

УДК616.153.93074:543.544

А.Х.Кадыров, Ф.Х.Мансурова, М.Б.Тошев, М.Р.Суриев

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В
СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И БОЛЬНЫХ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ
БОЛЕЗНЬЮ НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ЛИТОГЕНЕЗА***(Представлено академиком АН Республики Таджикистан Г.К.Мироджовым 22.05.2008 г.)*

Благодаря использованию метода газожидкостной хроматографии стало возможным точное определение состава жирных кислот в биологических объектах, в том числе жирно-кислотного состава липидов сыворотки крови, что позволяет получить ценную информацию о состоянии липидного обмена у человека в норме и при патологических состояниях [1-3].

Липиды крови содержат в себе ряд насыщенных и ненасыщенных жирных кислот с длиной углеводородной цепочки от C₁₂ до C₂₂. Учитывая перспективность использования в лабораториях газохроматографических методов исследования, мы попытались усовершенствовать методику экстрагирования липидов и определения жирных кислот на хроматографе «Хром-5» с пламенно-позиционным детектором.

При подборе метода экстракции необходимо принимать во внимание химические свойства липидов. Чтобы предотвратить окисление двойных связей, непосредственно перед проведением экстракции растворители хлороформ, метанол, эфир и гексан перегоняли на ректификационной колонке. Чистоту реактивов контролировали газохроматографическим методом.

Анализ литературы показывает, что до последнего времени отсутствуют сведения о качественном и количественном составе жирных кислот сыворотки крови больных на различных этапах литогенеза.

С целью получения более существенных результатов и установления нормы в качестве объекта исследования использовали сыворотку крови группы практически здоровых людей в возрасте от 26 до 60 лет (15 женщин и 7 мужчин), не страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта.

Кровь для биохимических исследований брали утром, не менее чем через 12 ч после приёма пищи.

Результаты газохроматографических анализов жирных кислот 22 здоровых и 55 больных людей желчнокаменной болезнью приведены в таблице.

Как видно из данных таблицы и рисунка, в сыворотке крови практически здоровых лиц соотношение суммарных количеств насыщенных жирных кислот (НЖК), мононенасыщенных (МНЖК) и полиненасыщенных (ПНЖК) жирных кислот равно 1.6:1.4:1.3 и состави-

ло 36.57, 32.58 и 29.75% соответственно. Среди обнаруженных нами четырех насыщенных жирных кислот преобладали пальмитиновая ($C_{16:0}$, 25.45%) и стеариновая ($C_{18:0}$, 8.87%), составляющие более 34% насыщенных жирных кислот, причём процентное содержание первой оказалось почти в три раза выше, чем второй.

Что касается мононенасыщенных жирных кислот на примере пальмитоолеиновой ($C_{16:1}$, 7.17%) и олеиновой ($C_{18:1}$, 25.4%) кислот, то содержание олеиновой кислоты превышало содержание пальмитоолеиновой почти в 3.5 раза.

Среди полиненасыщенных жирных кислот преобладала концентрация линолевой кислоты, составившая 23.45%.

В сыворотке крови больных желчнокаменной болезнью определено девять жирных кислот. Надо отметить, что по количественному содержанию все идентифицированные в сыворотке крови жирные кислоты можно разделить на три группы: 1-я группа, составившая 95-97% суммы всех жирных кислот, содержала шесть жирных кислот – пальмитиновую ($C_{16:0}$), пальмитоолеиновую ($C_{16:1}$), стеариновую ($C_{18:0}$), олеиновую ($C_{18:1}$), линолевою ($C_{18:2}$) и арахидоновую ($C_{20:4}$); 2-ая группа, составившая 3-4% суммы всех жирных кислот, состояла из семи жирных кислот – $C_{10:4}$, $C_{14:0}$, $C_{14:1}$, $C_{15:0}$, $C_{15:1}$, $C_{17:0}$, $C_{17:1}$; 3-я группа, не превышающая 1-2% суммы всех жирных кислот, включала 15 жирных кислот – $C_{12:0}$, $C_{13:0}$, изо- $C_{14:0}$, $C_{14:2}$, изо- $C_{16:0}$, $C_{16:2}$, $C_{18:0}$, $C_{18:3}$, $C_{19:0}$, $C_{20:0}$, $C_{20:1}$, $C_{20:2}$, $C_{20:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:0}$.

