

М.В.Лизенко, В.И.Петровский, Т.И.Регеранд, А.М.Бахирев, С.Л.Давыдов

НАРУШЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ ЛИПИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Кафедра факультетской терапии Петрозаводского государственного университета

MODIFICATION OF STRUCTURAL LIPIDS IN PATHOGENESIS OF ASTHMA

M.V.Lizenko, V.I.Petrovsky, T.I.Regerand, A.M.Bakhirev, S.A.Davydov

Summary

A comparative investigation of structural lipids in blood cells and low and high density lipoproteins was done in blood samples of 88 patients with different types of bronchial asthma and in 40 donors. Modifications of phospholipid spectrum were determined in the blood cells and the lipoproteins of asthma patients. The abnormality was expressed as a change in ratio between individual phospholipids which was connected with a significant deficiency of the main membrane phospholipid phosphatidylcholine and with increased level of its lysoform lysophosphatidylcholine. These modifications in the structural lipids allow to consider asthma as membrane pathology. We used different types of treatment such as glucocorticosteroids, diet, methylxanthines, adrenergic drugs. Positive effects on the lipoproteins were reached against the background of glucocorticosteroids and dietary therapy. The phospholipid modifications in the blood cells was conservative in all the used methods of treatment.

Резюме

Проведено сравнительное исследование состава структурных липидов в форменных элементах (ФЭ) и липопротеидах (ЛП) низкой (ЛПНП) и высокой (ЛПВП) плотности в крови 88 больных бронхиальной астмой (БА) смешанного генеза и 40 доноров. Установлено нарушение спектра фосфолипидов (ФЛ) как в ФЭ, так и ЛП у пациентов с БА. Отклонение от нормы сводилось к изменению соотношения в индивидуальных ФЛ, что связано со значительным дефицитом у больных основного мембранного фосфолипида — фосфатидилхолина (ФХ) и повышением уровня его лизоформы — лизофосфатидилхолина (ЛФХ). Происходящие перестройки в структурных липидах позволяют отнести БА к патологии с мембранными нарушениями. В исследовании использовались различные методы лечения: глюкокортикостероиды (ГКС), разгрузочно-диетическая терапия (РДТ) и базисная терапия метилксантином и ингаляциями адреномиметика. Положительные эффекты в ЛП сыворотки достигались при ГКС и РДТ. Нарушенный спектр ФЛ в ФЭ крови больных оставался консервативным при различных видах лечения.

Многочисленные эпидемиологические исследования бронхиальной астмы (БА) свидетельствуют о том, что данное заболевание наряду с сахарным диа-

бетом и артериальной гипертонией стало одним из самых распространенных хронических заболеваний в настоящее время [1]. При таких обстоятельствах

каждый новый взгляд на патогенез БА может внести интересные и полезные предложения в плане ее лечения и предупреждения возникновения.

БА является заболеванием целостного организма, в которое вовлекаются основные системы и составные части метаболизма, в т. ч. обмен липидов. Липиды — важнейшие компоненты клеток и тканей организма, активно участвующие в процессе адаптации и регуляции, как в норме, так и при патологии. Наиболее интересна в этом плане роль фосфолипидов (ФЛ) совместно с холестерином (ХС), так как они непосредственно участвуют в построении мембран. Именно на уровне мембран проявляется регуляторная функция структурных липидов и реализуется их патогенетическая роль. Мембраны при БА обеспечивают работу рецепторного аппарата гладкомышечных клеток, состояние тучных клеток и характер взаимодействия иммунокомпетентных клеток. Удобной моделью для оценки состояния организма можно считать эритроцитарную мембрану. Однако структурные липиды являются основным строительным материалом и во всех классах липопротеидов (ЛП), образуя их наружную однослойную мембрану [2]. ЛП, обеспечивающие транспорт нерастворимых в плазме липидов [3], являются фактором, определяющим состояние мембран, в т. ч. клеток крови и респираторного тракта.

