

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ В ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Н.В. Гроза, старший научный сотрудник, А.Б. Голованов, аспирант,

Е.А. Наливайко, студент, Г.И. Мягкова, профессор

кафедры Химии и технологии биологически активных соединений

им. Н.А. Преображенского МИТХТ им. М.В. Ломоносова

e-mail: grozanv@gmail.com

В настоящем обзоре представлены литературные данные, посвященные исследованиям терапевтической роли природных полиненасыщенных жирных кислот и их производных в процессах воспаления, опухолеобразования, иммунных реакций.

This review presents literature data on studies of the therapeutic role of natural polyunsaturated fatty acids and their derivatives in the processes of inflammation, cancer, and immune response.

Ключевые слова: полиненасыщенные жирные кислоты, эйкозаноиды, цитотоксичность, иммуноподавляющее действие.

Key words: polyunsaturated fatty acids, eicosanoids, cytotoxicity, immunosuppressive action.

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), которые ранее считались лишь аккумуляторами энергии в организме человека, являются, как уже доказано, высокоактивными функциональными молекулами. Они могут действовать в качестве индукторов факторов транскрипции, регулирующих синтез белка, лигандов в трансдукции сигналов, компонентов мембраны, которые способствуют изменению ее текучести, проницаемости и динамики. ПНЖК играют ключевые роли во многих биологических процессах, таких как иммунный ответ, генная регуляция, старение, воспалительные реакции и [1].

Ненасыщенные жирные кислоты – предшественники обширного ряда различных липидных медиаторов, которые регулируют метаболические пути и воспалительные реакции (рис. 1). Большинство жирных кислот могут быть синтезированы в человеческом организме, но не все. Важнейшие предшественники всех ω -3 жирных кислот – α -линоленовая кислота (ALA) и всех ω -6 жирных кислот – линолевая кислота (LA) должны быть получены из пищи. Таким образом, пищевые привычки и, в особенности, потребление определенных типов «жиров», оказывает большее влияние на организм и здоровье человека в целом [2].

ПНЖК выполняют различные роли в клетках. Они действуют как:

- запасенное топливо для выработки энергии;
- компоненты мембранных фосфолипидов клетки, вносящие вклад в физические и функциональные свойства мембран;
- ковалентные модуляторы белковых структур, влияющие на местоположение и функцию белков в клетке;
- регуляторы экспрессии генов, влияющие либо на рецепторную активность, либо на внутриклеточные сигнальные процессы или на активацию факторов транскрипции [1];

- предшественники для синтеза биологически активных липидных медиаторов, таких как простагландины (PGs), лейкотриены (LTs), липоксины (LX) и резольвины (Rv) (рис. 1).

С другой стороны, в силу своей физиологической значимости и метаболической подвижности, реакции трансформации ненасыщенных жирных кислот и связанные с ними процессы представляют интерес для исследователей и как мишени, и как средства терапии различных патофизиологических состояний, включая процессы образования и развития опухолей. Хорошо известно, что современные химиотерапевтические препараты проявляют значительный цитотоксический эффект как по отношению к опухолевому, так и к здоровым клеткам. Поэтому ведутся поиски новых малотоксичных противоопухолевых агентов из ряда природных соединений и их аналогов, обладающих избирательной цитотоксичностью и тропностью к опухолям и не проявляющих цитотоксического эффекта по отношению к нормальным клеткам [3, 4].

Биосинтез незаменимых жирных кислот

Незаменимые жирные кислоты (ЖК) – кислоты, которые не могут синтезироваться в организме млекопитающих и поэтому должны поступать с пищей. За последние два десятилетия роль незаменимых жирных кислот была всесторонне исследована, и было установлено, что некоторые из них избирательно токсичны к опухолевым клеткам благодаря, в частности, продукции пероксидов (гидропероксидпроизводных жирных кислот). Незаменимые ЖК также оказывают регуляторное действие на подвижность опухолевых клеток, инвазию и метастатический процесс посредством регуляции межклеточной адгезии, молекулярного механизма подавления опухо-

лей и передачи клеточных сигналов. Клинические исследования с применением полиненасыщенных

жирных кислот, открывают перспективу увеличения срока жизни пациентов, болеющих раком [5].

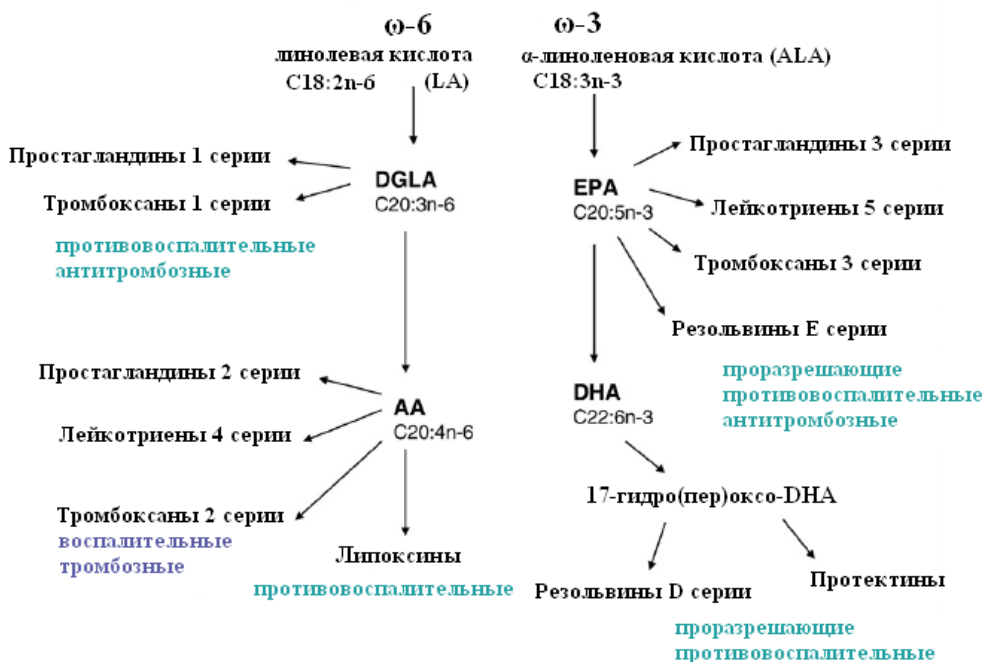


Рис. 1. Основные биологические эффекты метаболитов ω-3 и ω-6 жирных кислот (AA – арахидоновая кислота; EPA – эйкозапентаеновая кислота; DGLA – дигомо-γ-линоленовая кислота; DHA – докозагексаеновая кислота).

Существует четыре ряда ПНЖК (n-9, n-7, n-6 и n-3), названных так по местоположению первой двойной связи, считая от гидрофобного конца молекулы (рис. 2). Линолевая (ряд n-6) и α-линоленовая (ряд n-3) кислоты относятся к группе незаменимых и содержат две и три *цис*-

двойные связи соответственно. Другие полиненасыщенные жирные кислоты в ряду n-6 и n-3 либо преобразуются из исходных линолевой или линоленовой, либо поступают напрямую из пищи [5]. Далее под ПНЖК будем подразумевать полиненасыщенные кислоты ряда n-6 и n-3.

