

# ПРИМЕНЕНИЕ $\omega$ -3-ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ОБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ

*В.В. Ефимов, Л.С. Воейкова, В.И. Блажко, Л.М. Самохина, И.В. Талалай*

*ГУ «Институт терапии имени А.Т. Малой АМН Украины», Харьков*

**Ключевые слова:** хронические обструктивные заболевания легких, дисфункция эндотелия, эластаза, катепсин G, нетрипсиноподобные протеиназы,  $\omega$ -3-полиненасыщенные жирные кислоты.

Известно, что эндотелий играет фундаментальную роль в регуляции тонуса сосудов и гемостаза и является модулятором многих биологических и физиологических свойств сосудистой стенки. Активация или повреждение эндотелия имеет важное значение для развития широкого спектра патологических процессов в организме [5, 10].

В настоящее время в отечественной литературе имеются немногочисленные данные о нарушении функции эндотелия у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких (ХОЗЛ) [3, 11].

В условиях воспаления при ХОЗЛ в тканях накапливается большое количество нейтрофилов, высвобождающих избыточное количество протеиназ. Последние воздействуют на базальную мембрану клеток и вызывают некроз эндотелиоцитов, что приводит к развитию эндотелиальной дисфункции (ЭД) у таких больных [3, 12].

В ряде экспериментальных исследований установлена связь между хроническим инфекционным воспалением в дыхательных путях и ремоделированием легочных сосудов, а также взаимосвязь между выраженностью воспаления и степенью структурных изменений сосудов [14].

Среди протеолитических ферментов, выделяемых нейтрофилами, мигрирующими в очаги повреждения эндотелия и приводящими к нарушению его функции, наиболее значимыми в деструктивных процессах являются эластаза и катепсин G. Исследовать катепсин G желателно на фоне изучения других нетрипсиноподобных протеиназ (НТПП), которые способны превращать ангиотензин I в ангиотензин II. Регуляция активности эластаз, катепсина G происходит при помощи  $\alpha$ -1 ингибитора протеиназ ( $\alpha$ -1ИП) [6, 15]. Очень важным для изучения развития ЭД также является исследование активности эндотелиальной эластазы, продуцируемой эндотелиоцитами [2].

Возможность коррекции ЭД изучалась у больных ишемической болезнью сердца, при сердеч-

ной недостаточности под влиянием ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, кардона-та, симвастатина, аргинина цитрата, антагонистов кальция [5, 10, 11].

В литературе практически отсутствуют данные о возможности фармакокоррекции ЭД у больных с ХОЗЛ, что может стать одним из перспективных направлений в лечении ХОЗЛ и профилактике их осложнений.

Омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) — один из важнейших структурных и функциональных элементов клеточной мембраны. Они входят в состав фосфолипидов и эфиров холестерина, создающих основу липидного матрикса мембран. ПНЖК являются исходной субстанцией для синтеза эйкозаноидов — простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов и других биологически активных веществ, улучшающих тонус сосудов, состояние микроциркуляции, агрегацию тромбоцитов, хемотаксис и миграцию нейтрофильных гранулоцитов, выработку цитокинов [2].

В ряде исследований [1, 2, 13] показаны противовоспалительные, фибринолитические, антиагрегантные, иммуномодулирующие, вазо- и бронходилатирующие свойства  $\omega$ -3-ПНЖК, а также их способность снижать давление в легочной артерии. Есть основания предполагать, что применение препаратов ПНЖК будет способствовать нормализации ЭД у больных ХОЗЛ.

Цель работы — изучить влияние  $\omega$ -3-полиненасыщенных жирных кислот на показатели функции эндотелия и активность ферментов деструкции эндотелия у больных ХОЗЛ.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Обследовано 30 человек в возрасте от 43 до 70 лет (средний возраст  $(59,4 \pm 9,1)$  года), больных с ХОЗЛ II стадии в фазе обострения. Обследование проводили в условиях стационара на базе отдела

пульмонологии Института терапии им. Л.Т. Малой АМН Украины. Диагноз устанавливали на основании клинической картины заболевания, данных лабораторно-функциональных методов исследования. Наличие и степень тяжести ХОЗЛ устанавливали в соответствии с критериями GOLD (1998) и Приказом МЗ Украины № 499.