Для оценки общей мембранной ситуации в организме проведено исследование метаболизма структурных липидов в форменных элементах (ФЭ), ЛП низкой и высокой плотности (ЛПНП и ЛПВП) крови у пациентов с БА. При этом прослежена динамика показателей ФЛ и ХС на фоне влияния некоторых видов терапии: глюкокортикостероидами (ГКС), разгрузочно-диетической терапии (РДТ) и базисной терапии метилксантином и ингаляциями адреномиметика. Полученные результаты позволяют оценить степень корреляции между благоприятным клинико-физиологическим эффектом и положительным метаболическим сдвигом в составе структурных липидов, возникающим при перечисленных видах лечения.

Исследовали кровь 88 больных БА — пациентов, получающих лечение ГКС (35 человек), РДТ (13 человек) и базисной терапией (40 человек), а также доноров (40 человек). Кровь забирали натощак, центрифугировали и полученную сыворотку использовали для выделения ЛП. Свернувшийся сгусток, представленный белками и ФЭ, 90 % которых составляют эритроциты, тщательно промывали водой для удаления гемоглобина. ЛП выделяли методом осаждения с последующим центрифугированием в рефрижераторной ультрацентрифуге: ЛПНП — при добавлении гепарина и солей кобальта и скорости центрифугирования 4 000 об./мин, ЛПВП — при добавлении декстран-сульфата и скорости 15 000 об./мин. Оставшийся после двух осадений (ЛПНП и ЛПВП₂) супернатант принимали за ЛПВП₃. Из сыворотки, ФЭ, ЛПНП, ЛПВП экстрагировали липиды, разделяли их при использовании тонкослойной хроматографии и

количественно определяли спектрофотометрическим методом. Детально методика описана ранее [4].

Установлено, что при БА в ФЭ крови достоверно снижено содержание общей фракции ФЛ, а в ней — главным образом фосфатидилхолина (ФХ) с одновременным повышением лизоформы — лизофосфатидилхолина (ЛФХ) (табл. 1). Данные изменения четко выражены в расчетных показателях — в коэффициенте ФХ/ЛФХ, значение которого в 5 раз ниже у больных, чем в группе доноров.

Следует отметить, что при БА снижены показатели отношения содержания ФХ к другим ФЛ — сфингомиелину и фосфатидилэтаноламину (СФМ и ФЭА) и ХС, что отражает дефицит основного структурного компонента в ФЭ крови у больных, по сравнению с группой доноров. В мембране эритроцитов больных БА более чем в 2 раза повышен уровень ЛФХ, представляющего собой специфический метаболит, получающийся из ФХ при воздействии на него гидролитического фермента — фосфолипазы А₂, активность которого возрастает при патологии. Рост уровня ЛФХ как лизирующего компонента способствует дестабилизации мембраны. Кроме того, изменение соотношения ФХ/ХС дополнительно дестабилизирует внешнюю плазматическую мембрану эритроцитов.

Как известно, эритроциты играют существенную роль в патогенезе БА, участвуя в процессах переноса

Таблица 1
Содержание структурных липидов в ФЭ крови больных БА и доноров, в % сухого веса

| Показатели | Доноры (n = 40) | Больные БА (n = 60) |
|--|--------------------|------------------------|
| Холестерин | 29,2 ± 0,5 | 32,3 ± 0,6 |
| Общие фосфолипиды | 62,9 ± 1,0* | 52,3 ± 0,9* |
| лизофосфатидилхолин | 1,0 ± 0,1* | 3,4 ± 0,2* |
| сфингомиелин | 16,5 ± 0,6 | 16,1 ± 0,5 |
| фосфатидилхолин | 32,1 ± 0,8* | 21,1 ± 0,7* |
| фосфатидилэтаноламин | 13,3 ± 1,0 | 11,7 ± 0,9 |
| Расчетные показатели | | |
| фосфатидилхолин / лизофосфатидилхолин | 32,1 | 6,2 |
| фосфатидилхолин / сфингомиелин | 1,9 | 1,3 |
| фосфатидилхолин / фосфатидилэтаноламин | 2,4 | 1,8 |
| фосфатидилхолин / холестерин | 1,1 | 0,6 |

Примечание: здесь и в табл. 2-4 * — значения статистически достоверны (p < 0,05).

