

## ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ СЫВОРОТКИ КРОВИ И МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Кручинина М.В.<sup>1,2</sup>, Азгалдян А.В.<sup>1</sup>, Светлова И.О.<sup>2</sup>, Шашков М.В.<sup>3</sup>, Соколова А.С.<sup>4</sup>, Кручинин В.Н.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, e-mail: kruchmargo@yandex.ru;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, e-mail: iosvetlova@yandex.ru;

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН», Новосибирск, e-mail: shashkov@catalysis.ru;

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН», Новосибирск, e-mail: asokolova@nioch.nsc.ru;

<sup>5</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, e-mail: vladd.kruch@yandex.ru

Обследовано 18 пациентов с язвенным колитом (33,6±4,9 года), 19 – с болезнью Крона (34,5±6,2 года) и 20 здоровых лиц с целью: исследовать изменения жирнокислотного состава мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с язвенным колитом (ЯК) и болезнью Крона (БК) для возможного использования в дифференциальной диагностике. Профили жирных кислот (ЖК) сыворотки крови (СК) и мембран эритроцитов (Эр) у пациентов с БК и ЯК значительно отличались от профилей здоровых людей и между группами с ВЗК: уровень дигомо-γ-линоленовой кислоты (C20:3 n-6), соотношение суммы эйкозапентаеновой и докозапентаеновой ЖК к арахидоновой кислоте оказалось выше, а уровни маргариновой (C17:0) и олеиновой (C18:1;n9) – ниже в мембранах Эр пациентов с ЯК в отличие от БК (p=0,03-0,05). Соотношение омега-3/омега-6 ПНЖК оказалось достоверно выше у здоровых, чем у пациентов с ВЗК, как в мембранах Эр, так и СК (p< 0,01-0,05). Выявлена повышенная активность дельта-6-десатуразы в СК и эритроцитах у больных с ВЗК в отличие от здоровых лиц (p=0,007-0,05). Созданные пилотные диагностические панели, включающие ЖК СК и мембран Эр позволили дифференцировать пациентов с ВЗК от здоровых (панели 1 - AUC 0,894 и 2 - AUC 0,819) с достаточно высокими уровнями чувствительности (0,82-0,86) и специфичности (0,88-0,74); и пациентов с ЯК от таковых с БК - панель 3 - AUC 0,734, чувствительность 0,68, специфичность 0,76). Полученные пилотные данные демонстрируют перспективность дальнейшего изучения уровней ЖК у больных с ВЗК как с точки зрения дифференциальной диагностики, так и таргета для терапии для поддержания ремиссии.

Ключевые слова: язвенный колит, болезнь Крона, жирные кислоты, сыворотка крови, мембраны эритроцитов.

## FEATURES OF FATTY ACIDS COMPOSITION OF BLOOD SERUM AND ERYTHROCYTE MEMBRANES IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY INTESTINAL DISEASES (PILOT STUDY)

Kruchinina M.V.<sup>1,2</sup>, Azgaldyan A.V.<sup>1</sup>, Svetlova I.O.<sup>2</sup>, Shashkov M.V.<sup>3</sup>, Sokolova A.S.<sup>4</sup>, Kruchinin V.N.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, e-mail: kruchmargo@yandex.ru ;

<sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, e-mail: iosvetlova@yandex.ru;

<sup>3</sup>Boreskov Institute of Catalysis Siberian Branch of Russian Academy of Science, Novosibirsk, e-mail: shashkov@catalysis.ru;

<sup>4</sup>Novosibirsk Institute of Organic Chemistry Siberian Branch of Russian Academy of Science, Novosibirsk, e-mail: asokolova@nioch.nsc.ru;

<sup>5</sup>Rzhanov Institute of Semiconductor Physics Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, e-mail: vladd.kruch@yandex.ru

18 patients with ulcerative colitis (33.6 + 4.9 years), 19 patients with Crohn's disease (34.5 + 6.2 years) and 20 healthy individuals were examined with the aim of: investigating changes in the fatty acid composition of

erythrocyte membranes and serum in patients with ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) for possible use in differential diagnosis. The fatty acid (FA) profiles of blood serum (BS) and erythrocyte membranes (Er) in patients with CD and UC differed significantly from those of healthy people and between IBD groups: the level of digomo- $\gamma$ -linolenic acid (C20: 3 n-6), the ratio of the sum of eicosapentaenoic and docosapentaenoic FA to arachidonic acid turned out to be higher, and the levels of margaric (C17: 0) and oleic (C18: 1; s9) - lower in the Er membranes of patients with UC, unlike BS ( $p = 0,03-0,05$ ). The ratio of omega-3 / omega-6 PUFA turned out to be significantly higher in healthy than in patients with IBD in both Er membranes and BS ( $p < 0.01-0.05$ ). An increased activity of delta-6-desaturase in BS and erythrocytes was revealed in patients with IBD in contrast to healthy individuals ( $p = 0.007-0.05$ ). Created pilot diagnostic panels, including FAs of BS and Er membranes, allowed differentiating patients with IBD from healthy ones (panels 1 - AUC 0.894 and 2 - AUC 0.819) with sufficiently high levels of sensitivity (0.82-0.86) and specificity (0.88 -0.74); and patients with UC from those with CD - panel 3 - AUC 0.734, sensitivity 0.68, specificity 0.76). The obtained pilot data demonstrate the promise of further studying the levels of FAs in patients with IBD, both in terms of differential diagnosis and targeting for therapy to maintain of remission.

