

С.В.Лапик, В.А.Жмуров

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ МЕМБРАН АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Тюменский медицинский институт

THE CHARACTERISTICS OF LIPID SPECTRUM OF ALVEOLAR MACROPHAGE MEMBRANES IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

S.V.Lapik, V.A.Zhmurov

S u m m a r y

The aim of the present investigation was to study the lipid metabolism in alveolar macrophages in patients with preasthma and bronchial asthma. In alveolar macrophages levels of membrane phospholipids, cholesterol, and the activity of phospholipase A₂ were measured. In patients with bronchial asthma, changes in lipid phase of alveolar macrophage membranes, the increase of toxic phospholipid degradation products and cholesterol, and the rise of the phospholipase A₂ activity were found. During the course of treatment, lipid metabolism in asthmatics did not return to normal values. The tendency to normalisation was observed in patients with preasthma remission only.

Р е з ю м е

Целью настоящего исследования было изучение липидного метаболизма альвеолярных макрофагов у больных с предастмой и бронхиальной астмой. Были измерены уровни мембранных фосфолипидов, холестерина и активности фосфолипазы А₂. У пациентов с бронхиальной астмой были обнаружены изменения в липидной фазе мембран альвеолярных макрофагов, увеличение продуктов токсической деградации фосфолипидов и холестерина и подъем активности фосфолипазы А₂. В течение курса лечения липидный метаболизм у астматиков не возвращался к нормальным величинам. Тенденция к нормализации наблюдалась только у больных с ремиссией предастмы.

Нарушение проходимости бронхов — один из основных патогенетических механизмов при бронхиальной астме (БА). Обструкция бронхов приводит к нарушению всех функций органов дыхания и является причиной неблагоприятного течения бронхолегочного процесса [1,10]. В настоящее время в генезе развития заболеваний, сопровождающихся бронхиальной обструкцией, важное значение придается мембранопатологическим процессам в бронхолегочной ткани, в том числе на уровне клеточных факторов защиты. Среди важнейших механизмов, приводящих к дестабилизации клеточных мембран, необходимо отметить процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), недостаточность антиоксидантной системы, избыточную активность эндогенных и экзогенных фосфолипаз и другие [7,8]. Полноценное функционирование бронхов и легких тесно связано с эффективным действием клеточных компонентов респираторного тракта, в особенности альвеолярных макрофагов (АМ). Их роль не ограничивается фагоцитозом, они также секретируют бронхоконстрикторные медиаторы, принимают участие в кооперативных отношениях клеток при поздней фазе астматической реакции, бронхиальной гиперреактивности и астматическом воспалении, в иммунологических процессах [12—14].

В связи с этим задачей настоящего исследования явилось изучение фосфолипидного спектра мембран АМ у больных предастмой и БА в сопоставлении с активностью фосфолипазы А₂ в динамике заболевания. Обследовали 40 больных предастмой, 24 больных atopической БА (АБА) и 40 больных инфекционно-зависимой БА (ИЗБА) в возрасте 15—50 лет (средний возраст $36,2 \pm 2,2$ года) с длительностью заболевания от 1 года до 17 лет. Диагностику клинико-патогенетических вариантов БА и тяжести ее течения осуществляли по классификации А.Д.Адо и П.К.Булатова (1969) в модификации Г.Б.Федосеева (1984), состояния предастмы в соответствии с критериями, предложенными Г.Б.Федосеевым и З.Я.Дегтяревой (1984). Легкое течение БА отмечено у 5, среднетяжелое — у 59 больных. Обследование осуществляли в фазы обострения и ремиссии основного заболевания после курса традиционной лекарственной терапии, включающего средства, способствующие восстановлению проходимости бронхов, воздействующие на секрецию и способствующие очищению бронхов. Части больных по клиническим показаниям назначали парентерально глюкокортикостероидные препараты коротким курсом, а также антибактериальную терапию (больным ИЗБА). Функцию внешнего

