

Małgorzata Jelińska, Andrzej Tokarz

NOWE OBLICZA STARYCH ZNAJOMYCH – PRZECIWPALNE METABOLITY N-3 WNKT CZĘŚĆ I – POCHODNE EPA

Katedra i Zakład Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. ndzw. dr hab. A. Tokarz

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 są prekursorami niedawno odkrytych związków – resolwin E i D i protektyn – wykazujących działanie przeciwzapalne. Uzupełnia to informacje o mechanizmach korzystnego wpływu tych kwasów na prawidłową pracę wielu narządów, co może mieć istotne znaczenie w terapii chorób, u podstaw których leży zapalenie.

Hasła kluczowe: EPA, DHA, mediatory lipidowe, stan zapalny, dieta.
Key words: EPA, DHA, lipid mediators, inflammation, diet.

Badania eksperymentalne i epidemiologiczne wykazały, że obecne w diecie wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT) wpływają na pracę układu krążenia, wzrost i rozwój organizmów, procesy poznawcze, ryzyko rozwinięcia się chorób takich jak miażdżyca, choroby reumatyczne czy nowotworowe (1-3). Jednocześnie podejmowane są próby wyjaśnienia mechanizmów ich działania. Za jeden z nich uważa się obecność i właściwości eikozanoidów syntetyzowanych w organizmie pod wpływem cyklooksygenaz (COX) lub lipoksygenaz (LOX) z 20-węglowych WNKT. Do najlepiej poznanych należą metabolity kwasu arachidonowego (C20:4, n-6) – powstające na szlaku COX prostaglandyny, m.in. PGE₂, o silnych właściwościach prozapalnych, tromboksany (m.in. TXA₂), wywierający działanie agregacyjne, oraz wytwarzane na szlaku LOX leukotrieny – m.in. prozapalny LTB₄. Uważa się, że stymulują one występowanie zmian miażdżycowych, tworzenie zakrzepów, silne reakcje alergiczne i zapalne, a także proliferację komórek i rozrost tkanki nowotworowej. Wykazują też znacznie wyższą aktywność biologiczną, nawet w bardzo małych ilościach, w porównaniu do pochodnych innych 20-węglowych WNKT – kwasu dihomo- γ -linolenowego (DGLA, C20:3, n-6) i eikozapentaenowego (EPA, C20:5, n-3). Zaobserwowano, że obecność w diecie zwierząt doświadczalnych olejów roślinnych bogatych w kwas linolowy (słonecznikowego, kukurydzianego czy krokoszowego) który jest prekursorem kwasu arachidonowego pozytywnie koreluje z podwyższoną zawartością prozapalnych eikozanoidów oraz występowaniem powyższych schorzeń.

Przeciwnie działanie wywołuje spożycie olejów rybnych lub ryb będących dobrym źródłem WNKT z rodziny n-3 – EPA i kwasu dokozaheksaenowego (DHA, C22:6, n-3). EPA konkuruje o te same enzymy z kwasem arachidonowym, prowadząc do zmniejszenia syntezy jego metabolitów i zwiększenia stężenia związków, dla których sam jest prekursorem – m.in. prostaglandyny E₃ (PGE₃),

leukotrienu B₅ (LTB₅ – jest 10-100 razy słabszym chemoatraktantem dla neutrofilów niż LTB₄), które charakteryzują się znacznie słabszym działaniem prozapalnym, oraz tromboksanu A₃ (TXA₃) o bardzo słabych właściwościach agregacyjnych. Uważa się, że tłumaczy to korzystne działanie n-3 WNK. Ta teoria nie była jednak w pełni akceptowana przez niektórych badaczy, którzy zarzucali jej brak potwierdzenia takiego działania na poziomie komórkowym oraz konieczność zastosowania bardzo wysokich stężeń EPA w celu uzyskania tych cech (4).