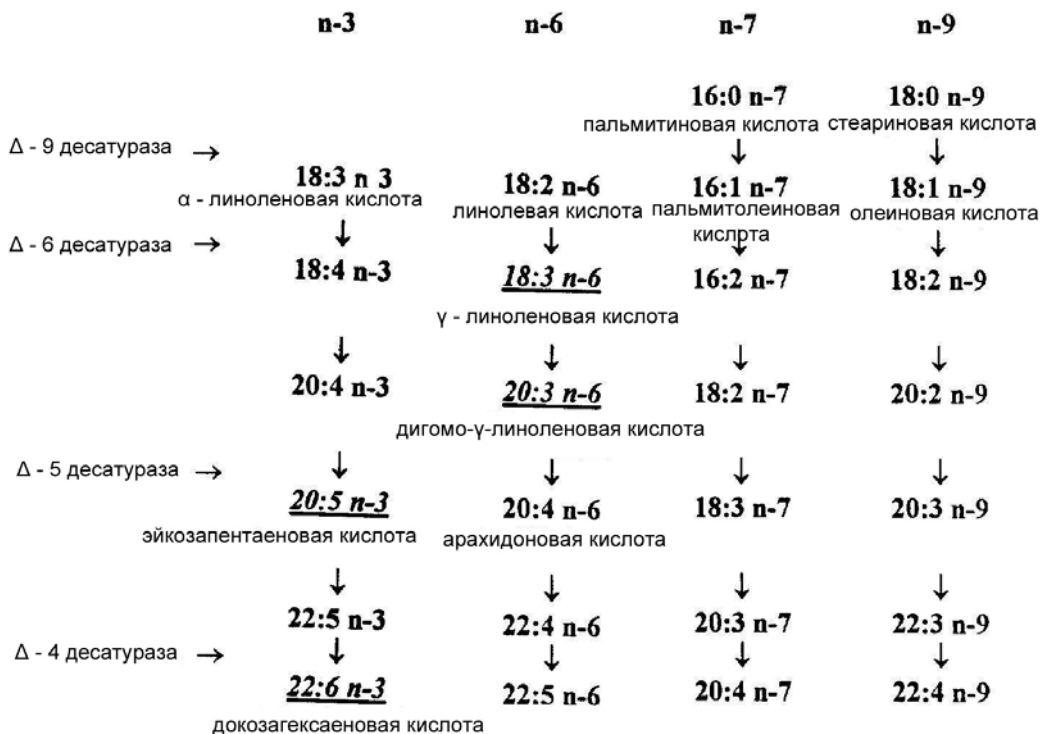


Рис. 2. Четыре ряда ПНЖК (n-3, n-6, n-7, n-9). Подчеркнуты ПНЖК, обладающие противоопухолевой активностью.

Жирные кислоты трансформируются в метаболиты различными путями; детальная схема, резюмирующая метаболизм ЖК n-6, представлена на рис. 3. Совместное действие нескольких ферментативных процессов, включая процессы дегидрирования (десатурации), проявляющиеся в образовании дополнительных двойных связей в молекуле (с помощью ферментов дегидро-

геназ, или десатураз), и процессы элонгации, протекающие с увеличением длины молекулы – добавлением атомов углерода к этой молекуле (с помощью элонгаз), приводит к получению многочисленных метаболитов, таких как эйкозаноиды, простагландины (PGs), лейкотриены (медиаторы воспаления) (LTs) и другие производные (рис. 3).

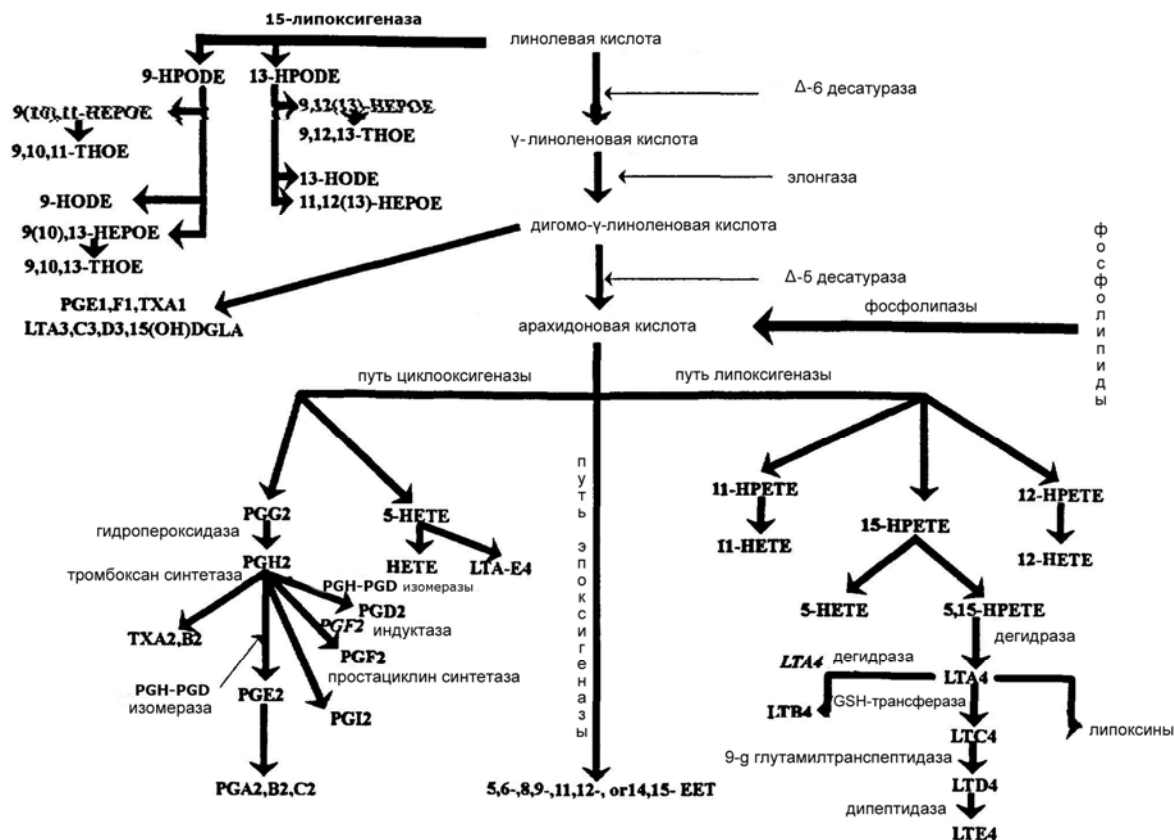


Рис. 3. Метаболизм n-6 жирных кислот (EET – эпокси-эйкозатриеновая кислота, NODE – гидроксо-октадекадиеновая кислота, HPODE – гидроперокси-октадекадиеновая кислота, HETE – гидроксо-эйкозатетраеновая кислота, HPETE – гидроперокси-эйкозатетраеновая кислота, HEPOE – гидроксо-эйкокси-октадекаеновая кислота, ТНОЕ – тригидроксо-октадекаеновая кислота, TX – тромбоксан. Обозначение Δ- в номенклатуре десатураз указывает на положение образующейся новой *цис*-двойной связи в молекуле жирной кислоты при ферментативном дегидрировании, например, Δ-6 десатураза).

Как уже упоминалось, ПНЖК являются ключевыми элементами в организме человека, играющими важные физиологические роли. Подобно другим липидам, они служат в качестве метаболического топлива для обеспечения энергии. Это достигается главным образом за счет β-окисления жирных кислот, хотя также встречаются процессы α- и ω-окисления. Во-вторых, жирные кислоты и их метаболиты являются неотъемлемыми частями клеточных мембран и играют главную роль в поддержании их целостности и текучести [5]. Наконец, жирные кислоты служат в качестве строительных блоков для других липидов и являются источником эйкозаноидов, которые выполняют регуляторные функции в физиологических процессах и при патологиях.

Недостаток незаменимых ЖК приводит к воспалению кожи и замедленному заживлению ран; и то, и другое обратимо при восстановлении этих ЖК в питании. Нарушения метаболизма ПНЖК и незаменимых ЖК также связаны с состоянием сердца и сердечно-сосудистыми заболеваниями [5, 6].

В последние два десятилетия особый интерес уделялся роли ПНЖК в процессах опухолеобразования. Жирные кислоты, образующиеся после первой ступени десатурации Δ-6, такие как γ-линоленовая кислота (GLA) и дигомо-γ-линоленовая кислота (DGLA) (ряд n-6), эйкозапентаеновая кислота (EPA) и докозагексаеновая кислота (DCHA) (ряд n-3), воздействуют на клетки, подвергшиеся неопластической трансформации, тогда как в нор-

мальных клетках преимущественно содержится линолевая кислота (LA) [7].

Далее GLA, DGLA, EPA и DCHA будем называть высоконенасыщенными кислотами (ВНЖК) с тем, чтобы отличать их от жирных кислот, имеющих только одну или две двойные связи.