кислорода и биологически активных веществ, в обеспечении реологии крови, в иммунных реакциях [5]. Дефицит ФХ в форменных элементах крови больных, возрастание уровня его лизирующей формы, изменение соотношения ФХ с другими ФЛ и ХС снижает функциональную роль эритроцитарной мембраны.

Установлено, что нарушения липидного статуса у больных БА происходят не только в ФЭ, но и в жидкой части крови. По сравнению с сывороткой доноров, у пациентов с БА достоверно снижен уровень общих ФЛ в основном за счет дефицита ФХ (табл. 2).

Одновременно в сыворотке больных повышается содержание ЛФХ, что наиболее заметно по снижению в 3 раза значения расчетного показателя ФХ/ЛФХ относительно группы доноров. Аналогично результатам, полученным при исследовании ФЭ, в сыворотке крови больных БА снижены все показатели отношения ФХ к другим ФЛ и ХС, что создавало метаболические условия для изменения структуры мембран во всех компонентах крови.

Таким образом, установлено, что при заболевании БА между ФЭ и сывороткой имеется полная взаимозависимость и идентичность тенденции изменения липидного спектра.

Исследование структурных липидов в ЛПНП показало, что количество общих ФЛ в них достоверно снижено фактически за счет всех компонентов (ФХ, ФЭА, СФМ и фосфатидной кислоты ФК), но в наибольшем дефиците был ФХ (табл. 3).

Таблица 2

Содержание структурных липидов в сыворотке крови больных БА и доноров, в мг/дл

| Показатели | Доноры (n = 40) | Больные БА (n = 60) |
|---|--------------------|------------------------|
| Холестерин | 69,5 ± 1,9 | 72,2 ± 2,8 |
| Общие фосфолипиды | 282,8 ± 5,4* | 230,0 ± 7,8* |
| лизофосфатидилхолин | 5,7 ± 0,7* | 12,7 ± 0,8* |
| сфингомиелин | 77,2 ± 2,1 | 66,9 ± 2,4 |
| фосфатидилхолин | 177,6 ± 4,5* | 128,8 ± 5,5* |
| фосфатидилэтаноламин | 14,4 ± 1,3 | 16,8 ± 2,3 |
| фосфатидная кислота | 7,9 ± 0,8* | 4,8 ± 0,9* |
| Расчетные показатели | | |
| фосфатидилхолин / лизофосфатидилхолин | 31,2 | 10,1 |
| фосфатидилхолин / сфингомиелин | 2,3 | 1,9 |
| фосфатидилхолин / фосфатидилэтаноламин | 12,3 | 7,7 |
| фосфатидилхолин / холестерин | 2,5 | 1,8 |

Таблица 3

Содержание структурных липидов в ЛПНП больных БА и доноров, в мг / дл

| Показатели | Доноры (n = 40) | Больные БА (n = 60) |
|---|--------------------|------------------------|
| Холестерин | 43,9 ± 1,7* | 56,6 ± 2,2* |
| Общие фосфолипиды | 136,6 ± 2,6* | 97,8 ± 2,7* |
| лизофосфатидилхолин | 2,3 ± 0,2* | 5,9 ± 0,3* |
| сфингомиелин | 30,3 ± 0,8* | 27,6 ± 1,1* |
| фосфатидилхолин | 88,3 ± 1,8* | 54,9 ± 2,8* |
| фосфатидилэтаноламин | 10,0 ± 0,5 | 6,6 ± 1,6 |
| фосфатидная кислота | 6,7 ± 0,3* | 2,8 ± 0,7* |
| Расчетные показатели | | |
| фосфатидилхолин / лизофосфатидилхолин | 38,4 | 9,3 |
| фосфатидилхолин / сфингомиелин | 2,9 | 2,0 |
| фосфатидилхолин / фосфатидилэтаноламин | 8,8 | 8,3 |
| фосфатидилхолин / холестерин | 2,0 | 1,9 |

В отличие от цельной сыворотки, в монослойной мембране ЛПНП у пациентов затрагивается весь набор структурных липидов. Отмечено увеличение не только уровня ЛФХ, но и ХС. При таких перестройках липидного спектра мембрана ЛПНП больных существенно изменена.