---

Keywords: ulcerative colitis, Crohn's disease, fatty acids, serum, erythrocyte membranes.

Эпидемиологические исследования показали повышенную распространенность воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), которая коррелирует с повышенным потреблением животных жиров и n-6 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) [1]. Жирные кислоты, в частности n-3 и n-6 ПНЖК, опосредуют ряд ключевых биологических процессов, включая эйкозаноидное продуцирование, воспаление, физиологические процессы в клеточной мембране, регуляцию и экспрессию генов [2]. Показано, что длинноцепочечные диетические n-3 ПНЖК ингибируют экспрессию генов, которые активируют воспалительные процессы [3]. Механизм, с помощью которого жирные кислоты влияют на течение ВЗК, до конца не понят, но было высказано предположение, что n-6 ПНЖК способствуют провоспалительным цитокинам через метаболизм арахидоновой кислоты (АА) [4; 5]. Кроме того, n-3 ПНЖК обладают противовоспалительными свойствами, включая смещение арахидоновой кислоты из клеточной мембраны с последующим снижением уровня ее производных, влияют на изменчивость клеточной мембраны и способность связывания белка и ингибирование NF- $\kappa$  B и его ядерных мишеней [6]. Недавнее исследование выявило специфические метаболиты арахидоновой кислоты - простагландины E2 и D2, тромбоксан B2 и гидропероксиэкозатетраеновые кислоты (HETE) - повышенными в ткани толстой кишки при язвенном колите и прогнозирующими воспаление толстой кишки [7].

Цель работы - исследовать изменения жирнокислотного состава мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с язвенным колитом (ЯК) и болезнью Крона (БК) для возможного использования в целях дифференциальной диагностики.

**Материал и методы исследования.** Обследовано 18 пациентов с язвенным колитом ( $33,6 \pm 4,9$  года), 19 – с болезнью Крона ( $34,5 \pm 6,2$  года) и 20 здоровых лиц ( $32,9 \pm 5,7$  года). Клинико-инструментальная характеристика обследованных групп представлена в таблице 1. Группы пациентов с ВЗК были сопоставимы по возрасту, полу. Длительность заболевания у преобладающей части пациентов обеих групп оказалась более трех лет (в 66,7% случаев - у пациентов с язвенным колитом и в 73,3% - у больных с болезнью Крона). У более половины

пациентов в обеих группах с ВЗК отмечена средняя степень тяжести заболевания, оставшиеся больные имели легкое течение заболевания.

Таблица 1

Клинико-инструментальная характеристика обследованных групп

Параметры	Исследуемые группы		
	Группа сравнения (n=20)	Группа пациентов с язвенным колитом (ЯК) (n=18)	Группа пациентов с болезнью Крона (БК) (n=19)
Возраст (лет)	32,9 ± 5,7	33,6 ± 4,9	34,5 ± 6,2
Пол (чел., мужчины / женщины)	10/10	9/9	10/9
Курение (чел., %)	2 (10%)	2 (11,1%)	3 (15%)
Длительность заболевания (годы)	-		
> 3		12 (66,7%)	14 (73,7%)
1-3		6 (33,3%)	5 (26,3%)
Степень тяжести	-		
легкая		8 (44,4%)	9 (47,4%)
средняя		10 (55,6%)	10 (52,6%)
Эндоскопическая активность	-		
минимальная		7 (38,9%)	7 (36,8%)
умеренная		11 (61,1%)	12 (63,2%)
Локализация	-		
проктит и проктосигмоидит		12 (66,7%)	
левосторонний колит		6 (33,3%)	
илеоколит			13 (68,4%)
колит			6 (31,6%)
Уровень гемоглобина (г / л)	136,2 ± 2,8	125,1 ± 3,2*	133,0 ± 2,7^
Количество лейкоцитов (x 10 <sup>9</sup> /л)	5,8 ± 1,3	6,9 ± 2,1	6,1 ± 1,8
Фекальный кальпротектин (мг/г)	32,1 ± 3,8	181,9 ± 12,8**	176,4 ± 9,5**
С-реактивный белок (мг/л)	1,1 ± 0,9	4,6 ± 2,5**	5,1 ± 3,1**
Терапия	-		
аминосалицилаты		16 (88,9%)	17 (89,5%)
иммуномодуляторы		6 (33,3%)	8 (42,1%)

Примечания:

\* - достоверность (p) отличия от группы сравнения: \* - p<0,05, \*\* - p<0,001;

^ - достоверность (p) отличия от группы больных с язвенным колитом: ^ - p<0,05.

У большей части пациентов с ВЗК (61,1% с ЯК и 63,2% - с БК) установлена умеренная эндоскопическая активность, у остальных она была минимальной. По локализации процесса у пациентов с язвенным колитом преобладала левосторонняя (проктит, проктосигмоидит, левосторонний колит). При болезни Крона у 68,4% диагностирован илеоколит, в 31,6% случаев – колит. Группы пациентов оказались сопоставимы по уровню маркеров воспаления (достоверно отличаясь от группы сравнения по уровням фекального кальпротектина и С-

реактивного белка,  $p < 0,001$ ) и проводимой терапии. Однако уровень гемоглобина у больных с язвенным колитом оказался ниже такового у здоровых лиц и пациентов с болезнью Крона ( $p < 0,05$ ).