Природные аналоги линоленовой и линолевой кислот с сопряженными двойными связями – источники терапевтической активности природных масел

В настоящее время внимание исследователей привлекают природные липиды и входящие в их состав жирные кислоты, выделенные из биологических объектов (водоросли, редкие растения, бактерии, грибы), ряд из которых обладают ярко выраженной противоопухолевой активностью и не токсичны по отношению к здоровым клеткам [8]. Достаточно изучена цитотоксичность жирных кислот, полученных из растительных масел, содержащих аналоги линоленовой кислоты с сопряженными двойными связями (CLN – Conjugated Linoleic acid); далее будем называть их сопряженными ненасыщенными кислотами [8, 9]. Наиболее распространенной октадекатриеновой жирной кислотой, содержащейся в растениях, является (9Z,12Z,15Z-18:3)- α -линоленовая кислота, которая составляет основу липидов мембран хлоропластов (рис. 4). Сопряженные жирные кислоты, полученные из масла косточек граната, тунги и катальпы, оказались цитотоксичными по отношению к клеткам моноцитарного лейкоза человека при концентрациях, превышающих 5 μ M для граната и тунги и 10 μ M для катальпы. В то же время жирные кислоты, полученные из масла календулы лекарственной, оказались неэффективными при концентрациях в пределах до 163 μ M [9]. Кроме того, триацилглицерины семян иногда включают сопряженные октадекатриеновые жирные кислоты, имеющие стереохимию (Z,E,E) или (Z,E,Z), и обеспечивают легкодоступный источник этих жирных кислот. Сообщали, по крайней мере, о пяти различных из шести теоретически возможных региоизомерах, имеющих в составе масел семян растений с системами двойных связей в следующих положениях: (Z,E,Z)- и (E,E,Z)-8,10,12-18:3 и (Z,E,Z)-(Z,E,E)- и (E,E,Z)-9,11,13-18:3 [9]. Основными жирными кислотами с сопряженными двойными связями, характерными для масел граната, тунги, катальпы и календулы лекарственной, оказались (9Z,11E,13Z)-CLN (71.7%), (9Z,11E,13E)-CLN (70.1%), (9E,11E,13Z)-CLN (31.3%) и, соответственно, (8E,10E,12Z)-CLN (33.4%). Таким образом, предполагали, что цитотоксичность сопряженных жирных кислот, полученных из масел

граната, тунги и катальпы, обуславливалась стереоизомерами по положениям 9, 11, 13 углеродной цепи. Чтобы объяснить цитотоксичность этих CLN, каждый изомер по указанным положениям был выделен из смесей жирных кислот при помощи ВЭЖХ и проанализирован на цитотоксичность с использованием клеточных моделей. Индексы цитотоксичности, установленные для (9Z,11E,13Z)-CLN, (9Z,11E,13E)-CLN и (9E,11E,13Z)-CLN, оказались намного выше, чем для (8E,10E,12Z)-CLN. Таким образом, более высокая цитотоксичность жирных кислот, полученных из масел граната, тунги и катальпы, по сравнению с сопряженными кислотами календулы лекарственной, вероятно, зависит от разной активности изомеров 9,11,13-CLN и 8,10,12-CLN [10].

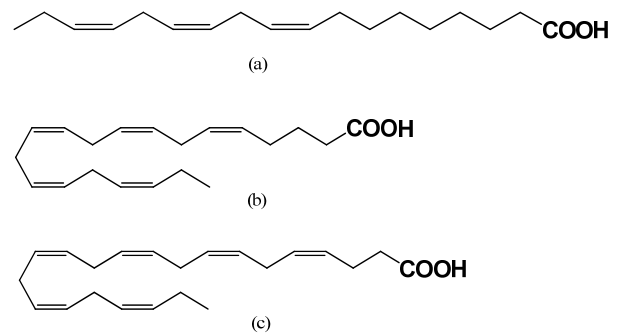


Рис. 4. Природные ВНЖК: α -линоленовая (а), эйкозапентаеновая (б) и докозагексаеновая кислоты (с).

В последние годы проводились научно-исследовательские работы, которые раскрыли потенциально целебные свойства, связанные с особыми изомерами линолевой кислоты с сопряженными связями (CLA – Conjugated Linoleic Acid). Эти свойства включают антиатерогенное воздействие, усиление иммунитета и уменьшение жировой прослойки [11]. Также показано, что сопряженная линолевая кислота является мощным ингибитором папиллом кожи, рака молочных желез, очагов аберрантной крипты на толстой кишке, опухолей простаты и системного разрастания культуры клеток рака молочной железы на животных моделях [12]. Это противоопухолевое действие CLA приписывалось либо смеси изомеров CLA, содержащих в основном формы (9Z,11E) и (10E,12Z) приблизительно в равных пропорциях (при этом другие изомеры CLA находились в значительно более низких концентрациях), либо чистому изомеру (9Z,11E) [13]. Изомер (9Z,11E)-CLA является преобладающей пищевой формой CLA, получаемой из жиров молока, молочных продуктов и мяса. Исследования выявили наличие в натуральных продуктах других видов сопряженных ПНЖК, и было изучено их биологическое действие [13]. Установлено сильное цитотоксическое действие сопряженной октадекатриеновой кислоты (9Z,11E,13E,15Z-

18:4), полученной из масла бальзамина (*Impatiens balsamma*), на клетки лейкоза человека. Кроме того, известно, что (9Z,11E,13Z-18:3)-изомер ЖК, извлеченный из масла семян китайской горькой тыквы, оказывал антиоксидантное действие в опухолевых тканях крыс [11].

Сопряженные ПНЖК, включая и CLA, обычно составляют менее 1% в природных продуктах, однако, некоторые виды растительных масел имеют гораздо более высокий процент (40–80%) CLN [11]. Действие сопряженной линолевой кислоты 9Z,11E-18:2 ассоциировалось со снижением заболеваемости раком, индуцированным химическими веществами, у мышей и крыс и подавлением атеросклероза у крыс [8]. Поскольку имеющиеся в продаже образцы CLA обычно содержат смесь изомеров, считается, что активным компонентом смеси является (9Z,11E)-изомер октадекадиеновой кислоты. Было показано, что в тканях крыс, получавших *транс*-изомер олеиновой кислоты 11E-18:1, увеличился уровень CLA, и предполагалось, что наличие подобного метаболического пути (11E-18:1 → 9Z,11E-18:2 посредством фермента Δ⁹-десатуразы) встречается у человека [13]. Кроме того, доказано, что оба изомера линолевой кислоты, (9Z,11E)- и (10E,12Z)-18:2 (рис. 5), продуцировались у обычных, а не стерильных крыс, получавших линолевую кислоту, и описано преобразование (9Z,12Z)-18:2 в (9Z,11E)-18:2. Таким образом, CLA представляет собой смесь позиционных и геометрических изомеров линолевой кислоты – (9Z,12Z)-18:2 [13].

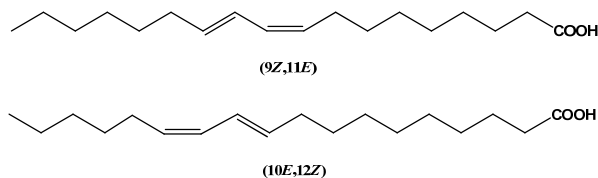


Рис. 5. Изомеры линолевой кислоты: (9Z,11E)-18:2 и (10E,12Z)-18:2 с сопряженными двойными связями.

Считают, что количество CLA в жировой ткани человека напрямую связано с потребляемой пищей. Предположили, что для увеличения статуса CLA у человека, она может поступать внутрь с продуктами питания, создаваться кишечной микрофлорой или при помощи экзогенных пробиотиков, которые используют пищевую линолевую кислоту для синтеза CLA [14]. Показано, что бифидобактерии могут служить связующим звеном между синтезом витаминов и увеличением биодоступности минералов, стимулировать положительную динамику при расстройствах желудочно-кишечного тракта, улучшать иммунную активность организма и способствовать подавлению разви-

тия опухолей. Штамм *Bifidobacterium breve* NCFB 2258 оказался самым эффективным при исследовании конверсии свободной линолевой кислоты в CLA [14]. В течение длительного времени при помощи микроскопа контролировали рост *B. breve* 2258 на среде с добавленной линолевой кислотой. Максимальное количество клеток было достигнуто по прошествии 16 ч, а максимальную конверсию линолевой кислоты в (9Z,11E)-CLA наблюдали через 24 ч [14].

Цитотоксическое воздействие ПНЖК на опухолевые клетки

В начале 1980-х было установлено, что ВНЖК, включая GLA, DGLA, EPA и DCHA, могут быть токсичными по отношению к раковым клеткам, не проявляя при этом токсичности к нормальным клеткам. Были проведены разноплановые исследования по токсичности ВНЖК на моделях новообразований, по чувствительности различных типов опухолевых клеток к жирнокислотным молекулам, по поиску механизмов воздействия жирных кислот [5]. Более 100 линий опухолевых клеток животных и человека были протестированы в цитотоксических исследованиях, включающих основные виды опухолей, встречающихся у человека. Большинство этих культур реагировали на GLA, DGLA, ALA и EPA, демонстрируя замедление роста клеток или индукцию некроза клеток [7, 15]. В табл. 1 суммированы результаты некоторых исследований по воздействию ПНЖК на различные виды опухолей.