Основная физиологическая функция ЛПНП в организме — транспорт эфиров холестерина и триглицеридов к органам и тканям. Однако эти же частицы доставляют и ФЛ, заключенные в мембранный монослой. ФЛ при дальнейшей метаболизации могут быть использованы в построении мембран клеток и тканей, в которые они поступают. ЛПНП сыворотки больных БА транспортируются кровью и в бронхолегочную ткань с явным дефицитом структурных липидов, особенно ФХ, который в комплексе с фосфатидной кислотой составляет липидную основу сурфактанта.

Тенденция к изменению содержания и соотношения индивидуальных ФЛ и ХС при БА сохранялась и в ЛПВП (ЛПВП₂ + ЛПВП₃). По сравнению с ЛПНП, эти частицы характеризовались значительно большим количеством ФЛ, а в них — ФХ, но меньшим ХС. Однако, как и в ЛПНП, разница в уровне ФХ ЛПВП доноров и больных была особенно выражена в отношениях его содержания к другим ФЛ (ЛФХ, СФМ, ФЭА) и ХС (табл. 4).

Выполнение основной функции ЛПВП, так называемый обратный транспорт ХС, снятие его с кле-

Таблица 4
Содержание структурных липидов в ЛПВП
(ЛПВП₂ + ЛПВП₃) больных БА и доноров, в мг/дл

| Показатели | Доноры (n = 40) | Больные БА (n = 60) |
|---|--------------------|------------------------|
| Холестерин | 24,7 ± 1,8* | 33,6 ± 1,2* |
| Общие фосфолипиды | 190,0 ± 2,1* | 158,5 ± 2,7* |
| лизофосфатидилхолин | 3,6 ± 0,3* | 10,4 ± 0,4* |
| сфингомиелин | 30,6 ± 1,4 | 30,0 ± 1,6 |
| фосфатидилхолин | 130,3 ± 2,0* | 99,0 ± 1,7* |
| фосфатидилэтаноламин | 12,8 ± 0,2 | 12,5 ± 0,4 |
| фосфатидная кислота | 10,5 ± 0,3* | 6,6 ± 0,3* |
| Расчетные показатели | | |
| фосфатидилхолин / лизофосфатидилхолин | 26,0 | 8,7 |
| фосфатидилхолин / сфингомиелин | 4,0 | 3,3 |
| фосфатидилхолин / фосфатидилэтаноламин | 9,8 | 7,8 |
| фосфатидилхолин / холестерин | 4,8 | 2,9 |

точных мембран и доставка в печень для последующего удаления из организма, зависит и от стабильности частиц, которая обеспечивается липидным комплексом. Показано, что в ЛПВП пациентов с БА содержание ФХ меньше, по сравнению с контролем. Кроме того, в ЛПВП больных показатель соотношения ФХ/ХС снижен намного больше, чем в ЛПНП, что является одним из признаков нестабильности мембраны. Согласно полученным результатам, ЛПВП больных БА не имеют полного количественного набора ФЛ, особенно ФХ и ФК. В результате этого ЛПВП попадают в различные ткани, в т. ч. и бронхолегочную, с большим дефицитом ФЛ, что снижает возможность формирования в полном объеме сурфактанта.

Таким образом, анализ содержания структурных липидов во всех компонентах крови показал, что при БА имеется четко выраженное преобладание катаболизма ФЛ, особенно ФХ, с одновременным нарастанием в них его гидролизующей формы (ЛФХ) и снижением значения показателей соотношений ФХ к остальным ФЛ и ХС. Отмеченные нарушения в спектре структурных липидов позволяют отнести БА к болезням с мембранной патологией. Результаты исследования дают основание считать, что при БА складываются условия для формирования порочного круга патогенеза: БА — нарушение общего липидного обмена — мембранные нарушения — усугубление БА. Перестройки в составе ФЛ крови больных БА