Содержание фосфолипидов и холестерина в мембранах АМ, активность фосфолипазы А₂ у больных предастмой и БА ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Предастма	АБА	ИЗБА
Свободный холестерин, нмоль/10 ⁵ кл.	0,172±0,019	0,284±0,026 0,230±0,024	0,206±0,036 0,177±0,027	0,335±0,022 0,245±0,019
Эфиры холестерина, нмоль/10 ⁵ кл.	0,243±0,022	0,258±0,027 0,247±0,018	0,280±0,031 0,143±0,016	0,262±0,024 0,260±0,023
Общий холестерин, нмоль/10 ⁵ кл.	0,425±0,021	0,542±0,027 0,477±0,021	0,486±0,034 0,320±0,022	0,597±0,023 0,505±0,021
Лизофосфатидилхолин, нмоль/10 ⁵ кл.	0,023±0,002	0,031±0,002 0,029±0,004	0,036±0,004 0,055±0,004	0,036±0,002 0,032±0,001
Фосфатидилсерин, нмоль/10 ⁵ кл.	0,034±0,003	0,033±0,007 0,038±0,007	0,030±0,002 0,034±0,002	0,030±0,001 0,032±0,001
Сфингомиелин, нмоль/10 ⁵ кл.	0,031±0,003	0,035±0,004 0,032±0,004	0,027±0,003 0,025±0,003	0,027±0,001 0,026±0,001
Фосфатидилхолин, нмоль/10 ⁵ кл.	0,039±0,003	0,036±0,005 0,041±0,006	0,056±0,004 0,031±0,002	0,042±0,001 0,035±0,001
Фосфатидилэтаноламин, нмоль/10 ⁵ кл.	0,030±0,002	0,031±0,006 0,30±0,005	0,031±0,003 0,029±0,002	0,038±0,001 0,032±0,003
Фосфатидные кислоты, нмоль/10 ⁵ кл.	0,009±0,001	0,010±0,001 0,010±0,001	0,014±0,001 0,014±0,001	0,016±0,002 0,014±0,001
Общие фосфолипиды, нмоль/10 ⁵ кл.	0,166±0,002	0,177±0,004 0,180±0,005	0,194±0,004 0,168±0,003	0,190±0,002 0,171±0,002
Холестерин/фосфолипиды	2,560±0,026	3,062±0,016 2,650±0,015	2,505±0,020 1,905±0,015	3,142±0,011 2,953±0,010
Лизофосфатидилхолин/фосфатидилхолин	0,590±0,030	0,879±0,010 0,704±0,012	0,642±0,010 1,129±0,068	0,844±0,011 0,914±0,011
Фосфолипаза А ₂ , у.е./10 ⁵ кл.	1,061±0,073	1,210±0,032 1,103±0,043	1,636±0,188 1,176±0,103	1,737±0,092 1,311±0,068

П р и м е ч а н и е. В числителе — показатели, полученные в фазу обострения, в знаменателе — в фазу ремиссии.

дыхания исследовали методом спирографии с учетом изменений основных показателей спирограмм, характеризующих легочную вентиляцию и бронхиальную проходимость.

Степень нарушения функции внешнего дыхания оценивали в соответствии с общепринятыми рекомендациями.

У всех больных предастмой и БА в период обострения заболевания выявлены изменения вентиляционной способности легких по обструктивному типу различной степени выраженности.

Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц (бронхоскопию проводили с диагностической целью либо при инородных телах в бронхах в первые часы после аспирации).

Материалом для специальных физико-химических исследований служили АМ, полученные из бронхоальвеолярной лаважной жидкости методом селективного центрифугирования на градиенте плотности у перечисленных выше групп больных. В АМ определяли содержание основных фракций фосфолипидов (лизофосфатидилхолина, фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, сфингомиелина, фосфатидилэтаноламина и

фосфатидных кислот), холестерина и его эфиров методом тонкослойной хроматографии [5,6,11], оценивали активность мембранодестабилизирующего фермента фосфолипазы А₂ [2].

У больных предастмой в период обострения (таблица) в мембранах АМ увеличивалось содержание лизофосфатидилхолина ($p < 0,01$) по сравнению с контролем, незначительно повышался уровень сфингомиелина и отмечалась тенденция к снижению фосфатидилхолина. В период ремиссии заболевания только уровень лизофосфатидилхолина несколько превышал нормативный показатель. Кроме этого, у больных предастмой наблюдалось достоверное повышение в мембранах АМ общего холестерина за счет свободной его фракции, снижающегося к периоду ремиссии.

Характеризуя липидный профиль мембран АМ у больных АБА, следует отметить, что в период обострения значительно увеличивалось содержание лизофосфатидилхолина ($p < 0,01$), фосфатидилхолина ($p < 0,001$) и фосфатидных кислот ($p < 0,001$) по сравнению с нормативными показателями; почти не изменялось содержание фосфатидилэтаноламина и незначительно снижалось содержание фосфатидилсерина и сфинго-

миелина на фоне возрастания общего уровня фосфолипидов ($p < 0,001$). В период ремиссии у этой группы больных уровни лизофосфатидилхолина и фосфатидных кислот почти не отличались от таковых в период обострения, снижался уровень фосфатидилхолина и нормализовалось содержание фосфатидилсерина. При этом содержание общих фосфолипидов статистически не отличалось от контрольных цифр. Наряду с фосфолипидами у больных АБА в мембранах АМ при обострении происходило накопление свободного холестерина и его эфиров со снижением к периоду ремиссии.