Так, выявлено, что линолевая кислота (LA) имеет неоднозначный биологический эффект – стимулирует рост ряда опухолевых культур, замедляет рост других типов опухолевых клеток, третьи типы опухолей вообще не подвергаются ее влиянию. По-видимому, это зависит от вида опухоли. Например, почти во всех исследованиях клетки рака молочной железы агрессивно реагировали на LA, демонстрируя усиление пролиферации, процессов злокачественного перерождения, а в случае исследований, проводимых на животных, имел место рост опухоли. В то же время LA ингибировала рост меланомы, раковых клеток печени, ободочной и прямой кишки. Рост опухолевых клеток поджелудочной и предстательной желез при их обработке линолевой кислотой в одном случае ингибировался, в другом ускорялся [7, 16, 17].

В этих исследованиях также обнаружилась некоторая степень противоречивости в реакции разных типов опухолевых клеток и на другие длинноцепные жирные кислоты. Известны нехарактерные реакции отдельных видов опухолей на кислоты ряда n-3 GLA и EPA.

Таблица 1. Воздействие ПНЖК на различные виды опухолей

Жирные кислоты	Разновидность опухоли/рака	Метод исследования	Реакция	Ссылка
GLA	Рак предстательной железы	<i>In vitro</i>	Незначительный эффект	[22]
	Меланома	<i>In vitro</i>	Уменьшение роста клеток	[7]
	Рак молочной железы	<i>In vitro</i>	Уменьшает инвазию	
		Исследование на животных	Уменьшение роста опухоли	[25]
	Рак толстой кишки	<i>In vitro</i>	Уменьшение активных перемещений в мембране клетки	[26]
		Исследование на животных	Уменьшает онкогенез	[26]
		<i>In vitro</i>	Уменьшает рост клеток	[7]
	Рак печени	<i>In vitro</i>	Цитотоксичность к раковым клеткам	[27]
	Рак поджелудочной железы	<i>In vitro</i> , клиническое испытание	Подавление роста клеток, повышенная выживаемость	[16]
	Клетки астроцитомы	<i>In vitro</i>	Цитотоксичность	[28]
	DU-145	<i>In vitro</i>	Снижает пролиферацию	[29]
	Рак легких	Исследование на животных	Снижает рост опухоли	[30]
	Лейкозные клетки (MOLT4)	<i>In vitro</i>	Подавляет пролиферацию и увеличивает продуцирование IL-2	[31]
EPA	Рак предстательной железы	<i>In vitro</i>	Способствует росту при низкой концентрации, но подавляет при высокой концентрации	[22]
	MAC16	Исследование на животных	Ингибирует кахексию	[32]
	Рак молочной железы	<i>In vitro</i>	Подавляет рост клеток	
		Исследование на животных	Подавляет онкогенез и метастаз и увеличивает выживаемость	[25]
	Рак толстой кишки	Исследование на животных	Подавляет рост опухоли	[26]
		<i>In vitro</i>	Уменьшает рост клеток	[26]
	Клеточная линия астроцитомы	<i>In vitro</i>	Цитотоксичность	[28]
	Рак поджелудочной железы PaCa-2	<i>In vitro</i>	Апоптоз	[16]
Лейкозные клетки	<i>In vitro</i>	Снижает пролиферацию и вызывает апоптоз	[31]	

LA	Рак молочной железы	Исследование на животных	Стимулирует метастаз и рост	[25]
		Исследование на животных	Не влияет на частоту возникновения опухоли	[24]
		<i>In vitro</i>	Усиливает инвазию и адгезию клеточного матрикса	[24]
		<i>In vitro</i> и исследование на животных	Усиливает рост клеток и инвазию	[25]
	DU-145	<i>In vitro</i>	Снижает пролиферацию	[29]
	Колоректальный рак	<i>In vitro</i>	Уменьшает адгезию клеточного матрикса	[23]
	Рак простаты	<i>In vitro</i>	Усиливает пролиферацию	[22]
	Меланома	<i>In vitro</i>	Замедляет рост клеток	[7]
	Клетки MАС16	Исследование на животных	Не воздействует на кахексию	[32]
ALA	Рак молочной железы	<i>In vitro</i>	Подавляет рост опухолевых клеток	[25]
	DU-145	<i>In vitro</i>	Снижает пролиферацию	[29]
	HeLa	<i>In vitro</i>	Снижает пролиферацию	[20]
	Гепатома	<i>In vitro</i>	Вызывает цитотоксичность	[27]
	Рак толстой кишки	<i>In vitro</i>	Нарушает липидный обмен	[26]
	Рак поджелудочной железы	<i>In vitro</i>	Усиливает текучесть мембран и вызывает цитотоксичность	[16]
	Лейкозные клетки	<i>In vitro</i>	Замедляет рост клеток	[31]
	Рак легких	<i>In vitro</i>	Подавляет пролиферацию	[30]
		Исследование на животных	Снижает рост опухоли	[30]
ДСНА	Клеточная линия астрцитомы	<i>In vitro</i>	Цитотоксичность	[28]
	Рак молочной железы	<i>In vivo</i>	Снижает кинетику опухолевых клеток	[33]
Олеино-вая к-та	DU-145	<i>In vitro</i>	Увеличивает пролиферацию	[29]

Причины противоречивых данных могут состоять в том, что нет единых стандартных методик экспериментальной оценки противоопухолевой активности соединений природной структуры. Также исследователи используют совершенно различные биологические модели (некоторые из них даже невозможно сравнивать) для разных типов опухолей. В частности, на неоднозначный характер результатов исследования ПНЖК в опухолевых процессах могут влиять следующие факторы:

- Использование разных методик, как стандартных, так и оригинальных, включающих введение радиоактивно меченого тимидина, мечение опухолевых клеток изотопом ^{51}Cr , МТТ-тест (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-бромид дифенилтетразолия), колориметрический анализ, а также прямой подсчет клеток [18].
- Различия в периоде культивирования в разных экспериментах: чаще всего максимальная цитотоксичность ПНЖК проявлялась через 3 или более дней после начала культивирования [19].

- Включение антиоксидантов как сопутствующих агентов при обработке культур в некоторых экспериментах.

- Условия роста клеточных культур: включение или исключение сыворотки и альбумина в питательную среду также приводит к качественным и количественным изменениям в анализируемых образцах.

- Различные виды опухолей обнаруживают разную чувствительность к жирным кислотам. Например, в эксперименте сравнивали чувствительность опухолевых культур к GLA и EPA: наиболее чувствительны молочная железа = легкое > меланома > ободочная кишка (толстая кишка) [7].

- Интервал концентраций жирных кислот: в ряде исследований наблюдали дозозависимое влияние ПНЖК на пролиферацию клеток. Поэтому важно, чтобы захватывался более широкий интервал концентраций.

- Степень ненасыщенности ПНЖК играет роль в их токсичности по отношению к раковым клеткам. Например, показано, что чувствительность клеток HeLa к жирным кислотам проявляется в следующей последовательности:

DHA>EPA>DGLA=GLA>LA>AA>ALA [20].

EPA в большинстве случаев является высокотоксичной по отношению как к раковым, так и к нормальным клеткам, в то время как GLA является более токсичной по отношению к раковым, чем к нормальным клеткам, при сопоставимых условиях и концентрациях [19–21]. Такое интересное наблюдение показывает, что применение обеих жирных кислот в сочетании может оказать усиленное воздействие на опухолевые клетки без оказания значимого токсического эффекта на нормальные клетки. Это фактически было продемонстрировано в исследованиях с использованием двух химически связанных жирных кислот EPA–GLA [22, 23] как *in vitro*, так и *in vivo*. Было показано, что конъюгат EPA–GLA сохранил цитотоксичность обеих жирных кислот по отношению к раковым клеткам, уменьшив количество эйкозаноидов, активирующих развитие опухоли, инициируемое арахидоновой кислотой, и в то же время уменьшил побочные действия, наблюдаемые при использовании исключительно EPA. Это представляет интересный подход к применению сочетания различных жирных кислот для максимального использования их токсичности к опухолевым клеткам и подавления продуцирования прометаболитов опухоли из ПНЖК ряда n-3 и n-6 [24].