В качестве группы сравнения были отобраны пациенты, сопоставимые с основными группами по возрасту и полу без манифестирующей патологии внутренних органов. Пациенты группы сравнения исключались из исследования, если они получали какие-либо добавки омега-3 полиненасыщенных жирных кислот или статины, имели гиперлипидемию, которая могла потребовать лекарственной коррекции, какие-либо значительные отклонения по данным исследования общего анализа крови или биохимии или имели холестериновые камни в желчном пузыре, поскольку вышеописанные факторы оказывают существенное влияние на профиль жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов [8].

Исследование состава жирных кислот (ЖК) Эр и СК проведено с помощью ГХ/МС системы на основе трех квадрупольей *Agilent 7000B* (США). Концентрации жирных кислот выражали в относительных процентах. Предел обнаружения жирной кислоты  $\sim 1$  мкг на образец. Подробное описание пробоподготовки для исследования жирных кислот и процесса их определения представлено в работе [9]. Десатуразная активность определялась как соотношение уровней: [дигомо- $\gamma$ -линоленовая ЖК + арахидоновая ЖК] / [линолевая ЖК] или [DGLA + AA]/[LA] как показатель, который отражает активность дельта-6-десатуразы; т.е. индекс дельта-десатурации. Оценивали соотношение суммы эйкозапентаеновой (ЕРА) и докозапентаеновой (DHA) жирных кислот к арахидоновой кислоте: [ЕРА+DHA]/[AA].

Для статистического анализа использовано программное обеспечение SPSS, ver. 17. Для сравнения между двумя независимыми группами применялся тест Mann–Whitney U и/или тест хи-квадрат. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы ( $p$ ) принимался равным 0,05. Ранговые коэффициенты корреляции Спирмена использовались для оценки корреляций между дискретными переменными. Оценка диагностической точности панелей показателей произведена с помощью ROC-анализа.

Исследование выполнено с одобрения Комитета биомедицинской этики Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины - филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (17.12.2018, протокол № 120). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Анализ уровней жирных кислот в сыворотке крови пациентов с ВЗК позволил выявить разнонаправленные тенденции

насыщенных и ненасыщенных ЖК у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона в сравнении со здоровыми лицами, а также между группами больных с ВЗК (рисунок 1).

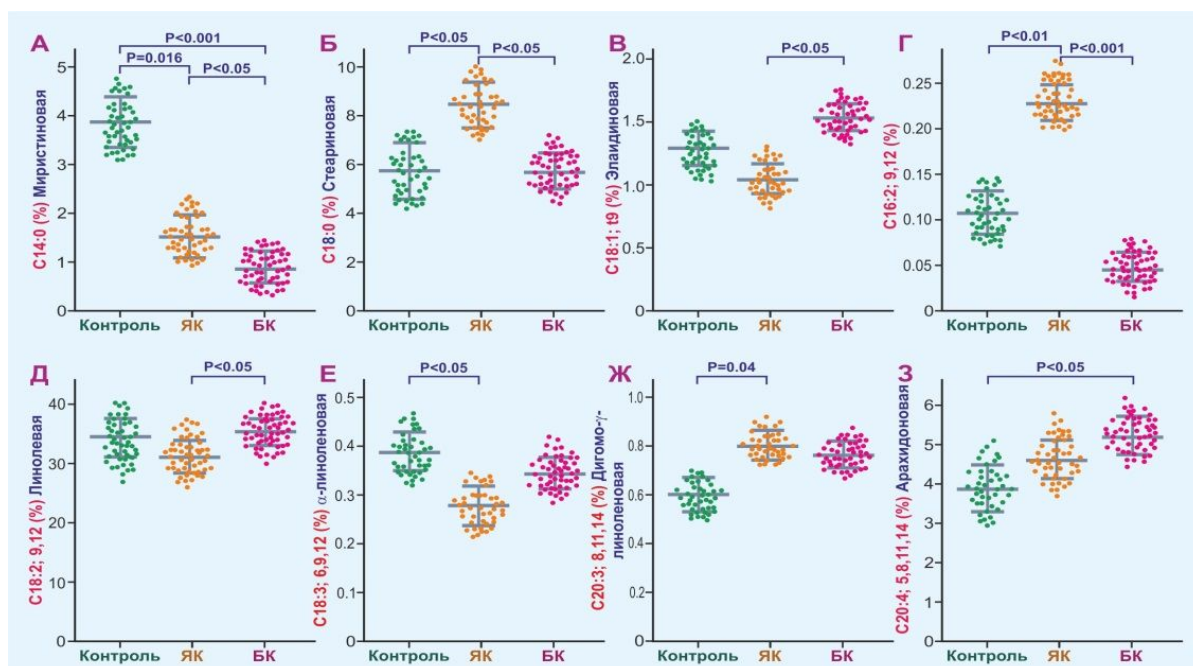


Рис. 1. Уровни жирных кислот сыворотки крови в обследованных группах (%)

В сыворотке крови больных с ЯК содержание миристиновой (C14:0), γ-линоленовой (C18:3 n-3) было ниже, а стеариновой (C18:0), гексадекадиеновой (C16:2 n-6), дигомо-γ-линоленовой (C20:3 n-6), докозапентаеновой (C22:5 n-3), ЕРА+DHA/АА – выше, чем у здоровых лиц (p<0,001-0,05). У пациентов с болезнью Крона уровни сывороточных миристиновой (C14:0), докозатетраеновой (C22:4 n-6), ЕРА+DHA/АА оказались достоверно ниже, а арахидоновой кислоты (C20:4 n-6) – выше, чем в группе сравнения (p=0,02-0,001).

