogenomics of Leukotriene Modifiers: A Systematic Review and Meta-Analysis / Y. Zhao, X. Zhang, C. Han [et al.] // *J Pers Med.* – 2022. – Vol. 12, № 7. – 1068.
219. Zhu, C. Proinflammatory stimuli control N-acylphosphatidylethanolamine-specific phospholipase D expression in macrophages / C. Zhu, C. Solorzano, S. Sahar [et al.] // *Molecular pharmacology.* – 2011. – Vol. 79, № 4. – P. 786–792.
220. Zhu, Z. Metabolomics in the prevention and management of asthma / Z. Zhu, C.A.J. Camargo, K. Hasegana // *Expert Rev Respir Med.* – 2019. – Vol. 13, № 12. – P. 1135–1138.