W ostatnich latach jako jeden z zasadniczych procesów leżących u podstaw wielu często występujących chorób zaczęto uznawać stany zapalne. Poza dobrze znanymi zaburzeniami, jak artretyzm czy choroby przyzębia, są one obecnie wiązane z etiologią choroby niedokrwiennej serca, nowotworów czy też choroby Alzheimera (5-7). Zidentyfikowano kilkaset związków, które określa się jako miejscowe mediatory stanu zapalnego. Zalicza się do nich cytokiny, czynniki wzrostu, reaktywne formy tlenu oraz mediatory lipidowe – czynnik aktywujący płytki, lizolipidy a także eikozanoidy pochodne kwasu arachidonowego jako mediatory prozapalne. Jeszcze w ubiegłym stuleciu zauważono jednak, że kwas arachidonowy jest także prekursorem związków działających przeciwzapalnie – lipoksyn (LX), które są wytwarzane w zmienionym zapalnie miejscu. W czasie interakcji komórka-komórka PGE i PGD stymulują transkrypcję enzymów biorących udział w syntezie LX. Te z kolei w stężeniach nanomolarnych hamują dopływ granulocytów (neutrofilów i eozynofili) i stymulują przenikanie do miejsc zapalnych, niezbędnych do ich wchłonięcia się, monocytów (8).

To odkrycie, a także wyniki klinicznego badania z udziałem ponad 11000 osób przyjmujących różne ilości n-3 WNK oraz kwas acetylosalicylowy, które wykazało zmniejszenie o 45% liczby nagłych zgonów spowodowanych zawałem serca w grupie spożywającej ok. 1 g kwasów/dzień, zainspirowało badaczy do zwrócenia uwagi na EPA i DHA i ich metabolity. W efekcie na przełomie tysiącleci w eksperymentalnych wysiękach zapalnych u zwierząt zidentyfikowano nowe związki, powstające w wyniku enzymatycznego utleniania, których prekursorami są EPA i DHA – resolwiny, protektyny – nazywane też dokozatrienami lub neuroprotektynami (jeżeli powstają w tkance nerwowej), wykazujące silne działanie przeciwzapalne już w bardzo małych ilościach – 1-10 nM (4). Niedawno odkryto kolejną grupę – marezyny.

Nazwa **resolwiny** (*ang. resolvins*) pochodzi od warunków w jakich związki te produkowane są w organizmie i można tłumaczyć ją jako „produkty interakcji powstające w fazie wchłaniania/wygaszania stanu zapalnego” (z *ang. resolution phase interaction products*). Po raz pierwszy zostały one wykryte we wchłaniających się wysiękach stanów zapalnych skóry wywołanych u myszy, którym podano EPA oraz kwas acetylosalicylowy (4). Uważa się, że powstają w wyniku interakcji międzykomórkowych pod wpływem zacetylowanej kwasem acetylosalicylowym COX-2 i odznaczają się działaniem przeciwzapalnym. W zależności od kwasu tłuszczowego, z którego są syntetyzowane wyróżniono pochodne EPA – resolwiny z rodziny **E** (RvE1 i RvE2) – oraz DHA – resolwiny z rodziny **D** (RvD) (4).