При сравнении профиля сывороточных ЖК пациентов с ЯК и БК выявлено, что у больных с язвенным колитом в отличие от пациентов с болезнью Крона достоверно выше содержание миристиновой (C14:0), стеариновой (C18:0), суммы всех насыщенных ЖК, соотношений: насыщенные/ненасыщенные, насыщенные/полиненасыщенные, гексадекадиеновой (C16:2 n-6), докозатетраеновой (C22:4 n-6), докозапентаеновой (C22:5 n-3), докозагексаеновой (C22:6 n-3), ЕРА+DHA/АА и, напротив, достоверно ниже уровни элаидиновой (C18:1;t9), линолевой (C18:2 n-6), суммы всех ненасыщенных ЖК (p=0,018-0,001). Установлена корреляция уровня стеариновой кислоты у пациентов с язвенным колитом с соотношением омега-3/омега-6 ПНЖК (r=-0,42, p=0,04).

Исследование уровней жирных кислот в мембранах эритроцитов показало значимость как части вышеописанных, так и других ЖК в дифференцировании пациентов с ВЗК от здоровых и между собой. В мембранах эритроцитов больных с ЯК содержание олеиновой (C18:1;c9), элаидиновой (C18:1;t9) ЖК было ниже, а дигомо-γ-линоленовой (C20:3

n-6), EPA+DHA/AA – выше, чем у здоровых ( $p=0,01-0,05$ ) (рисунок 2).

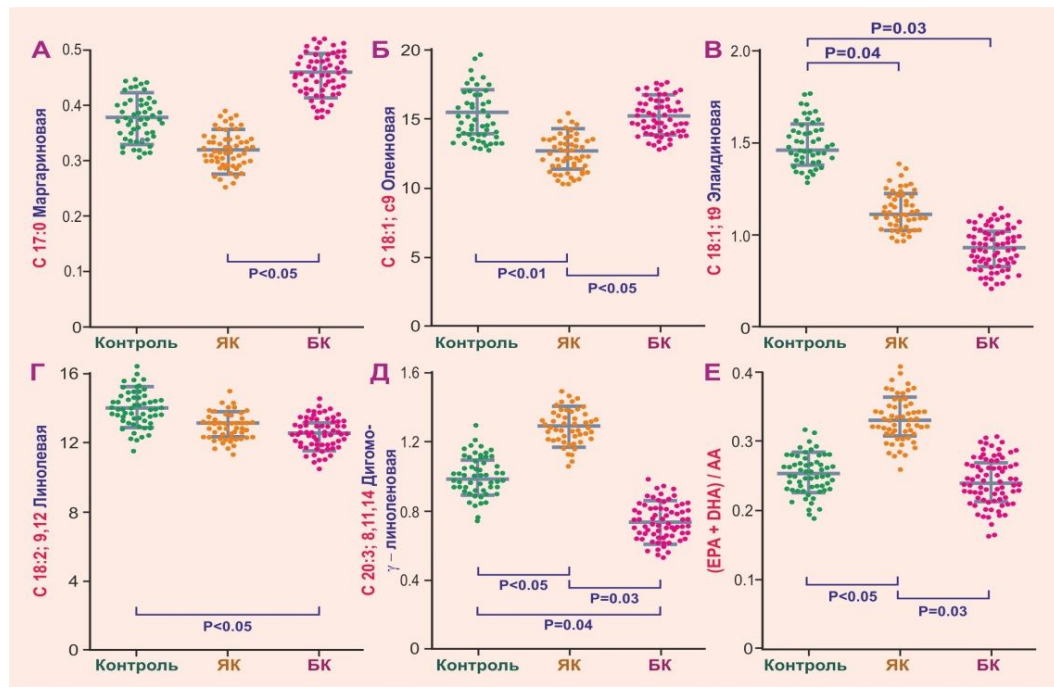


Рис. 2. Уровни жирных кислот мембран эритроцитов в обследованных группах (%)

У пациентов с болезнью Крона уровни эритроцитарных элаидиновой (C18:1;t9), линолевой (C18:2 n-6), дигомо- $\gamma$ -линоленовой (C20:3 n-6) ЖК оказались достоверно ниже, чем в группе сравнения ( $p=0,03-0,05$ ).

При сравнении профиля эритроцитарных ЖК пациентов с ЯК и БК выявлено, что у больных с язвенным колитом, в отличие от пациентов с болезнью Крона, достоверно выше содержание дигомо- $\gamma$ -линоленовой (C20:3 n-6), EPA+DHA/AA и, напротив, достоверно ниже уровни маргариновой (C17:0) и олеиновой (C18:1;c9) жирных кислот ( $p=0,03-0,05$ ).

Анализ значения соотношения (DGLA + AA)/LA показал, что средние значения индекса активности дельта-6 десатуразы сыворотки крови и мембран эритроцитов пациентов с ЯК и БК оказались достоверно выше, чем у здоровых обследованных ( $p = 0,007-0,05$ ) (рисунок 3, таблица 2).