Всем больным проводили исследование ФВД на спирометре Спиросифт-3000 (Япония) с анализом показателей ОФВ<sub>1</sub>, ФЖЕЛ, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ, ПОС, МОС<sub>75–25</sub>. Обратимость ОФВ<sub>1</sub> после ингаляции 200 мкг салбутамола была менее 15%.

Изучение активности НТПП, эластазы, эластазоингибиторной активности  $\alpha$ -ИИП в сыворотке крови проводили высокочувствительным ферментативным методом, концентрации катепсина G — иммуноферментным [4, 7–9]. Содержание эндотелина-1 в плазме крови определяли иммуноферментным методом при помощи набора реактивов производства BIG Endothelin-1 (HUMAN) Peninsula Laboratories Inc. Division of Bachem.

Все больные были случайным образом распределены на две группы по 15 человек в каждой. Базисное лечение в обеих группах было идентичным и включало антибиотики, бронхорасширяющие препараты, мукоурегуляторы. Больным II группы дополнительно к базисному лечению назначали  $\omega$ -3-ПНЖК в дозе 1,0 г 4 раза в сутки в течение 3 месяцев.

Контрольную группу составили 16 практически здоровых лиц с нормальным артериальным давлением, не имеющих сосудистых заболеваний в анамнезе, не страдающих аллергическими заболеваниями.

Количественные данные обрабатывали методом вариационной статистики с определением средней арифметической, критерия достоверности различий, уровня значимости отличий и коэффициента корреляции рангов Спирмена с помощью приложения Microsoft Excel. Различия между средним арифметическим считали достоверным при  $P < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При первичном обследовании больных в стационаре наиболее частой жалобой являлся постоянный кашель с трудноотделяемой мокротой слизистого и гнойно-слизистого характера. Одышка при незначительной физической нагрузке являлась постоянной жалобой у 6 больных I группы, а также появлялась у

9 пациентов при умеренной физической нагрузке. Во II группе одышка при незначительной физической нагрузке беспокоила 8 больных, у остальных она появлялась при умеренной физической нагрузке.

Сухие диффузные хрипы, а также одиночные влажные выслушивались преимущественно в нижних отделах легких и в подмышечной области у всех пациентов обеих групп.

Данные, полученные при исследовании активности эндотелиальной эластазы, эластазоингибиторной активности  $\alpha$ -ИИП и НТПП, а также концентрации катепсина G в сыворотке крови, представлены в табл. 1.

При исследовании протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови у больных с ХОЗЛ выявлено снижение концентрации катепсина G и активности эндотелиальной эластазы, повышение активности НТПП и эластазоингибиторной активности  $\alpha$ -ИИП у больных обеих групп, различия между группами были недостоверны.

Снижение активности эндотелиальной эластазы в сыворотке крови больных с ХОЗЛ II стадии в фазе обострения можно расценить как результат повышенного ее потребления в очаге воспаления и/или выведения из организма. Снижение концентрации катепсина G также можно считать следствием повышенного расхода этого фермента в условиях воспаления. Активность  $\alpha$ -ИИП повышается на фоне возрастания активности протеиназ, в частности, НТПП, так как всякий острый воспалительный процесс проявляется активацией системы протеиназы — ингибиторы протеиназ [6, 15].

Как правило, диагноз ХОЗЛ устанавливают больным, которые длительно страдают частыми ОРЗ, бронхитами в весенне-осенний период, не обращаясь к врачу-пульмонологу. От начала заболевания до установления диагноза проходит много лет. За это время в связи с длительностью деструктивных процессов в тканях и сосудистой стенке наблюдается истощение ресурсов эластаз и катепсина G.