RESOLWINY E – BIOSYNTENZA

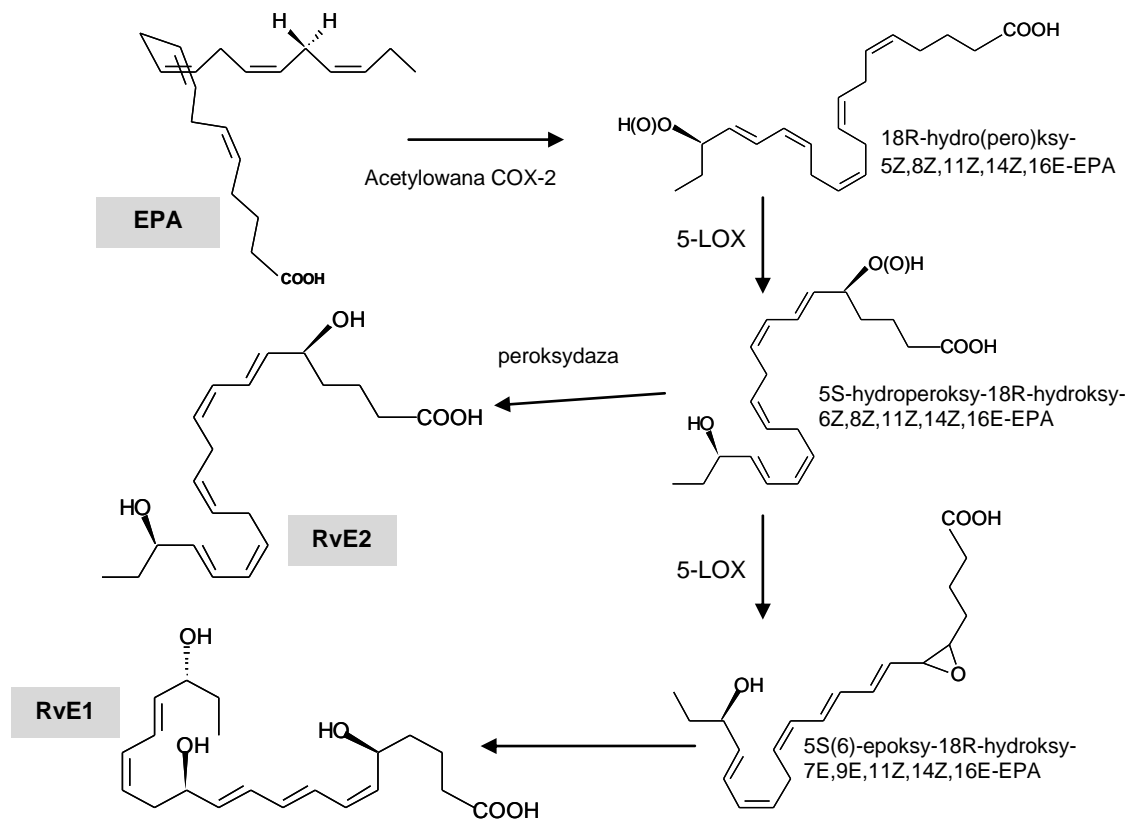
Resolwiny E były pierwszymi zidentyfikowanymi związkami z tej grupy, wykrytymi w zmianach zapalnych indukowanych czynnikiem martwicy nowotworu- α (ang. Tumour necrosis factor- α , TNF- α) u myszy, którym w kilka godzin później podawano kwas acetylosalicylowy, a następnie EPA (4). Mogą być także produkowane przez ludzkie komórki śródbłonna, czy neutrofile (4,9). Są syntetyzowane pod wpływem acetylowanej kwasem acetylosalicylowym COX-2 (ryc. 1). Komórki śródbłonna naczyń w obecności kwasu acetylosalicylowego przekształcają EPA do kwasu 18R-hydro(pero)ksy-5Z,8Z,11Z,14Z,16E-eikozapentaenowego (18R-HEPE), który jest uwalniany i szybko konwertowany przez neutrofile pod wpływem 5-lipoksygenazy (5-LOX) do kwasu 5,6-epoksy,18R-hydroksy-eikozapentaenowego (5,6-epoksy,18R-HEPE), a następnie do aktywnego biologicznie kwasu 5S,12R,18R-trihydroksy-6Z,8E,10E,14Z,16E-eikozapentaenowego, czyli **resolwiny E1 (RvE1)** (ryc. 1) (4). Związek ten może być również produkowany spontanicznie w zdrowym organizmie, po podaniu kwasu acetylosalicylowego i EPA.