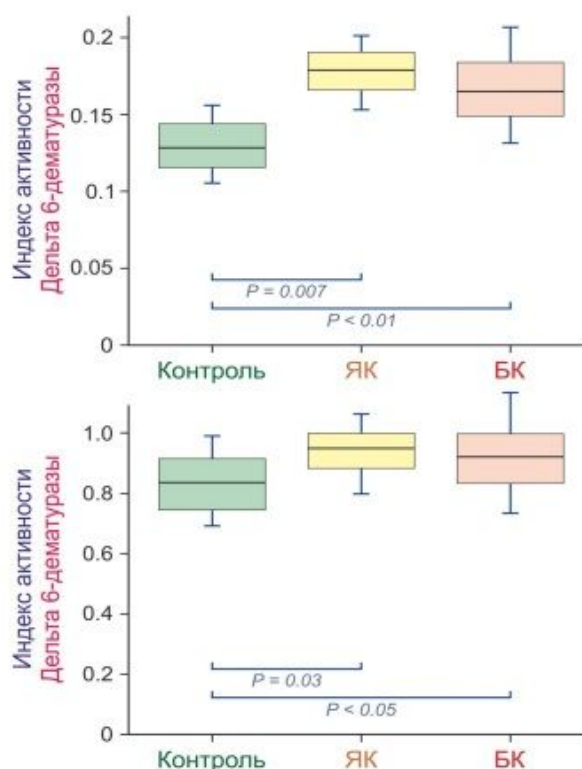


Рис. 3. Активность дельта-6 десатуразы в сыворотке крови (верхняя часть рисунка) и в мембранах эритроцитов (нижняя часть рисунка) у пациентов с ВЗК

Анализ суммарного содержания омега-3 и омега-6 ПНЖК в мембранах эритроцитов и сыворотке крови (таблица 2), а также их соотношений у пациентов с ВЗК и здоровых обследованных выявил тенденцию к повышенному уровню омега-3 в мембранах эритроцитов в группе контроля в сравнении с пациентами с ВЗК, в то время как в сыворотке содержание этих ПНЖК оказалось достоверно выше у здоровых лиц, чем у пациентов с язвенным колитом ( $p < 0,05$ ). В отношении омега-6 ПНЖК соотношение было инверсным: наблюдался тренд к снижению у здоровых как в составе фосфолипидов мембран эритроцитов, так и в сыворотке крови (достоверные различия установлены между уровнями у здоровых лиц и больных с болезнью Крона). Соотношение омега-3/омега-6 ПНЖК оказалось достоверно выше у здоровых в сравнении с пациентами с ВЗК как в мембранах эритроцитов, так и в сыворотке крови ( $p < 0,01-0,05$ ).

Проведенный ROC-анализ содержания ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов для дифференцирования пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона позволил создать пилотные диагностические панели. Панель 1 позволила дифференцировать пациентов с язвенным колитом от здоровых лиц (AUC 0,894, чувствительность 0,82, специфичность 0,88). Панель 2 (AUC 0,819, чувствительность 0,86, специфичность 0,74) отделяла больных с болезнью Крона от здоровых лиц. Панель 3 (AUC 0,734, чувствительность 0,68, специфичность 0,76) показала высокий потенциал для дифференцирования пациентов с

язвенным колитом от таковых с болезнью Крона (рисунок 4). Следует отметить, что перечень жирных кислот, которые оказались значимыми для данных моделей, различались.

Таблица 2

Содержание жирных кислот в мембранах эритроцитов и сыворотке крови у пациентов с ВЗК и в группе сравнения (M±SD) (%)

Жирные кислоты (%)	Мембраны эритроцитов				Сыворотка крови			
	Группа сравнения, n=20 (1)	Группа больных с ЯК, n=18 (2)	Группа с БК, n=19 (3)	Критерий Манна-Уитни (p)	Группа сравнения, n=20 (1)	Группа больных с ЯК, n=18 (2)	Группа с БК, n=19 (3)	Критерий Манна-Уитни (p)
Индекс активности дельта-6 десатуразы	0,82 ± 0,18	0,96 ± 0,2	0,93 ± 0,23	p1-2 = 0,03 p1-3 < 0,05	0,13 ± 0,011	0,18 ± 0,013	0,165 ± 0,012	p1-2 = 0,007 p1-3 < 0,01
Омега-3	5,04 ± 3,0	4,11 ± 1,72	4,03 ± 2,62	p>0,1	2,67 ± 1,99	1,45 ± 0,82	1,59 ± 0,91	p1-2 < 0,05
Омега-6	25,03 ± 6,79	27,81 ± 4,32	25,82 ± 8,53	p>0,1	34,59 ± 8,56	37,92 ± 13,3	41,66 ± 3,85	p1-3 = 0,02
Омега-3/омега-6	0,20 ± 0,09	0,14 ± 0,07	0,16 ± 0,07	p1-2 < 0,05 p1-3 < 0,05	0,08 ± 0,05	0,038 ± 0,02	0,04 ± 0,018	p1-2 = 0,02 p1-3 < 0,01

Панель 1 - ЯК vs здоровые: сыворотка (C14:0, C16:2 n-6, C20:3 n-6, EPA+DHA/AA) + эритроциты (C18:1;c9, C18:1;t9, C20:3 n-6). Панель 2 - БК vs здоровые: сыворотка (C14:0, C20:4 n-6, C22:4 n-6, EPA+DHA/AA) + эритроциты (C18:1;t9, C18:2 n-6, C20:3 n-6). Панель 3 - ЯК vs БК: сыворотка (C14:0, C16:2 n-6, C22:4 n-6, C22:5 n-3, C22:6 n-3, НЖК/ПНЖК, EPA+DHA/AA) + эритроциты (C20:3 n-6, EPA+DHA/AA).