Снижение активности эластазы на фоне повышения эластазоингибиторной активности  $\alpha$ -ИИП может свидетельствовать не только об исчерпании эластаз, но и об угнетении их активности под воздействием  $\alpha$ -ИИП. Снижение активности эндотелиальной эластазы может быть также обусловлено уменьшением активного синтеза и экспрессии этого фермента на поверхности эндотелиоцитов

Таблица 1. Активность эластазы, НТПП, эластазоингибиторная активность  $\alpha$ -ИИП и концентрация катепсина G в сыворотке больных с ХОЗЛ до лечения

Показатель	I группа (n = 15)	II группа (n = 15)	Контрольная группа (n = 16)
Активность эндотелиальной эластазы, Ед/мл	0,347 $\pm$ 0,068**	0,398 $\pm$ 0,057**	16,768 $\pm$ 2,537
Концентрация катепсина G, мг/мл	0,345 $\pm$ 0,067**	0,248 $\pm$ 0,055**	2,793 $\pm$ 0,806
Активность $\alpha$ -ИИП, Ед/мл	249,8 $\pm$ 1,9	252,4 $\pm$ 1,5	231,5 $\pm$ 0,9
Активность НТПП, г/л	0,022 $\pm$ 0,003*	0,020 $\pm$ 0,006*	0,014 $\pm$ 0,002

Примечание. Достоверность различий между больными ХОЗЛ и контрольной группой: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ .

вследствие их повреждения или гибели [25]. Таким образом, снижение активности эндотелиальной эластазы может свидетельствовать об утяжелении состояния больного.

Снижение концентрации катепсина G может быть связано также с включением его в развитие деструктивных процессов вследствие снижения эластазной активности.

Изменение активности НТПП не коррелирует с изменениями уровня катепсина G, поэтому предположение о том, что у больных с ХОЗЛ катепсин G принимает участие в основном в деструктивных, а не в вазоконстрикторных процессах, представляется нам весьма вероятным.

Также наблюдалось снижение относительно контроля концентрации эндотелина-1 (Э-1) в плазме крови у больных обеих групп — ( $5,07 \pm 0,92$ ) пмоль/л в I группе ( $P < 0,05$ ), ( $4,92 \pm 0,87$ ) пмоль/л — во II ( $P < 0,05$ ) против ( $9,11 \pm 0,41$ ) пмоль/л — в контрольной.

Данный факт можно объяснить угнетением функции эндотелия вследствие хронического воспаления и снижением синтеза эндотелиоцитами Э-1. Нейтрофилы, макрофаги напрямую или опосредованно через цитокины могут повреждать базальную мембрану эндотелиоцитов и способствовать не только повреждению этих клеток, но и их гибели.

После лечения также провели всестороннее клинико-функциональное и лабораторное обследование больных.

Гнойный характер мокроты сохранялся у 30% больных I группы, сухие хрипы продолжали выслушиваться у 15% пациентов. У больных II группы ни у одного не наблюдали гнойной мокроты. При аускультации хрипы у пациентов этой группы не выслушивались.

Изменения активности эластазы, НТПП,  $\alpha$ -ИИП и концентрации катепсина G после лечения приведены в табл. 2.

У всех больных с ХОЗЛ после лечения активность эндотелиальной эластазы повышалась, достигая контрольных значений только у пациентов II группы.

Концентрация катепсина G в плазме крови также увеличивалась у больных обеих групп, не достигая контрольных значений ни в одной из них. Более значительное повышение концентрации катепсина наблюдалось во II группе.

Данные изменения могут быть связаны с уменьшением активности воспаления и деструктивных процессов в бронхолегочной системе и, как следствие, с высвобождением из этих реакций катепсина G и эластазы и увеличением их концентрации и активности в сыворотке крови. Повышение активности эндотелиальной эластазы также может быть связано с уменьшением негативного влияния на эндотелиоциты нейтрофильных и бактериальных цитокинов и нормализацией экспрессии клетками эндотелия различных факторов, в том числе и эластазы.

Активность  $\alpha$ -ИИП после лечения снижалась в обеих группах, достоверных различий между группами не выявлено.

Активность НТПП также снижалась в обеих группах, больше — во II, что можно объяснить уменьшением активности воспаления и деструктивных процессов в эндотелии.