не могут не вызвать соответствующие нарушения в бронхолегочной системе. Легкие активно поглощают ЛПНП, ЛПВП и соприкасаются с ФЭ крови [6], в которых нарастает дефицит общего пула ФЛ, главным образом за счет ФХ и ФК, непосредственных субстратов, из которых синтезируется сурфактант бронхолегочной системы. ФХ является компонентом, необходимым для синтеза дипальмитиниллецитина, который, в свою очередь, придает эластичность стенкам дыхательных путей и уменьшает поверхностное натяжение в альвеолах. При снижении синтеза сурфактанта создаются условия, в которых затруднена диффузия кислорода, ослаблено противовоспалительное и антибактериальное защитное дей-

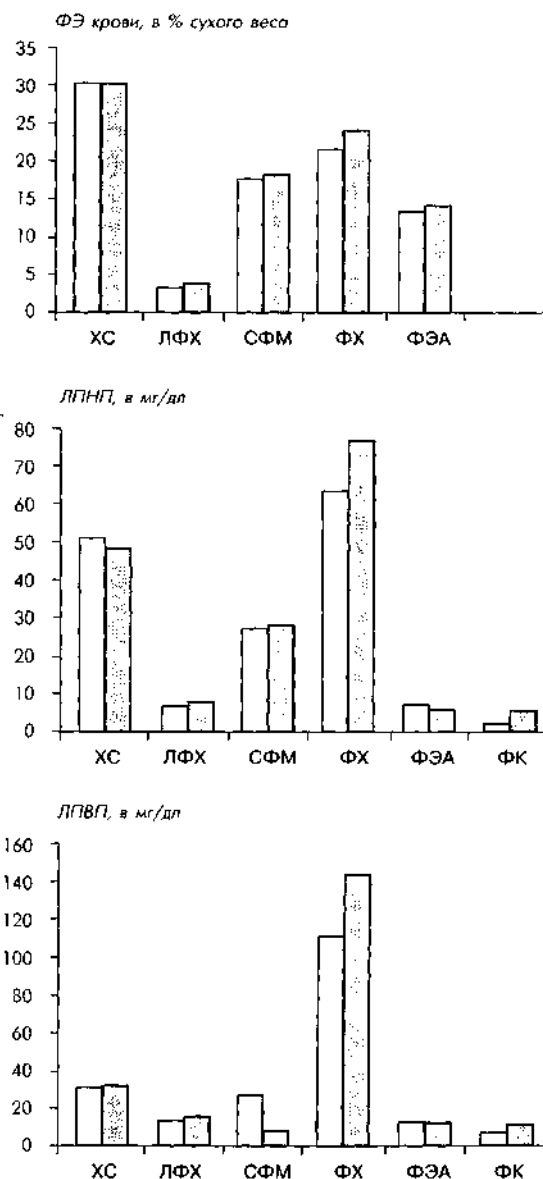


Рис. 1. Влияние ГКС-терапии на состав структурных липидов в некоторых компонентах крови больных БА

Здесь и на рис. 2, 3: светлые столбцы — до лечения; темные — после.

вие, нарушен процесс испарения влаги с поверхности альвеол.

Проведенные исследования дали основание проследить за содержанием структурных липидов на фоне различной терапии не только в ФЭ, как это было сообщено нами ранее [7], но и в других компонентах крови (ЛПНП, ЛПВП).

Способность ГКС вызывать явное клиническое улучшение, стабилизацию показателей функции внешнего дыхания при БА, а также коррекцию надпочечниковой недостаточности объясняет широкое использование гормонов в терапевтических целях. В связи с этим было важно проанализировать, происходят ли при этом положительные сдвиги в содержании ФЛ и ХС в компонентах крови, имеющих мембранную структуру. Терапия ГКС в течение 7 дней (мужчины в возрасте от 35 до 60 лет) оказала неоднозначное влияние на содержание структурных липидов в компонентах крови (рис. 1). После курса лечения в ФЭ достоверных изменений не обнаружено, за исключением слабо выраженной тенденции к повышению уровня ФХ. За период лечения ГКС не приводили к полному исправлению нарушений липидного комплекса, возникающих на эритроцитарной мембране при БА. Несколько иная картина проявилась на ЛП. В ЛПНП и ЛПВП достоверно возрос уровень ФХ и ФК, несколько снизилось содержание ХС в ЛПНП, однако остальные ФЛ оставались на том же уровне, что и до лечения.