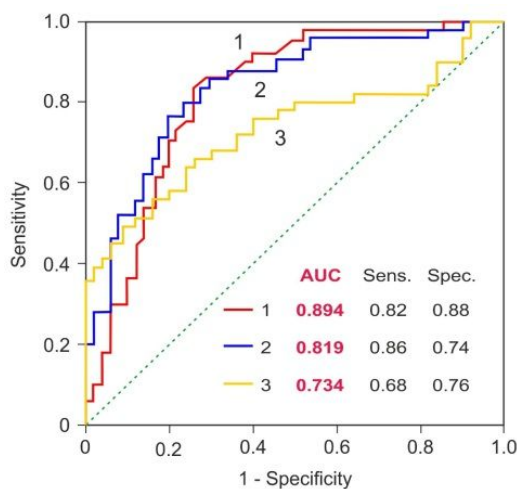


Рис. 4. ROC-анализ для потенциальных биомаркеров для дифференцирования ВЗК



Проведенный анализ выявил наличие достоверных различий в уровнях жирных кислот, относящихся к различным классам (насыщенные, ненасыщенные, полиненасыщенные), в обследованных группах. Обсуждение возможных патогенетических аспектов выявленных различий представляется весьма важным как в свете диагностики, так и коррекции диеты пациентов с ВЗК.

В настоящем пилотном исследовании обнаружены значимые различия в уровнях отдельных омега-6 ПНЖК между группами пациентов с ВЗК и здоровыми субъектами. В группе пациентов с ЯК содержание линолевой кислоты (C18:2 n-6) в сыворотке крови оказалось достоверно выше такового у здоровых лиц ( $p < 0,01$ ) и пациентов с болезнью Крона ( $p < 0,001$ ); при этом в мембранах эритроцитов пациентов с болезнью Крона уровень данной ЖК был значительно ниже, чем у здоровых людей ( $p < 0,05$ ). Эти результаты сопоставимы с результатами исследования Hart et al., которое показало, что высокое потребление линолевой кислоты связано с повышенным риском развития язвенного колита [10]. Вместе с тем в сыворотке крови пациентов с болезнью Крона уровень арахидоновой кислоты (C20:4 n-6) оказался достоверно выше, чем в группе контроля ( $p < 0,05$ ), с тенденцией к повышению по сравнению с больными с язвенным колитом. В исследовании Veglia F. et al. [11] показана роль арахидоновой кислоты в механизме репрограммирования нейтрофилов белком 2, транспортирующим жирные кислоты (FATP2). Появляющиеся в ходе данного процесса полиморфноядерные миелоидные супрессорные клетки (PMN-MDSC) являются патологически активированными нейтрофилами, которые имеют решающее значение для регуляции иммунных реакций, в том числе, вероятно, при ВЗК.

Следует отметить, что уровень дигомо- $\gamma$ -линоленовой кислоты (C20:3 n-6) у пациентов с язвенным колитом оказался достоверно выше такового у здоровых лиц как в сыворотке крови ( $p = 0,04$ ), так и в мембранах эритроцитов ( $p < 0,05$ ). В мембранах эритроцитов этот показатель преобладал у лиц с язвенным колитом по сравнению с таковым у больных с болезнью Крона ( $p = 0,03$ ).

Изменения в соотношении арахидоновой, дигомо- $\gamma$ -линоленовой и линолевой жирных кислот сказались на уровне индекса дельта-6-десатурации, который отражает активность дельта-6-десатуразы. Данный индекс оказался выше у пациентов с ВЗК по сравнению со здоровыми лицами (для сыворотки крови –  $p = 0,07$  у больных с ЯК,  $p < 0,01$  у пациентов с БК; для мембран эритроцитов –  $p = 0,03$  и  $p < 0,05$  соответственно).

Эти результаты свидетельствуют о том, что линолевая ЖК быстрее метаболизируется в арахидоновую у пациентов с болезнью Крона и ЯК, чем у здоровых лиц. Поэтому диета с высоким содержанием омега-3 ПНЖК, направленная на достижение диетического

соотношения  $n-3 / n-6 \sim 1$ , может быть эффективной для поддержания ремиссии у пациентов с ВЗК, особенно у пациентов с болезнью Крона [12; 13].

Leikin and Brenner [14] сообщили, что диетические фитостерины, содержащиеся в растительном масле, увеличивают активность дельта-5-, дельта-6- и дельта-9-десатураз, которые участвуют в метаболизме ПНЖК. Поэтому можно предположить, что чрезмерное потребление ряда растительных масел может повлиять на метаболизм  $n-6$  ПНЖК и развитие ВЗК, особенно у пациентов с болезнью Крона. Вместе с тем установлено, что доля жирных кислот в жизненно важных клеточных мембранах поддерживается гомеостазом посредством активности этих десатураз, которые обычно контролируются посредством обратной связи [15]. Таким образом, нельзя исключить, что регуляция обратной связи десатурации ПНЖК у пациентов с ВЗК нарушена.