Концентрация Э-1 в плазме крови после лечения повышалась у всех больных, но достигала контрольных значений только у пациентов II группы: до ( $6,13 \pm 0,87$ ) пмоль/л ( $P < 0,05$ ) — в I группе, ( $5,62 \pm 0,92$ ) пмоль/л ( $P < 0,05$ ) — во II против ( $9,11 \pm 0,41$ ) пмоль/л — в контрольной.

У больных, получавших только базовое лечение, концентрация Э-1 остается ниже контрольных значений. Следовательно, применение  $\omega$ -3-ПНЖК может способствовать нормализации ЭД у больных с ХОЗЛ путем влияния на систему протеиназы — ингибиторы протеиназы.

## ВЫВОДЫ

Хроническое обструктивное заболевание легких характеризуется выраженным снижением активности эндотелиальной эластазы и незначительным повышением эластазоингибиторной активности  $\alpha$ -ИИП, что обусловлено обострением хронического воспалительного процесса в бронхолегочной системе.

1. Снижение активности эндотелиальной эластазы у больных с ХОЗЛ может быть связано с повреждением эндотелия в бронхолегочной системе и развитием эндотелиальной дисфункции.

2. У больных с ХОЗЛ II стадии в фазе обострения наблюдается снижение концентрации эндотелина-1 в плазме крови.

3. Дополнительное назначение к базисному лечению  $\omega$ -3-полиненасыщенных жирных кислот

Таблица 2. Активность эластазы, НТПП, эластазоингибиторная активность  $\alpha$ -ИИП и концентрация катепсина G в сыворотке больных с ХОЗЛ после лечения

Показатель	I группа (n = 15)	II группа (n = 15)	Контрольная группа (n = 16)
Активность эндотелиальной эластазы, Ед/мл	$8,365 \pm 0,078^*$	$14,867 \pm 0,165^{**}$	$16,768 \pm 2,537$
Концентрация катепсина G, мг/мл	$1,745 \pm 0,267^*$	$2,641 \pm 0,775^{**}$	$2,793 \pm 0,806$
Активность $\alpha$ -ИИП, Ед/мл	$238,0 \pm 1,7$	$236,4 \pm 1,8$	$231,5 \pm 0,9$
Активность НТПП, г/л	$0,012 \pm 0,009$	$0,011 \pm 0,007$	$0,014 \pm 0,002$

Примечание. \* Достоверность различий между больными ХОЗЛ и контрольной группой,  $P < 0,05$ ;

\*\* достоверность различий между группами больных ХОЗЛ,  $P < 0,05$ .

способствовало нормализации активности эндотелиальной эластазы и концентрации катепсина G, а также снижению активности нетрипсиноподобных протеиназ.