Важность рассмотрения вопроса о характере изменений в липидном обмене на фоне РДТ при БА объяснялась тем, что сам факт перехода на эндогенное питание в процессе голодания затрагивает именно жировой обмен, внося в него определенные сдвиги. В связи с этим была поставлена задача выяснить, оказывает ли РДТ саногенное действие на уровне обмена ФЛ, и в какой степени метаболические изменения, возникающие в ходе лечебного голодания, являются противоположными таковым при БА.

В процессе 14-дневного голодания (женщины в возрасте от 30 до 59 лет) в ФЭ крови достоверных изменений в содержании ФЛ и ХС не обнаружено (рис. 2). На близком количественном уровне оставались значения показателя отношения содержания ФХ к остальным ФЛ до и после голодания. Аналогично ГКС-терапии при РДТ проявился определенный консерватизм, который может лежать в основе закрепления структурных и функциональных нарушений эритроцитарной мембраны в ходе повторных воспалений в бронхолегочной системе и способствовать формированию мембранных механизмов первичной и вторичной гиперреактивности бронхов. РДТ оказала положительное влияние на изменение соотношений в структурных липидах ЛПНП и ЛПВП. Определено достоверное повышение содержания не только общих ФЛ, но и основного их компонента — ФХ, несмотря на то, что организм находился только на эндогенном питании. Кроме того, в ЛПВП достоверно увеличилась концентрация ФК. Таким образом, пере-

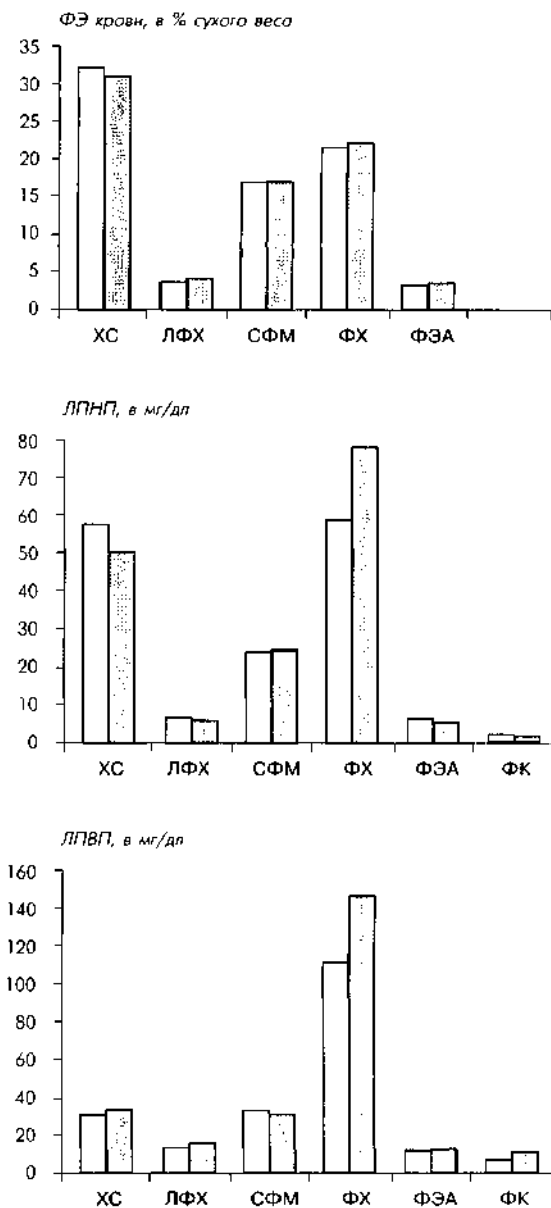


Рис. 2. Влияние РДТ на состав структурных липидов в некоторых компонентах крови больных БА

стройки в составе ФЛ ЛПНП и ЛПВП больных при РДТ терапии приблизили их уровень к состоянию доноров.

Исследованы изменения структурных липидов на фоне базисной терапии, т. е. без применения средств и методов, обладающих метаболическим действием (рис. 3). В ЛПНП и ЛПВП отмечена тенденция к увеличению содержания ФЛ, а в них ФХ (результаты были недостоверными). Значения остальных компонентов оставались на одинаковом количественном уровне до и после лечения. Выраженность благоприятных сдвигов при базисной терапии существенно уступала ГКС и РДТ, не достигая метаболической коррекции структурных липидов.