ВЛИЯНИЕ ПНЖК НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ

Иммуноподавляющий эффект ПНЖК

Жирные кислоты ряда n-3 и некоторые ряда n-6 проявляют подавляющее действие на многие функции лимфоцитов, включая биосинтез эйкозаноидов, продуцирование цитокинов, фагоцитоз, пролиферацию [34]. Эти эффекты, особенно характерные для n-3 ПНЖК, могут способствовать купированию разнообразных воспалительных реакций, вызывающих такие заболевания как артрит, гранулематозную болезнь (болезнь Крона), атеросклероз, псориаз, системную красную волчанку, рассеянный склероз, астму [35, 36]. Доказательство благоприятного воздействия ПНЖК ряда n-3 на воспаление приведено в описании исследований на пациентах, страдающих ревматоидным артритом [37]. Клинические испытания показали, что употребление в пищу жирных кислот ряда n-3 или рыбьего жира обеспечивает хороший эффект у пациентов, страдающих артритом. Демонстрировано, что добавление рыбьего жира в рацион может снизить необходимость в нестероидных противовоспалительных лекарствах, уменьшить болезненность суставов и утреннюю скованность. В то же время другие клинические исследования показывают незначительное действие n-3 ПНЖК на течение воспалительной реакции. Одной из причин такого различия результатов может быть недостаточная терапевтическая доза ПНЖК в ряде исследований [38].

ПНЖК и восприимчивость к инфекции

Организм человека реагирует на различные инфекции, вызванные бактериями, вирусами, паразитами и грибами. Первая линия защиты против патогенов обусловлена врожденной ветвью иммунной системы. Сочетание химической (например, медиаторы воспаления) и гуморальной реакций (например, активация комплемента) поддерживается множеством клеток (например, дендритные клетки, макрофаги, моноциты, Т-клетки и др.) [38]. С течением времени активируется адаптивная ветвь иммунной системы, в которой антигенспецифическая реакция устанавливается посредством реагирования эффекторных клеток. Это позволяет ликвидировать патоген при помощи выработанных против него антител (гуморальная реакция) или активации других компетентных клеток, которые тесно связаны с врожденной иммунной системой, благодаря продукции цитокинов. Характерной чертой приобретенного иммунитета является установление «памяти» по отношению к данному патогену. При условии, что ПНЖК, в особенности ряда n-3, проявляют иммуноподавляющий эффект, целесообразно предположить, что употребление в пищу этих жирных кислот будет ослаблять реакцию индивидуумов на инфекцию [39].

Хотя многие исследования показывают, что ПНЖК понижают способность организма

хозяина бороться с патогеном, в других работах демонстрируется благотворное действие или отсутствие эффектов ПНЖК по отношению к инфекции. Возможными факторами, которые могут оказывать влияние на противоречивые результаты, являются ограниченное число исследований и непостоянство в диетах, назначаемых между исследованиями. К тому же детали механизма действия ПНЖК не ясны. Крайне важно изучать эти подробности, так как капсулы рыбьего жира, богатые ПНЖК ряда n-3, отпускаются без рецепта, а включение n-3 жирных кислот в приготовленную пищу широко рекламируется [40].

Молекулярные механизмы регулирования иммунной функции посредством ПНЖК

Полагают, что и ПНЖК n-3 и n-6 оказывают иммуномодулирующее действие посредством четырех основных механизмов, которые не являются взаимоисключающими.

1. *Мембранная модуляция* – один из четырех основных механизмов, с помощью которого ПНЖК могут изменять функцию клеток. Употребление в пищу ПНЖК приводит к включению их в мембраны многих типов клеток организма. ПНЖК включаются в липиды, образуя сложную связь в sn-2-положении глицеринового остова фосфолипидов: фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина [41]. В тканях, обычно лишенных ПНЖК, введение их в мембрану может привести к существенным изменениям профиля ацильных цепей мембранных липидов. Например, встраивание докозагексаеновой кислоты в определенные ткани может восьмикратно увеличивать количество ПНЖК n-3 в составе мембраны. Вероятно, что такие изменения могут нарушать липид-белковые взаимодействия и мембранную поперечную структуру [42].

2. *Метаболизм эйкозаноидов*. Эйкозаноиды – это 20-ти-углеродные липидные медиаторы воспаления. Главным предшественником эйкозаноидов является ПНЖК ряда n-6 – арахидоновая кислота (AA), которая, образуясь при расщеплении фосфолипидов с помощью фосфолипазы A₂, служит в качестве субстрата для циклооксигеназы (COX) и липоксигеназы (LOX), катализирующих образование провоспалительных медиаторов. Механизмом, посредством которого ПНЖК ряда n-3 проявляют иммуноподавляющие эффекты, является конкуренция с AA в качестве субстратов для ферментов COX и LOX; метаболизм AA ингибируется, тем самым понижая продуцирование провоспалительных эйкозаноидов. Недавние исследования показали, что ПНЖК n-3 могут быть предшественниками нового класса эйкозаноидов, которые обладают противовоспалительными свойствами. Отмечено, что

ПНЖК ряда n-6 могут также проявлять противовоспалительные эффекты. Например, дигомо-γ-линолевая кислота может действовать как конкурирующий ингибитор метаболизма эйкозаноидов и подавлять образование провоспалительных цитокинов [43].

3. *Экспрессия генов*. Имеется значительное количество информации о способах, посредством которых ПНЖК воздействуют на экспрессию генов: это либо влияние на пути передачи сигнала, либо взаимодействие с ядерными рецепторами и факторами активации транскрипции. ПНЖК могут непосредственно изменять транскрипцию, взаимодействуя со стероид-регуляторным элементом, X-рецептором печени и PPAR-рецептором. В свою очередь, это может влиять на трансдукцию сигналов [44].

4. *Клеточная передача сигнала*. Изменения в клеточной передаче сигнала связаны с тремя другими механизмами. Некоторые из доказательств роли ПНЖК в иммунной клеточной сигнализации исходят из исследований, в которых ПНЖК подавляют передачу сигнала T-клеток и их пролиферацию посредством изменения структуры мембранных бислоев [45].

Исследования связи эффектов ПНЖК и презентации антигена находятся на их ранней стадии. Многие из того, что известно об иммуносупрессивных эффектах ПНЖК при лечении симптомов воспаления и регулировании восприимчивости к инфекциям, исходит из исследований при изменении характера питания, что приводит к неустойчивым результатам. Комплексные исследования питания, биохимии, мембранной биофизики и клеточной иммунологии могут дать ответы, как наиболее эффективно использовать ПНЖК в клинической практике [39].

Зависимость цитотоксичности ПНЖК от процессов перекисного окисления липидов

Общеизвестно, что в патологических условиях пероксиды и супероксиды, генерированные в процессе перекисного окисления липидов, разрушают ДНК и другие функциональные молекулы клеток. Также известно, что опухолевые клетки весьма устойчивы к перекислению липидов. Возможно, что главной причиной этой устойчивости является недостаток Δ-6-десатуразы в опухолевых клетках, соответственно опухолевые клетки испытывают недостаток в субстрате (ВНЖК) для окисления в перекисное соединение. Эксперименты показали, что снабжение опухолевых клеток недостающими ВНЖК (более двух двойных связей: GLA, DGLA, EPA) приводит к избыточному образованию липидного супероксида и, как результат, лизису опухолевых клеток. Ингибиторы циклооксигеназы и липоксигеназы не смогли блокировать такое действие, а анти-

оксидант и супероксиддисмутаза минимизировали данные воздействия ВНЖК [46, 47].

Как показано на рис. 2, когда наш организм получает LA из пищи или клетка получает LA из запасных липидов, с помощью десатураз и элонгаз она преобразуется в ВНЖК. Недостаток десатураз может быть вовлечен в патофизиологические процессы, такие как старение. Продукты десатурации Δ -6 усваиваются быстрее, чем их предшественники. Ненасыщенные жирные кислоты как n-3, так и n-6 конкурируют за участие в последующих метаболических превращениях. Показано, что жирные кислоты n-6, производные от GLA, быстрее включаются в фосфолипиды, чем жирные кислоты n-3, производные от ALA. Однако добавление LA и EPA в пищу или клеточную культуру подавляло активность десатураз Δ -6 и Δ -5 [48].