У больных ИЗБА в мембранах АМ в период обострения заболевания повышалось содержание почти в полтора раза лизофосфатидилхолина ($p < 0,001$), фосфатидилэтаноламина ($p < 0,001$) и фосфатидных кислот ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. К периоду ремиссии уровни фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидных кислот, сфингомиелина, лизофосфатидилхолина снижались на фоне уменьшения по сравнению с периодом обострения общих фосфолипидов ($p < 0,001$). Содержание общего холестерина в мембранах АМ в период обострения ИЗБА повышалось в основном за счет свободного холестерина (различия статистически достоверны по сравнению с контролем), а в период ремиссии их уровни достоверно снижались, но превышали контрольные показатели.

Основной мембраностабилизирующий фермент фосфолипаза A_2 усиливал свою активность при обострении как предастмы, так и БА, но в большей степени при БА. В период ремиссии активность этого фермента возвращалась к исходному уровню, только у больных ИЗБА активность фосфолипазы A_2 сохранялась на довольно высоком уровне.

Анализируя показатели, характеризующие мембрано-деструктивные процессы в АМ у больных предастмой и БА, можно отметить ряд общих закономерностей. У всех больных наблюдалось увеличение содержания в мембранах АМ агрессивного лизофосфатидилхолина, уменьшение содержания фосфатидилхолина от периода обострения заболевания к периоду ремиссии (за исключением предастмы, при которой наблюдалась обратная динамика), что, вероятно, связано с истощением резервных возможностей его синтеза в АМ на фоне усиления гидролитических процессов за счет высокой активности фосфолипазы A_2 . При обострении бронхообструктивных заболеваний в мембранах АМ увеличивалось содержание общего холестерина и его фракций, а также трудноокисляемых фосфолипидов, что косвенно указывает на повышение микровязкости мембраны [3]. Однако следует обратить внимание на то, что при АБА отношение холестерин/фосфолипиды снижалось по сравнению с нормативным показателем, свидетельствуя о неполноценности липопротеидных мембранных комплексов при этой патологии [4].

При сопоставлении показателей фосфолипидного спектра мембран АМ, содержания холестерина и активности фосфолипазы A_2 оказалось, что более выражены нарушения метаболизма фосфолипидов и холестерина у больных ИЗБА. У этой группы больных, несмотря на клиническое улучшение, в период ремиссии

не происходило нормализации липидного обмена и восстановления мембранных структур АМ. У больных АБА мембрано-деструктивные процессы в АМ были выражены в меньшей степени, чем у больных ИЗБА, однако к периоду клинической ремиссии у этой категории больных сохранялся ряд изменений в соотношении фосфолипидных фракций. Для больных предастмой были характерны лабильные изменения липидной фазы мембран АМ и практически полное ее восстановление к периоду ремиссии, в отличие от БА, что согласуется с более легкими клиническими проявлениями этого заболевания.

Меньшая выраженность мембранопатологических процессов в АМ у больных АБА по сравнению с больными ИЗБА может быть, вероятно, связана с несколько иной ролью АМ при этой патологии. При ИЗБА, для которой характерно наличие инфекционно-аллергического воспаления, АМ активно выполняют свою функцию фагоцитов, секретируя вещества со свойствами свободных радикалов в окружающее пространство, а также, высвобождая ряд биологически активных веществ, они могут быть инициаторами позднефазного ответа, способствуя формированию стойкой бронхиальной обструкции. При АБА, для которой в большей степени характерны аллергическое воспаление и активация тучных клеток, возможно, АМ имеют меньшее значение как клетки, непосредственно вовлеченные в патологический процесс; более важна их роль для процессов межклеточных взаимодействий.

Следует обратить внимание на различия инфекционно-зависимой и атопической формы БА с точки зрения мембранопатологических процессов в АМ. Наши результаты согласуются с данными других авторов [4,9], которые выдвинули концепцию о том, что АБА и ИЗБА являются различными заболеваниями по конституциональной природе, патогенным агентам внешней среды, по клеточным и субклеточным механизмам и по особенностям нарушения мембрано-рецепторного комплекса. Предастма характеризуется доброкачественностью и обратимостью нарушений липидного обмена, что свидетельствует о возможностях предотвращения перехода этой клинической формы в манифестированную БА при условиях адекватных лечебных и профилактических мероприятий. Это подтверждается эпидемиологическими данными о том, что частота перехода из состояния предастмы в БА колеблется от 8% (при соответствующем наблюдении и лечении) до 40% (без лечения) [9]. Сходство по ряду параметров предастмы и АБА позволяет предположить, что это заболевание при неблагоприятных условиях может чаще трансформироваться в атопический вариант БА, чем в инфекционно-зависимый.