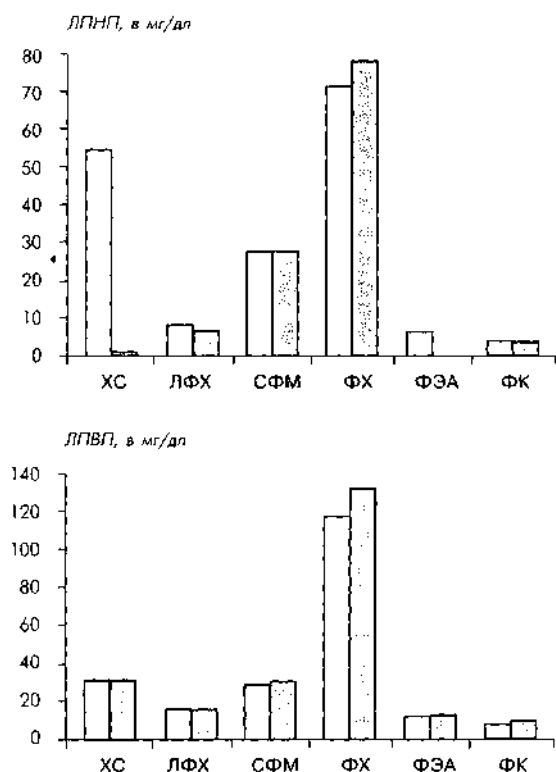


Рис. 3. Влияние базисной терапии на состав структурных липидов в липопротеидах крови больных БА

Проведенные исследования показали, что у больных БА значительно изменен пул структурных липидов (ФЛ), особенно ФХ, уровень которого достоверно снижен во всех компонентах крови. Так как структурные липиды непосредственно входят в состав ФЭ, ЛПНП, ЛПВП, которые окружены мембранами, то БА можно отнести к болезням с метаболическим мембранным нарушением. Дефицит ФХ во всех структурах крови и ФК в ЛП негативно дейст-

вует на формирование бронхолегочного сурфактанта, в синтезе которого непосредственно участвуют липиды. Примененные виды лечения: ГКС, РДТ и базисная терапия положительно влияли на состав структурных липидов только в ЛП крови. Наиболее сильный эффект вызывали ГКС и РДТ, при применении которых у больных увеличивалось содержание ФЛ, главным образом ФХ, что приближало результаты к таковым у доноров. На уровне ФЭ крови использованные методы лечения не способствовали изменению содержания структурных липидов, что свидетельствует о проявлении на эритроцитарной мембране стойкого консерватизма (стойкой "памяти"), который может лежать в основе закрепления структурно-функциональных изменений, возникающих при повторных воспалениях в респираторной системе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г. Актуальные вопросы диагноза в пульмонологии. Пульмонология 2001; 1: 6–11.
2. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: Руководство для врачей. СПб.; М.; Харьков; Минск; 1999.
3. Липовицкий Б.М. Клиническая липидология. СПб.: Наука; 2000.
4. Реггеранд Т.И., Лизенко Е.И., Петровский В.И., Сидоров В.С. Выделение липопротеидов сыворотки крови методом осаждения и определение их липидного состава. Лаб. дело 1990; 4: 48–52.
5. Минеев В.Н. Роль эритроцитов в патогенезе бронхиальной астмы — нетрадиционные аспекты. Тер. арх. 1990; 12: 119–121.
6. Симбирцев С.А., Малахова А.Я., Беляков Н.А., Зарембский В.А. Липопротеиды как субстрат для синтеза сурфактанта легочной ткани. В кн.: Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума по биохимии липидов. Киев; 1983. 101–102.
7. Лизенко М.В., Петровский В.И., Бахирев А.М. Корректирующее влияние глюкокортикостероидов, разгрузочно-диетической терапии на липидный статус эритроцитов больных бронхиальной астмой. Пульмонология 1999; 1: 24–28.