В течение долгого времени предполагалось, что эти десатуразы могут играть решающую роль в опухолеобразовании. Из литературных данных известно, что активность этих ферментов ослаблена в раковых клетках и тканях. Было показано, что десатурация Δ -6 является недостаточной в клетках злокачественной меланомы, опухолей простаты и рака молочной железы [25, 29]. Это было также четко продемонстрировано на двух клеточных линиях, одна из которых была получена из самопроизвольно иммортализованной эпителиальной линии клеток молочной железы человека MCF-10A, экспрессирующих либо протоонкоген c-Ha-ras (MCF-10AneoN), либо онкоген c-Ha-ras (MCF-10AneoT). Другая клеточная линия была получена путем трансфекции эпителиальных клеток молочной железы человека антигеном SV40T. Клетки MCF-10AneoT, содержащие онкоген, утратили способность выполнять десатурацию жирных кислот при помощи ферментов десатураз Δ -6 и Δ -4, тогда как клетки MCF-10AneoN, содержащие протоонкоген, и клеточная линия, преобразованная антигеном SV40T, не потеряли этой спос

Механизм перекисного окисления ПНЖК

Перекисное окисление липидов начинается с отщепления атома водорода от ПНЖК и образования радикала жирной кислоты (рис. 6). Оно может быть инициировано посредством радикалов: гидроксила ($\text{OH}\cdot$), пероксида ($\text{ROO}\cdot$), алкоксила ($\text{RO}\cdot$), супероксида ($\text{O}_2\cdot$) и радикалов пергидроксила ($\text{HO}_2\cdot$). Образованные липидные пероксидные радикалы способны вступать в реакцию с другими молекулами ПНЖК, тем самым инициируя новую реакцию и образуя липидные пероксиды и новый радикал жирной кислоты для дальнейшего цикла перекисного окисления. Получаемые таким образом продукты перекисного окисления повреждают мембрану и ДНК, оказывая цито-

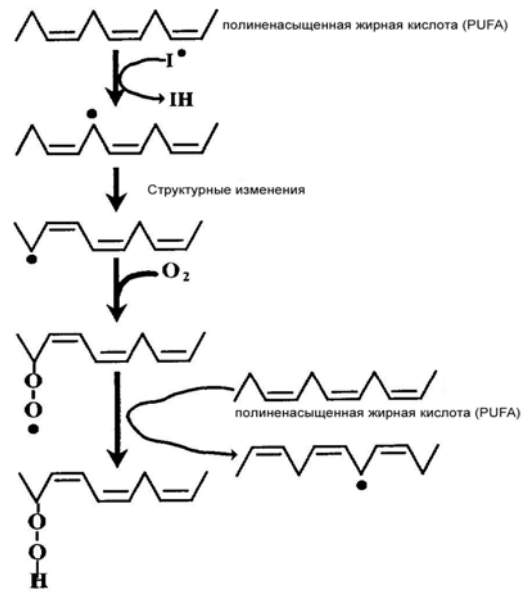


Рис. 6. Перекисное окисление липидов.

На этом рисунке показана инициация перекисного окисления липидов. Сначала от ПНЖК отщепляется атом водорода и образуется радикал жирной кислоты. Этот радикал должен в дальнейшем инициировать перекисное окисление других ненасыщенных жирных кислот, таким образом образуется все больше продуктов перекисления, которые токсичны для опухолевых клеток.

токсические эффекты в раковых клетках [50].

Изменение внутриклеточного соотношения Fe(II)/Fe(III) посредством добавления железа в среду культивирования может усиливать процессы перекисного окисления липидов в раковых клетках. Рыбий жир, богатый EPA, оказывает токсический эффект на клетки рака молочной железы, что связано с накоплением продуктов липидного перекисного окисления в опухолевых клетках. Были проведены исследования, где клетки рака молочной железы ZR-75-1 и клетки нормальных фибробластов человека CCD-41-SK (41Sk) культивировали с добавлением смеси GLA и двухвалентного железа Fe(II) . Выяснилось, что уровень перекисного окисления липидов и цитотоксический эффект были самыми высокими у клеток ZR-75-1, обработанных GLA+Fe(II) , хотя клетки 41SK показали незначительные отклонения уровней как липидного перекисного окисления, так и цитотоксичности. Сообщали, что при добавлении антиоксиданта (витамин E) в течение 6 дней, когда происходил процесс некроза клеток, любое дальнейшее развитие некроза клеток блокировалось [51]. Это означает, что механизм цитотоксичности, обусловленный воздействием жирных кислот, не вызывает постепенного разрушения клетки на протяжении 5-7-дневного периода некроза клеток. Вместе с тем некроз клеток является окислительным событием, происходящим за короткий временной диапазон

минут или часов, а не дней, и полностью блокируется витамином Е. Сочетание ВНЖК и других факторов (например, гипертермии) может увеличить уровень образования свободных радикалов и тем самым усилить эффективность действия жирных кислот [52].

Регуляция роста клеток, обусловленного цитокинами, в присутствии ПНЖК

Был продемонстрирован интересный феномен, что трансформирующий фактор роста (TGF β) оказывал ингибирующее действие на раковые и меланомные клетки лишь при наличии ПНЖК [53]. В дальнейшем такой же эффект был установлен в исследованиях с другими цитокинами, отличными от TGF β , включая интерлейкины (ILs), фактор некроза опухолей (TNF) и другие факторы роста. Это действие было выявлено на других видах рака (например, раковых клетках печени и желудочно-кишечного тракта). Воздействие ПНЖК n-3 и n-6 на опухолевые клетки также увеличило их чувствительность к цитолизу TNF [5].

Воздействие фактора роста фибробластов (BFGF) или фактора роста, вызванного андрогенами, на клетки SC-3 привело к временной остановке роста, однако одновременное добавление линолевой кислоты (LA) в культуральную среду, наряду с этими факторами, подтвердило пролиферацию (быстрое разрастание) клеток, стимулируемых BFGF. Ни ингибитор циклооксигеназы, ни ингибитор 5-липоксигеназы не смогли блокировать способность линолевой кислоты активировать рост [54].

Не существует четкого объяснения, чем обусловлены такие эффекты. Можно допустить, что эти незаменимые жирные кислоты были преобразованы в некоторые общие липидные медиаторы, участвующие в сигнальных путях и действующие посредством взаимодействия с цитокинами, которые регулируют рост клеток, и таким образом служат в качестве вторичных посредников для деятельности цитокинов и их рецепторов [5].

Увеличение чувствительности и изменение устойчивости микроорганизмов к цитотоксическому лекарственному средству благодаря ПНЖК

Показано, что ПНЖК производят синергетический или аддитивный эффект с агентами химиотерапии. Клетки, трансформированные онкогеном (рака сигмовидной ободочной кишки (SIC), *mys* или *ras*), стали более чувствительными к химиотерапевтическим агентам в присутствии незаменимых жирных кислот. Было продемонстрировано, что другие ВНЖК, такие как DСНА, могут увеличивать поглощение и, соответственно, внутриклеточную концентрацию химиотерапевтических агентов (например, адриамицина). Более того, DСНА и

другие ВНЖК также оказались способными уменьшать устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим лекарственным средствам, таким как адриамицин [55]. Предполагали, что благодаря ПНЖК происходит изменение резистентности микроорганизмов к лекарственному средству и что опухолевые клетки с устойчивостью ко многим лекарственным средствам могут стать снова чувствительными к этим лекарствам при наличии определенных ВНЖК. Также было показано, что опухолевые клетки, обладающие резистентностью к химиотерапевтическим лекарственным средствам, обнаружили большую чувствительность к ПНЖК, чем нерезистентные материнские клетки. Исследования, проведенные с животными, показали, что животные, получавшие ПНЖК (DСНА), лучше реагировали на химиотерапию, чем контрольная группа. Все эти наблюдения указывают на роль ВНЖК как вспомогательного средства при лечении больных раком химическими средствами, воздействующими на опухолевую клетку [56].

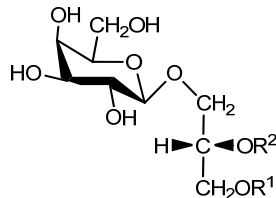
Известно, что GLA, EPA и DСНА, вдобавок к своей токсичности по отношению к клеткам астроцитомы, увеличивали чувствительность этих клеток к облучению. В то же время олеиновая кислота (OA) не усиливала эффект облучения. α -Токоферол ацетат блокировал повышенную чувствительность к облучению клеток, питаемых DСНА и GLA. Добавление этих жирных кислот до, во время и после облучения усилило разрушение клеток астроцитомы крыс, индуцированное облучением. Добавление DСНА и GLA после воздействия излучения также усилило реакцию на облучение клеток 36B10. Из всех тестируемых жирных кислот GLA оказалась самой эффективной [28].

Употребление с пищей ПНЖК в определенных концентрациях повышает эффективность лучевой послеоперационной терапии у раковых больных и в то же время защищает нормальные ткани от радиационного повреждения [5].