Данные многих исследований свидетельствуют о том, что воспалительные медиаторы (простагландин  $E_2$  ( $PGE_2$ ), лейкотриен  $B_4$  ( $LTB_4$ ), тромбоксан  $A_2$  ( $TXA_2$ )) образуются из арахидоновой кислоты через арахидоновый каскад [16; 17].

Арахидоновая кислота поставляется из животных жиров, но в основном производится из  $n-6$  ПНЖК, включая линолевую кислоту - незаменимую жирную кислоту, которая содержится в больших количествах в растительном масле. Линолевая кислота метаболизируется до арахидоновой кислоты через дельта-6- и дельта-5-десатуразы.

Можно предположить, что чрезмерное потребление  $n-6$  ПНЖК может усугубить хронические заболевания кишечника [10]. С другой стороны,  $n-3$  полиненасыщенные жирные кислоты ( $n-3$  ПНЖК), такие как  $\gamma$ -линоленовая кислота, также метаболизируются в эйкозапентаеновую кислоту (ЕРА) и докозагексаеновую кислоту (ДНА) теми же десатуразами. Следовательно,  $n-3$  ПНЖК, являющиеся незаменимыми жирными кислотами, которые содержатся в больших количествах в рыбьем жире, могут ингибировать арахидоновый каскад конкурентно антагонизирующими ферментами (дельта 6- и дельта-5-десатуразы, циклооксигеназы и липоксигеназы) в метаболическом процессе; тем самым обеспечивая противовоспалительные эффекты, ингибируя синтез воспалительных медиаторов  $AA$  и  $TXA_2$  [18-20]. Возможно, регулирование соотношения омега-3 к омега-6 ПНЖК с помощью диетотерапии может быть значимым для снижения активности ВЗК.

Кроме уровней ПНЖК, выявлены различия в содержании ряда насыщенных жирных кислот, включая миристиновую ( $C_{14:0}$ ), маргариновую ( $C_{17:0}$ ) и стеариновую ( $C_{18:0}$ ) ЖК. Установлено, что содержание стеариновой ЖК ( $C_{18:0}$ ) в сыворотке крови пациентов с ЯК оказалось достоверно выше, чем в группе контроля и у больных с БК ( $p < 0,05$ ), при этом выявлена отрицательная корреляция с соотношением омега-3/омега-6 ПНЖК. Данный факт представляется значимым, поскольку в ряде исследований [12] установлено, что высокий

уровень соотношения омега-3/омега-6 в мембранах клеток (более 0,65) оказался существенным для поддержания ремиссии у пациентов с ВЗК. Обратные ассоциации данного индекса с уровнем стеариновой ЖК показывают необходимость исследовать эффект ограничения данной кислоты в диете пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника.

Сниженные уровни миристиновой кислоты у пациентов с ВЗК по сравнению со здоровыми могут быть связаны с ее избыточным расходом в процессе миристоилирования, при котором кислота ковалентно прикрепляется к N-концевому остатку белка через амидную связь, что как правило, является необратимой модификацией последнего [16]. N-миристоилированные белки обладают множеством важных функций и играют заметную роль в нескольких сигнальных каскадах, включая Src-семейство тирозинкиназ, значимых для прогрессирования ВЗК.

**Выводы.** Таким образом, профили жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов у пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом значительно отличались от профилей здоровых людей и между группами с ВЗК. В частности, уровень дигомо- $\gamma$ -линоленовой кислоты (C20:3 n-6), соотношение суммы эйкозапентаеновой и докозапентаеновой жирных кислот к арахидоновой кислоте оказалось выше, а уровни маргариновой (C17:0) и олеиновой (C18:1;n-9) – ниже в мембранах эритроцитов пациентов с язвенным колитом в отличие от болезни Крона.

Соотношение омега-3/омега-6 ПНЖК оказалось достоверно выше у здоровых, чем у пациентов с ВЗК, как в мембранах Эр, так и СК ( $p < 0,01-0,05$ ).

Выявлена повышенная активность дельта-6-десатуразы в сыворотке крови и эритроцитах у больных с ВЗК в отличие от здоровых лиц.

Созданные пилотные диагностические панели, включающие жирные кислоты сыворотки крови и мембран эритроцитов, позволили дифференцировать пациентов с ВЗК от здоровых (панели 1 и 2) и пациентов с ЖК от таковых с БК с достаточно высокими уровнями чувствительности и специфичности (панель 1 - AUC 0,894, чувствительность 0,82, специфичность 0,88; панель 2 - AUC 0,819, чувствительность 0,86, специфичность 0,74; панель 3 - AUC 0,734, чувствительность 0,68, специфичность 0,76).

Полученные пилотные данные демонстрируют перспективность дальнейшего изучения уровней жирных кислот у больных с ВЗК как с точки зрения дифференциальной диагностики, так и таргета для терапии для поддержания ремиссии заболеваний.