Jednocześnie na szlaku biosyntezy RvE1 wytwarzana jest druga z pochodnych EPA – resolwina E2 (RvE2). W jej powstawaniu kluczową rolę wydaje się odgrywać 5-LOX – RvE2 jest wytwarzana w wyniku redukcji 18R-HEPE, pośredniego produktu w syntezie RvE1 (ryc. 1) (10).

Przypuszcza się, że bakterie obecne w miejscach zmienionych zapalnie mogą również przyczyniać się do produkcji resolwin (11).

DZIAŁANIE BIOLOGICZNE RESOLWIN Z RODZINY E

RvE1 wykazuje silne działanie przeciwwzapalne. Hamuje gromadzenie się neutrofilii i komórek dendrytycznych w zmienionych zapalnie miejscach na skutek blokowania ich migracji przez śródbłonek. Powoduje także zmniejszenie interakcji między neutrofilami i komórkami śródbłonna. We wspomnianym już stanie zapalnym skóry u myszy wywołanym podaniem TNF- α do torebki powietrznej na grzbiecie zwierzęcia (ang. dorsal air pouches – grzbietowe torebki powietrzne), uzyskane przez podskórne wstrzyknięcie sterylnego powietrza na grzbiecie szczurów czy myszy, są często stosowane jako modele ostrych stanów zapalnych (12), oraz w indukowanym zymosanem zapaleniu otrzewnej, RvE1 podana dożylnie (100 ng) znacznie zmniejszyła przenikanie neutrofilów (4,9). Adhezja neutrofilów do komórek śródbłonna naczyń i migracja przez nie do tkanek odgrywa zasadniczą rolę w reakcji zapalnej organizmu (13).



Ryc. 1. Biosynteza resolwin z rodziny E – RvE1 i RvE2 z kwasu eikozapentaenowego (EPA) (4,9).

Fig. 1. Biosynthesis of E-series resolvins – RvE1 and RvE2 – from eicosapentaenoic acid (EPA) (4,9).

W badaniach na królikach z wywoływanyymi przez bakterię *Porphyromonas gingivalis* zapaleniami przyzębia miejscowe podanie ok. 4 µg RvE1/ząb 3 razy dziennie przez tydzień zapobiegało zmianom zapalnym tkanek miękkich oraz ubytkom kości (14). W badaniach ostrego zapalenia przyzębia u ludzi resolwina ta w ponad 90% hamowała wydzielanie rodnika ponadtlenkowego przez neutrofile. U osób z tym schorzeniem jest on wytwarzany w 10-15 razy większych ilościach niż w neutrofilach osób zdrowych (14).

Resolwina E1 wykazywała też ochronne działanie w stymulowanym przez kwas 2,4,6-trinitrobenzenosulfonowy stanie zapalnym jelit u myszy, przyczyniając się jednocześnie do utrzymania masy ciała zwierząt i zwiększenia ich przeżycia (15). Przyczyniała się również do odbudowy nabłonka rogówki myszy po uszkodzeniu termicznym (16).

RvE1 reaguje też prawdopodobnie z receptorem dla LTB₄ – BLT1 i działając antagonistycznie zapobiega aktywacji neutrofilei. Stymuluje również makrofagi do wchłaniania apoptycznych neutrofilei (17). Hamuje natomiast powstawanie prozapalnych cytokin.

RvE2 wykazuje podobne działanie do RvE1. W ludzkich neutrofilach syntetyzowany jest w większych ilościach niż RvE1. Obie resolwiny podane razem dożylnie wzmacniają wzajemnie swoje działanie, powodując zmniejszenie przenikania neutrofilei aż o 40% w porównaniu do podania każdego izomeru osobno w tej samej dawce (ok. 20% zahamowanie przenikania) (10).

Niedawno odkryte metabolity kwasu eikozapentaenowego uzupełniają informacje o mechanizmach korzystnego wpływu EPA na prawidłową pracę wielu narządów, co może mieć istotne znaczenie w terapii chorób, u podstaw których leży zapalenie.