Стимулирующая противоопухолевая активность глицерогликолипидов, содержащих остатки диеновых жирных кислот

Глицерогликолипиды являются основными компонентами мембраны хлоропластов и в последние годы привлекают большое внимание благодаря своей биологической активности. О моногалактозилдиацилглицеринах (MGDG), сообщали как о противовоспалительных веществах [4]. В ходе исследования биологически активных соединений, извлеченных из микроводорослей пресных вод, было выделено восемь MGDG, которые исследовали на противоопухолевую активность, а также девять дигалакто-

зидиацилглицеринов (DGDG) [4]; некоторые MGDG и DGDG оказались более сильнодействующими на клеточных моделях, при этом никакой очевидной связи между структурой ацильных пар и биологической активностью не наблюдали. Так как трудно получить некоторые MGDG из природного источника из-за их низкой концентрации, была предпринята попытка синтезировать MGDG с различными ацильными парами, чтобы прояснить данную взаимосвязь (рис.7) [3]. Поскольку насыщенные ацильные группы природных MGDG в основном находятся в положении *sn*-2, а ненасыщенные – в положении *sn*-1, планировалось получить MGDG, содержащие остатки насыщенных ЖК в положении *sn*-1 и ненасыщенных – в положении *sn*-2, а также синтезировать MGDG, содержащие остатки высоконенасыщенных ЖК, таких как докозагексаеновая и эйкозапентаеновая, которые, как считали, препятствуют развитию онкогенеза.



- (1) R¹=эйкозапентаеноильная группа, R²=миристоильная группа
 (2) R¹=докозагексаеноильная группа, R²=миристоильная группа
 (3) R¹=миристоильная группа, R²=ацетильная группа
 (4) R¹=миристоильная группа, R²=миристоильная группа
 (5) R¹=миристоильная группа, R²=олеоильная группа
 (6) R¹=миристоильная группа, R²=линоленоильная группа
 (7) R¹=миристоильная группа, R²= докозагексаеноильная группа
 (8) R¹=докозагексаеноильная группа, R²= олеоильная группа

Рис. 7. Синтетические моногалактозилдиацилглицерины с различными ацильными группами

Стимулирующая противоопухолевая активность глицерогликолипидов, выделенных из *S. vulgaris*, определялась посредством краткосрочного анализа *in vitro* активации раннего антигена вируса Эпштейна–Барр (EBV-EA), индуцированной форболацетатом (TPA), на клетках Raji. Был проверен синтетический MGDG с той же ацильной парой, которая была у MGDG, выделенного из водоросли, и он показал почти такую же активность, что и природный [3, 4]. Были синтезированы моногалактозилдиацилглицерины при использовании *n*-метоксибензильной группы для защиты гидроксильных групп в составе сахара. Ни один из образцов не проявил цитотоксичности ниже концентрации, равной 1000 моль/TPA (трифорболацетат), хотя показали цитостатический эффект [3]. При концентрации 1000 моль/TPA MGDG с миристоильной группой в положении *sn*-1 (соединения 3, 4, 5, 6, 7, рис. 7) оказались более сильными цитостатиками, чем MGDG с

такой группой в положении *sn*-2. MGDG с высоконенасыщенной ацильной группой (соединения 1, 2, рис. 7), которые имели миристоильную группу в положении *sn*-2, также продемонстрировали сильный цитостатический эффект. MGDG с олеоильной группой (соединения 5, 8, рис. 7) полностью ингибировали активацию раннего антигена вируса EBV-EA при концентрации 1000 моль/TPA [3, 4]. Заслуживает внимания то, что галактозилглицерин без жирных хвостов показал противоопухолевую стимулирующую активность, так же как *sn*-2-лизо-производные. Это обстоятельство дает возможность предположить, что галактозилглицерин является основной структурой, необходимой для проявления активности MGDG, а сила активности будет зависеть от определенных ацильных групп. Хотя большинство MGDG оказались менее сильными, чем галактозилглицерин без ацильных остатков, только MGDG с олеоильной группой (соединение 4, рис. 7) обнаружили почти ту же или более сильную активность. В результате оценки противоопухолевой стимулирующей активности MGDG выяснилось, что олеоильная группа больше всех способствовала проявлению активности MGDG среди остальных проверенных ацильных групп, а производное, содержащее два олеоильных остатка, обнаружило самую высокую активность [3].

Заключение

Интерес к терапевтическим эффектам полиненасыщенных жирных кислот основан на результатах исследований, интенсивно проводившихся в течение последних 20-25 лет. Появилась устойчивая тенденция в фармакотерапии, заключающаяся в поиске «физиологических» регуляторов природной структуры, способных комплексно влиять на сложные биохимические процессы в организме, в отличие от скрининга химических соединений, селективно ингибирующих какие-либо ферментативные реакции. В настоящем обзоре мы попытались суммировать данные по биологическому действию ПНЖК и их изомеров в системных ответах животных клеток (или организма в целом) при различных заболеваниях и показали, что эти соединения могут служить инструментами тонкой регуляции одновременно нескольких биологических механизмов.

Работа выполнена при частичной поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (госконтракт П1340).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Calder P.C. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function // *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids*. 2008. V. 79. P. 101–108.
2. Cleissman H., John Inge Johnsen J.I., Kogner P. Omega-3 fatty acids in cancer, the protectors of good and the killers of evil? // *Exp. Cell Res*. 2010. V. 316. P. 1365–1373.
3. Nagatsu M., Watanabe K., Ikemoto N., Murakami N. Synthesis and structure – antitumor-promoting activity relationship of monogalactosyl diacylglycerols // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 1994. V. 4. P. 1619–1622.
4. Morimoto T., Nagatsu A., Murakami N. Antitumor-promoting glyceroglycolipids from the green alga, *Chlorella vulgaris* // *Phytochem*. 1995. V. 5. P. 1433–1437.
5. Jiang W.G., Bryce R.P., Horrobin D.F. Essential fatty acids: Molecular and cellular basis of their anti-cancer action and clinical implication // *Crit. Rev. Oncology/Hematology*. 1998. V. 27. P. 179–209.
6. Begin M.E., Das U.N., Eells, G. Cytotoxic effects of essential fatty acids (EFA) in mixed cultures of normal and malignant human-cells // *Prog. Lipid. Res*. 1986. V. 25. P. 573–576.
7. Gardiner N.S, Duncan J.R. Possible involvement of $\Delta 5$ -6-desaturase in control of melanoma growth by γ -linolenic acid // *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids*. 1991. V. 42. P. 149–153.
8. Dhar, P., Ghosh, S., Bhattacharyya D.K. Dietary effects of conjugated octadecatrienoic fatty acid (9*cis*, 11*trans*, 13*trans*) levels on blood lipids and nonenzymatic *in vitro* lipid peroxidation in rats // *Lipids*. 1999. V. 34. P. 109–114.
9. Suzuki R., Noguchi R., Ota T., Abe M. Cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on mouse tumor and human monocytic leukemia cells // *Lipids*. 2001. V. 36. P. 477–482.
10. Igarashi M., Miyazawa T. Newly recognized effect of conjugated trienoic fatty acids on cultured human tumor cells // *Cancer Lett*. 2000. V. 148. P. 173–179.
11. Adlof R.O., Duval S., Emken E.A. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans // *Lipids*. 2000. V. 35. P. 131–135.
12. Heys S.D., Murray A.W., Noble B.S. [et al.] Differential responses of human tumor-cells to polyunsaturated fatty acids stimulation of proliferation of a colon-tumor cell-line by docosahexaenoic acid // *Oncol*. 1995. V. 7. P. 927–933.
13. Sebedio J.L., Juaneda P., Dobson G., Ramilison I., Martin J.C., Chardigny J.M., Christie W.W. Metabolites of conjugated isomers of linoleic acid (CLA) in the rat // *Biochim. Biophys. Acta*. 1997. V. 1345. P. 5–10.
14. Coakley M., Ross R.P., Nordgren M., Fitzgerald G. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived *Bifidobacterium* species // *J. Apl. Microbiol*. 2003. V. 94. P. 138–145.
15. Horrobin D.F. Nutritional and medical importance of γ -linolenic acid // *Prog. Lipid Res*. 1992. V. 31. P. 94–163.
16. Falconer J.S., Ross J.A, Fearon K.H. [et al.] Effect of eicosapentaenoic acid and other fatty acids on the growth in-vitro of human pancreatic-cancer cell-lines // *Cancer*. 1995. V. 69. P. 826–832.
17. Kitano M., Mori S., Chen T.X. [et al.] Lack of promoting effects of α -linolenic, linoleic or palmitic acid on urinary-bladder carcinogenesis in rats // *Cancer*. 1995. V. 86. P. 530–534.
18. Slavotinek A., Memillan T.J., Steel C.M. Measurement of radiation survival using the MTT assay // *Cancer*. 1994. V. 30. P. 1376–1382.
19. Horrobin D.F. Essential fatty acids, lipid peroxidation, and cancer / ω -6 Essential fatty acids. – New York: Wisley-Liss, 1990. P. 351–378.
20. Sagar R.P., Das U.N. Cytotoxic action of *cis*-unsaturated fatty acids on human cervical-carcinoma (HeLa) cells in-vitro // *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids*. 1995. V. 53. P. 287–299.
21. Begin M.E., Eells G., Das U.N., Horrobin D.F. Differential killing of human carcinoma cells supplemented with n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids // *Cancer*. 1986. V. 77. P. 1053–1062.
22. Pandalai P.K., Pilat M.J., Yamazaki K. [et al.] The effects of ω -3 and ω -6 fatty-acids on *in vitro* prostate-cancer growth // *Anticancer Res*. 1996. V. 16. P. 815–820.
23. Fukui H., Sato T., Sunamoto J. Physicochemical perturbation of α -linolenic acid-related to cell-proliferation // *Bull. Chem. Soc*. 1994. V. 67. P. 213–218.
24. Hrelia S., Jimenez J.L., Bordoni A. [et al.] Essential fatty acid metabolism in cultured rat cardiomyo-cytes in response to either n-6 or n-3 fatty acid supplementation // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1995. V. 216. P. 9–11.
25. Pritchard G.A., Jones D.L., Mansel R.E. Lipids in breast carcinogenesis // *Surg*. 1989. V. 76. P. 1069–1073.
26. Jiang W.G., Hiscox S., Hallett M.B. [et al.] Inhibition of membrane ruffling and ezrin translocation by γ -linolenic acid // *Oncol*. 1996. V. 9. P. 279–284.
27. Puntis M.C., Jiang W.G. New approaches to cancer treatment: Unsaturated lipids and photodynamic therapy. – New York: Churchill-Livinstone, 1994. P. 40–67.
28. Vartak S., Robbins M.E., Spector A.A. Polyunsaturated fatty acids increase the sensitivity of 36B10 rat astrocytoma cells to radiation-induced cell kill // *Lipids*. 1997. V. 32. P. 283–292.