В ы в о д ы

1. Бронхиальная астма характеризуется существенными сдвигами в липидной фазе мембран альвеолярных макрофагов с накоплением в структуре мембран продуктов деградации фосфолипидов и холестерина на фоне активации фосфолипазы A_2 . Выраженность и

характер данных изменений различны и зависят от клинико-патогенетического варианта и периода заболевания.

2. У больных предастмой наблюдаются лабильные изменения липидного спектра мембран альвеолярных макрофагов с практически полным восстановлением липидной структуры мембран к периоду ремиссии заболевания, что согласуется с менее тяжелыми клиническими проявлениями данного заболевания.

3. Корреляционный анализ свидетельствует, что усиление процессов деградации фосфолипидов на фоне повышения активности фосфолипазы A₂ в альвеолярных макрофагах оказывает существенное влияние на формирование и прогрессирование бронхиальной обструкции у больных бронхиальной астмой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А.Д., Федосеева Г.Б. К вопросу о развитии представлений о бронхиальной астме и ее классификации по А.Д.Адо и П.К.Булатову // Тер. арх.— 1984.— № 3.— С.11—15.
2. Безрукова Г.А., Рубин В.И. Метод определения фосфолипазной активности эритроцитов // Лаб. дело.— 1989.— № 8.— С.18—20.
3. Блох К. Некоторые соображения о структуре и функции стеринной молекулы // Рецепторы клеточных мембран для лекарств и гормонов.— М.: Медицина, 1983.— С.10—18.

4. Жихарев С.С., Минеев В.Н., Лукашевская Н.Н. Мембранорецепторные нарушения в патогенезе бронхиальной астмы // Тер. арх.— 1991.— № 3.— С.81—85.
5. Кеда Б.И., Эндлина О.В., Тананова Г.В. Комбинированное появление фракций липидов крови на пластинах силуфол // Лаб. дело.— 1984.— № 8.— С.478—481.
6. Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Еремеева С.И. и др. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Там же.— 19757— № 4.— С.205—206.
7. Масыев А.М., Масыев К.А. Изменение липидного состава клеточных мембран у больных бронхиальной астмой под влиянием глюкокортикоидной терапии // Клини. мед.— 1991.— № 1.— С.86—88.
8. Сыромятникова Н.В., Гончарова В.А., Котенко Т.В. Метаболическая активность легких.— Л.: Медицина, 1987.
9. Федосеев Г.Б., Хлопотова Г.П. Бронхиальная астма.— Л.: Медицина, 1988.
10. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма: Глобальная стратегия // Тер. арх.— 1994.— № 3.— С.3—8.
11. Шмаль Э. Хроматография в тонких слоях: Пер. с англ.— М.: Мир, 1965.
12. Barnes P. New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma // J. Allergy Clin. Immunol.— 1989.— Vol.83, № 6.— P.1013—1026.
13. Godard Ph., Chaintreul J., Damon M. et al. Functional assessment of alveolar macrophages comparison of cells from asthmatics and normal subjects // Ibid.— 1982.— Vol.70, № 2.— P.88—93.
14. Joseph M., Tannel A., Tarpier N. et al. Involvement of immunoglobulin E in the secretory process of alveolar macrophages from asthmatics patients // J. Clin. Invest.— 1983.— Vol.71.— P.221—230.

Поступила 10.03.94.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.24-036.12-07

А.Ф.Колпакова, К.Р.Седов, Н.Г.Максимов

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЭЛЕМЕНТОВ И ЭЛЕКТРОННЫЕ ПАРАМАГНИТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОСРЕД БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ НА СЕВЕРЕ

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярск

THE CONTENT OF SOME BIOELEMENTS AND ELECTRON SPIN RESONANCE CHARACTERISTICS OF BIOMEDIUM OF THE PATIENTS WITH CHRONIC NONSPECIFIC PULMONARY DISEASES IN THE NORTH

A.F.Kolpakova, K.R.Sedov, N.G.Maximov

S u m m a r y

In population of Taimyr autonomous region settlements situated 90 and more kilometers from Norilsk mining and smelting complex, the higher concentration of nickel, lead, manganese, copper in blood components and in hair, the disorders of rations of bioelements, the most marker in the patients with non-specific pulmonary diseases (NSPD) in comparison with the control groups were found.

The increase of oxidation-reduction blood potential of patients with NSPD at the expense of the increase of ceruloplasmin/transferrin index and the content of methemoglobin in comparison with the control was revealed. By the electron spin resonance (ESR) method the dependence of the ceruloplasmin-transferrin system state on the level of copper and ferrum ions in blood of patients with chronic non-specific pulmonary diseases was established.