*Работа выполнена в рамках темы «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» ГЗ № 0324-2018-0001, Рег. № АААА-А17-117112850280-2.*

## Список литературы

1. Ito Z., Uchiyama K., Odahara S., Takami S., Saito K., Kobayashi H., Koido S., Kubota T., Ohkusa T., Saruta M. Fatty Acids as Useful Serological Markers for Crohn's Disease. *Dig. Dis.* 2018. Vol. 36. No. 3. P. 209-217.
2. Friedman A.N., Yu Z., Tabbey R., Denski C., Tamez H., Wenger J., Thadhani R.Y., Watkins B.A. Low blood levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in US hemodialysis patients: clinical implications. *Am. J. Nephrol.* 2012. Vol. 36. P. 451-458.
3. Novak T.E., Babcock T.A., Jho D.H., Helton W.S., Espat N.J. NF-kappa B inhibition by Omega -3 fatty acids modulates LPS-stimulated macrophage TNF-alpha transcription. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2003. Vol. 284. P. L84-L89.
4. Zhou Y.Q., Xu R.Y., Wan Y.P. The role of dietary factors in inflammatory bowel diseases: New perspectives. *J. Dig. Dis.* 2019. Vol. 20. No. 1. P. 11-17.
5. Zhou J., Lai W., Yang W., Pan J., Shen H., Cai Y., Yang C., Ma N., Zhang Y., Zhang R., Xie X., Dong Z., Gao Y., Du C. BLT1 in dendritic cells promotes Th1/Th17 differentiation and its deficiency ameliorates TNBS-induced colitis. *Cell. Mol. Immunol.* 2018. Vol. 15. No. 12. P. 1047-56.
6. Marion-Letellier R., Savoye G., Beck P.L., Panaccione R., Ghosh S. Polyunsaturated fatty acids in inflammatory bowel diseases: a reappraisal of effects and therapeutic approaches. *Inflamm. Bowel Dis.* 2013. Vol. 19. No. 3. P. 650-661.
7. Masoodi M., Pearl D.S., Eiden M., Shute J.K., Brown J.F., Calder P.C., Trebble T.M. Altered colonic mucosal Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) derived lipid mediators in ulcerative colitis: new insight into relationship with disease activity and pathophysiology. *PloS One.* 2013. Vol. 8. No. 10. P. e76532-7.
8. Arab L., Akbar J. Biomarkers and the measurement of fatty acids. *Public Health Nutr.* 2002. Vol. 5. P. 865-871.
9. Кручинина М.В., Кручинин В.Н., Прудникова Я.И., Громов А.А., Шашков М.В., Соколова А.С. Исследование уровня жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с колоректальным раком г. Новосибирска // *Успехи молекулярной онкологии.* 2018. Т. 5. № 2. С. 50-61.
10. The IBD in EPIC Study Investigators. Linoleic acid, a dietary n-6 polyunsaturated fatty acid, and the aetiology of ulcerative colitis: a nested cases-control study within a European prospective cohort study. *Gut.* 2009. Vol. 58. P. 1606-1611.
11. Veglia F., Tyurin V.A., Blasi M., De Leo A., Kossenkov A.V., Donthireddy L., To T.K.J., Schug Z., Basu S., Wang F., Ricciotti E., DiRusso C., Murphy M.E., Vonderheide R.H., Lieberman

P.M., Mulligan C., Nam B., Hockstein N., Masters G., Guarino M., Lin C., Nefedova Y., Black P., Kagan V.E., Gabrilovich D.I. Fatty acid transport protein 2 reprograms neutrophils in cancer. *Nature*. 2019. Vol. 569. No. 7754. P. 73-78.

12. Uchiyama K., Nakamura M., Odahara S., Koido S., Katahira K., Shiraishi H., Ohkusa T., Fujise K., Tajiri H. N-3 polyunsaturated fatty acid diet therapy for patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010. Vol. 16. No. 10. P. 1696-707.

13. Nakamura M. Nutritional therapy in inflammatory bowel disease—dietary plan based on food exchange lists and evaluation of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Tokyo Jikeikai Med. J*. 2000. Vol. 115. P. 297-313.

14. Leikin A.I., Brenner R. Fatty acid desaturase activities are modulated by phytosterol incorporation in microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*. 1989. Vol. 1005. P. 187-191.

15. Lans W.E.M. *Fish and Human Health*. New York: NY Academic Press, 1986. 458 p.

16. Stillwell W. *An introduction to biological membranes. Composition, structure and function*. Second edition. UK London: Elsevier, 2016. 432 p.

17. Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович И.Л. *Патологическая биохимия / Под общ. ред. А.Д. Тагановича*. М.: Изд-во БИНОМ, 2013. 448 с.

18. Muto C., Yachi R., Aoki Y., Koike T., Igarashi O., Kiyose C. Gamma-tocotrienol reduces the triacylglycerol level in rat primary hepatocytes through regulation of fatty acid metabolism. *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2013. Vol. 52. No. 1. P. 32-37.

19. Liu L., Hu Q., Wu H., Xue Y., Cai L., Fang M., Liu Z., Yao P., Wu Y., Gong Z. Protective role of n6/n3 PUFA supplementation with varying DHA/EPA ratios against atherosclerosis in mice. *J. Nutr. Biochem*. 2016. Vol. 32. P. 171-180.

20. Walter K.R., Lin X., Jacobi S.K., Kaser T., Esposito D., Odle J. Dietary arachidonate in milk replacer triggers dual benefits of PGE2 signaling in LPS-challenged piglet alveolar macrophages. *J. Anim. Sci. Biotechnol*. 2019. Vol. 10. P. 1-13.