29. Dutoit P.J., Vanaswegen C.H., Duplessis D.J. The effect of essential fatty acids on growth and urokinase-type plasminogen-activator production in human prostate DU-145 cells // *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids*. 1996. V. 55. P. 173–177.
30. de Bravo M., Schinella G., Tournier H. [et al.] Effects of dietary γ - and α -linolenic acid on a human lung carcinoma growth in nude mice // *Med. Science Res*. 1994. V. 22. P. 667–668.
31. Devi M.A., Das N.P. Antiproliferative effect of polyunsaturated fatty-acids and interleukin-2 on normal and abnormal human lymphocytes // *Experimentia*. 1994. V. 50. P. 489–492.
32. Tisdale M.J. Inhibition of lipolysis and muscle protein-degradation by EPA in cancer cachexia // *Nutr*. 1996. V. 12. P. 31–33.
33. Ritskeshoitinga J., Meijers M., Timmer W.G. [et al.] Effects of 2 dietary-fat levels and 4 dietary linoleic-acid levels on mammary-tumor development in balb/c-MMTV mice under ad-libitum feeding conditions // *Nutr. Cancer*. 1996. V. 25. P. 72–161.
34. Mills S.C., Windsor A.C., Knight S.C. The potential interactions between polyunsaturated fatty acids and colonic inflammatory processes // *Clin. Exp. Immunol*. 2005. V. 142. P. 216–228.
35. Mayser P., Grimm H., Grimminger F. n-3 Fatty acids in psoriasis // *Nutr*. 2002. V. 87. P. 77–82.
36. Takatsuka H., Takemoto Y., Wakae T., Mori A., Okada M., Iwata N., Okamoto T., Kanamaru A., Kakishita E. Oral eicosapentaenoic acid for acute colonic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation // *Drugs Exp. Clin. Res*. 2002. V. 28. P. 121–125.
37. Goldberg R.J., Katz J.A. Meta-analysis of the analgesic effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for inflammatory joint pain // *Pain*. 2007. V. 129. P. 5–7.
38. Calder P.C. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases // *Am. J. Clin. Nutr*. 2006. V. 83. P. 1505–1519.
39. Shaikh S.R., Edidin M. Polyunsaturated fatty acids and membrane organization: Elucidating mechanisms to balance immunotherapy and susceptibility to infection // *Chem. Phys. Lipids*. 2008. V. 153. P. 24–33.
40. Anderson M., Fritsche K.L. (n-3) Fatty acids and infectious disease resistance // *Nutr*. 2002. V. 132. P. 3566–3576.
41. Stubbs C.D., Smith A.D. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function // *Biochim. Biophys. Acta*. 1984. V. 779. P. 89–137.
42. Stillwell W., Wassall S.R. Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid // *Chem. Phys. Lipids*. 2003. V. 126. P. 1–27.
43. Belch J.J.F., Hill A. Evening primrose oil and borage oil in rheumatologic conditions // *Clin. Nutr*. 2000. V. 71. P. 352–356.
44. Nakamura M.T., Cheon Y., Li Y., Nara T.Y. Mechanisms of regulation of gene expression by fatty acids // *Lipids*. 2004. V. 39. P. 1077–1083.
45. Zeyda M., Stulnig T.M. Lipid rafts & Co.: An integrated model of membrane organization in T-cell activation // *Prog. Lipid Res*. 2006. V. 45. P. 187–202.
46. Ingold K.V., Cheeseman K.H., Burton G.W. Lipid peroxidation and lipid antioxidation in normal and tumour cells // *Toxicol. Pathol*. 1984. V. 12. P. 229–235.
47. Begin M.E., Ells G., Das U.N., Horrobin D.F. Polyunsaturated fatty acids induced cytotoxicity against tumor cells and its relationship to lipid peroxidation // *Cancer*. 1988. V. 80. P. 188–194.
48. Horrobin D.F. Fatty-acid metabolism in health and disease – the role of Δ -6-desaturase // *Clin. Nutr*. 1993. V. 5. P. 727–732.
49. Grammatikos S., Harvey M.J., Subbaiah P.V. Loss of fatty-acid Δ 5-6 desaturating ability in human mammary epithelial-cells that express an activated c-Ha-ras oncogene // *Oncol*. 1995. V. 6. P. 1036–1039.
50. Cheeseman K.H. Lipid peroxidation and cancer. – Sussex, UK: Ellis Horwood, 1993. P. 109–144.
51. Ells G.W., Chisholm K.A., Simmons V.A., Horrobin D.F. Vitamin-E blocks the cytotoxic effect of γ -linolenic acid when administered as late as the time of onset of cell-death insight into the mechanism of fatty-acid induced cytotoxicity // *Cancer Lett*. 1996. V. 98. P. 199–207.
52. Kokura S., Yoshikawa T., Kaneko T. Efficacy of hyperthermia and polyunsaturated fatty acids on experimental carcinoma // *Cancer Res*. 1997. V. 57. P. 2192–2200.
53. Newman M.J. Inhibition of carcinoma and melanoma cell growth by type 1 transforming growth factor is dependent on the presence of polyunsaturated fatty acids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1990. V. 87. P. 5537–5543.
54. Kasayama S., Koga M., Kouhara H. Unsaturated fatty-acids are required for continuous proliferation of transformed androgen-dependent cells by fibroblast growth-factor family proteins // *Cancer Res*. 1994. V. 54. P. 6435–6441.
55. Zilstra J.G., De Vries E.G., Muskiet F.J. Influence of docosahexaenoic acid *in vitro* on intracellular adriamycin concentration in lymphocytes and human adriamycin-sensitive and resistant small cell lung cancer cell lines, and on cytotoxicity in the tumour cell lines // *Cancer*. 1987. V. 40. P. 846–850.
56. Davies C.L., Duffy P.M., MacRobert A.J. Localization of anthracycline accumulation in sensitive and resistant urothelial tumor-cell lines // *Cancer Detect. Prevent*. 1996. V. 20. P. 623–625.