M. Jelińska, A. Tokarz

NEW FACES OF OLD FRIENDS –
ANTI-INFLAMMATORY METABOLITES OF N-3 PUFA
PART I – EPA DERIVATIVES

Summary

N-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) are converted into novel compounds of anti-inflammatory activity, namely resolvins E and D, and protectins. They appear to be potent lipid mediators reducing neutrophils infiltration and transcellular migration, affecting cytokine regulation or lowering the inflammatory response. They complete the knowledge on the beneficial effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in cardiovascular disease, cancer, arthritis or Alzheimer's disease, which may be of importance in their therapy.

PIŚMIENNICTWO

1. *Calder P.C.*: n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored, *Clin. Sci.* 2004; 107:1-11. – 2. *Innis S.M.*: Dietary (n-3) fatty acids and brain development, *J. Nutr.* 2007; 137: 855-859. – 3. *Berquin I.M., Edwards I.J., Chen Y.Q.*: Multi-targeted therapy of cancer by omega-3 fatty acids, *Cancer Let.* 2008; 269: 363-377. – 4. *Serhan C.N., Clish C.B., Brannon J., Cologan S.P., Chiang N., Gronert K.*: Novel functional sets of lipid-derived mediators with anti-inflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase 2-nonsteroidal anti-inflammatory drugs and transcellular processing, *J. Exp. Med.* 2000; 192: 1197-1204. – 5. *Libby P,*

Ridker P.M., Maseri A.: Inflammation and atherosclerosis, *Circulation* 2002; 105:1135-1143. – 6. *Karin M., Greten F.R.*: NF-kappaB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression, *Nat. Rev. Immunol.* 2005; 5:749-759. – 7. *Koistinaho M., Koistinaho J.*: Interactions between Alzheimer's disease and cerebral ischemia – focus on inflammation. *Brain Res. Rev.*, 2005; 48:240-250. – 8. *Clària J., Serhan C.N.*: Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92:9475-9479. – 9. *Arita M., Bianchini F., Aliberti J., Sher A., Chiang N., Hong S., Yang R., Petasis N.A., Serhan C.N.*: Stereochemical assignment, anti-inflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1, *J. Exp. Med.* 2005; 201:713-722. – 10. *Tjonahen E., Oh S.F., Siegelman J., Elangovan S., Percarpio K.B., Hong S., Arita M., Serhan C.N.*: Resolvin E2: identification and anti-inflammatory actions: pivotal role of human 5-lipoxygenase in resolving E series biosynthesis. *Chem. Biol.* 2006; 13:1193-1202.

11. http://www.washingtonbiotech.com/inflammation_models/air_pouch_model.html (strona aktywna 29.03.2011). – 12. *Stables M.J., Gilroy D.W.*: Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution, *Prog. Lipid Res.* 2011; 50:35-51. – 13. *Golab J., Jakóbisziak M., Lasek W.*: Immunologia, PWN Wydawnictwo Naukowe Warszawa 2005. – 14. *Hastruk H., Kantarci A., Ohira T., Arita M., Ebrahimi N., Chiang N., Petasis N.A., Levy B.D., Serhan C.N., Van Dyke T.E.*: RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis, *FASEB J.* 2006; 20:401-403. – 15. *Arita M., Yoshida M., Hong S., Tjonahen E., Glikman J.N., Petasis N.A., d S. Blumberg, R.S., Serhan C.N.*: Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102:7671-7676. – 16. *Gronert K., Maheshwari N., Khan N., Hassan I.R., Dunn M., Laniado Schwartzman M.*: A role for the mouse 12/15-lipoxygenase pathway in promoting epithelial wound healing and host defense, *J. Biol. Chem.* 2005; 280:15267-15278. – 17. *Schwab J. M., Chiang N., Arita M., Serhan C.N.*: Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation-resolution programmes, *Nature* 2007; 447:869-874.

Adres: 02-097 Warszawa, ul. Banacha 1.