4. Применение  $\omega$ -3-полиненасыщенных жирных кислот у больных с ХОЗЛ способствует клиническому улучшению их состояния и нормализации эндотелиальной дисфункции.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гаврисюк В.К. Применение омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в медицине // Укр. пульмон. журн.— 2001.— № 3.— С. 5—10.
2. Гаврисюк В.К., Ячник А.И., Лещенко С.И. и др. Перспективы применения омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в медицине // Фарм. вісн.— 1999.— № 3.— С. 39—41.
3. Кароли Н.А., Ребров А.П. Некоторые механизмы развития легочной гипертензии у больных с хронически обструктивными заболеваниями легких: Обзор // Терапевт. арх.— 2005.— № 3.— С. 87—93.
4. Лизосомы. Методы исследования / Под ред. Дж. Дингла.— М.: Мир, 1980.— 342 с.
5. Малая А.Т., Корж А.Н., Балковая Л.Б. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы.— Х.: Торсинг, 2000.— 432 с.
6. Оглоблина О.Г., Белова Л.А., Архакова И.А. и др. Биохимические и клинические аспекты участия гранулоцитов и их протеиназ в поражении стенки сосудов // Терапевт. арх.— 1996.— № 5.— С. 78—80.
7. Пат. України № 44066 МПК G01N33/48. Набір для визначення концентрації катепсину G в біологічних рідинах / Самохіна Л.М., Кравченко Н.О., Максимова Н.А. Опубл.: 17.05.2004.— Бюл. № 5.— 6 с.
8. Пат. України № 45068 МПК G01N33/48. Набір для визначення активності ендотеліальної еластази в біологічних рідинах / Самохіна Л.М., Максимова Н.А. Опубл.: 15.06.2004.— Бюл. № 6.— 6 с.
9. Пат. України № 72346 МПК G01N33/48; A61J1/00, C12N9/66 Набір для визначення еластазоінгібіторної активності  $\alpha$ -1-інгібітору протеїназ в біологічних рідинах / Самохіна Л.М. Опубл.: 15.02.2005.— Бюл. № 2.— 6 с.
10. Рудык Ю.С., Пивовар С.Н., Бондаренко Т.И. и др. Влияние «Симвастатина» на функциональное состояние эндотелия сосудов у больных с нестабильной стенокардией // Укр. терапевт. журн.— 2005.— № 3.— С. 89—95.
11. Тюрина С.Н. Влияние аргинина цитрата на проходимость бронхов и функцию эндотелия у больных со стенокардией напряжения и сопутствующим хроническим обструктивным бронхитом // Укр. кардиол. журн.— 2002.— № 6.— С. 45—48.
12. Фещенко Ю.І. Хронічні обструктивні захворювання легень: проблемні питання // Нова медицина.— 2005.— № 1 (18).— С. 18—20.
13. Heemskerk J.W., Vossen R.C., van Dam-Mieras M.C. Polyunsaturated fatty acids and function of platelets and endothelial cells // Curr. Opin. Lipidol.— 1996.— Vol. 7.— P. 24—29.
14. Hopkins N., Cadogan E., Giles S. et al. Chronic airway infection leads to angiogenesis in the pulmonary circulation // J. Appl. Physiol.— 2001.— N 91.— P. 919—928.
15. Vaday G.G., Lider O. Extracellular matrix moieties, cytokines and enzymes: dynamic effects on immune cell behavior and inflammation // J. Leukoc. Biol.— 2000.— Vol. 67, N2.— P. 149—159.

### ЗАСТОСУВАННЯ $\omega$ -3-ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМИ ОБСТРУКТИВНИМИ ХВОРОБАМИ ЛЕГЕНЬ

В.В. Єфімов, Л.С. Воєйкова, В.І. Блажко, Л.М. Самохіна, І.В. Талалай

Обстежено 30 хворих з хронічними обструктивними хворобами легень (ХОХЛ) II стадії віком від 43 до 70 років (середній вік —  $(59,4 \pm 9,1)$  рік) у фазі загострення. Для вивчення впливу  $\omega$ -3-поліненасичених жирних кислот на ендотеліальну дисфункцію (ЕД) у хворих з ХОХЛ досліджували концентрацію ендотеліну-1 у плазмі крові, а також чинники, які сприяють розвитку ЕД у хворих з ХОХЛ (активність еластази, нетрипсиноподібних протеїназ, концентрацію катепсину G у плазмі крові) до і після 3-місячного курсу лікування. Показано, що додаткове призначення до базисного лікування  $\omega$ -3-поліненасичених кислот сприяло нормалізації активності ендотеліальної еластази й концентрації катепсину G в плазмі крові, а також зниженню рівня ендотеліну-1, поліпшенню клінічного стану хворих.

### THE USE OF $\omega$ -3-POLY UNSATURATED FATTY ACIDS BY PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES

V.V. Yefimov, L.S. Voyeykova, V.I. Blazhko, L.M. Samokhina, I.V. Talalay

The study has been held on 30 patients aged from 43 to 70 years (middle age  $59,4 \pm 9,1$  years old) with COPD of II stage in the exacerbation phase. With the purpose of investigation of  $\omega$ -3-poly unsaturated fatty acids' effects on endothelial dysfunction (ED), blood plasma endothelin-1 levels were studied in COPD patients as well as the causes that promote ED development (activity of elastase and non thrypsin like proteinases, blood plasma concentration of cathepsin G) before and after 3 months of treatment. It has been shown that addition of  $\omega$ -3-poly unsaturated fatty acids to the basic therapy contributed to the normalization of activity of endothelial elastase and blood plasma concentration of cathepsin G as well as to the reduction of endothelin-1 levels and improvement of patients' clinical state.