Таблица

Содержание жирных кислот в сыворотке крови здоровых и больных желчнокаменной болезнью (в % от общего содержания, $M \pm m$)

Жирные кислоты	Кодовое обозначение	Практически здоровые (n=22)	Больные	
			физико-химическая стадия (n=30)	хирургическая стадия (n=25)
Миристиновая	$C_{14:0}$	1.39±0.09	2.43±0.09	2.26±0.05
Пентадекановая	$C_{15:0}$	0.86±0.09	0.71±0.03	0.77±0.03
Пальмитиновая	$C_{16:0}$	25.5±1.00	30.70±1.35	36.0±1.16
Пальмитоолеиновая	$C_{16:1}$	7.17±0.26	4.29±0.12	5.91±0.13
Стеариновая	$C_{18:0}$	8.87±0.52	16.48±0.18	20.11±0.17
Олеиновая	$C_{18:1}$	25.4±1.00	23.45±0.87	23.26±1.12
Линолевая	$C_{18:2}$	23.5±0.32	18.49±0.13	20.16±0.17
Арахиновая	$C_{20:0}$	-	9.18±0.29	2.48±0.06
Арахидоновая	$C_{20:4}$	6.30±0.21	5.62±0.21	5.80±0.22
∑Насыщенных жирных кислот		36.57±1.78	59.50±1.70	64.74±1.54
∑Ненасыщенных жирных кислот		32.58±1.40	27.74±1.02	29.17±1.27

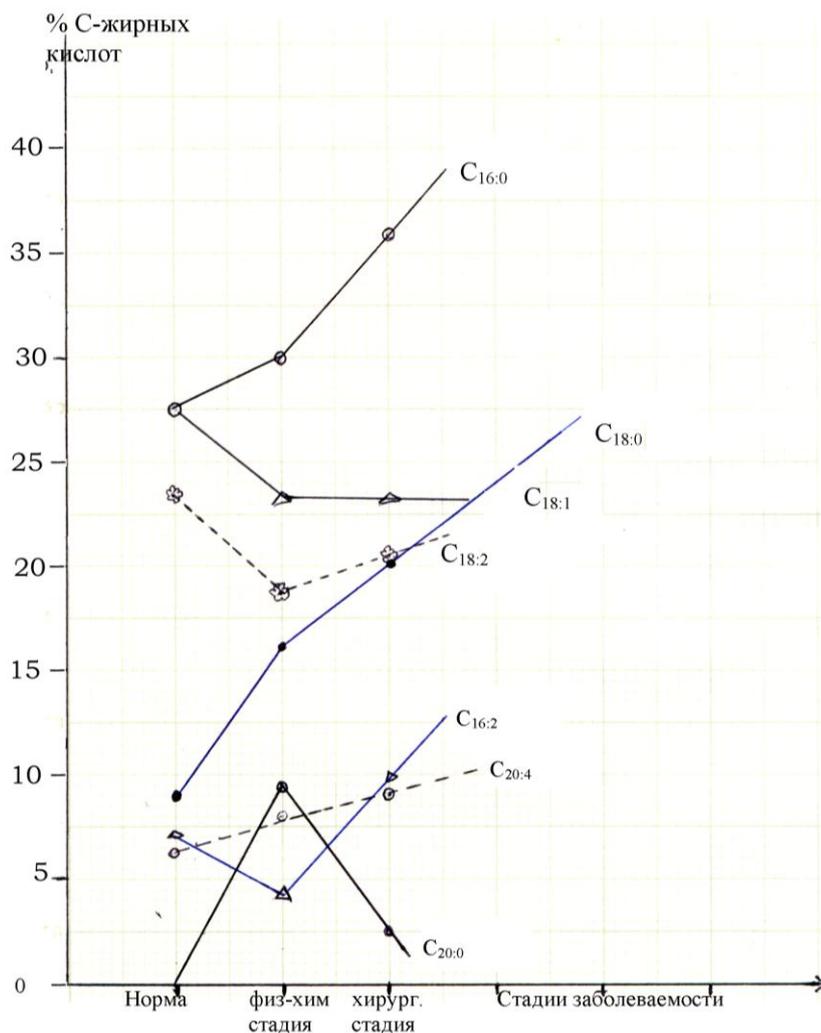


Рис. 1. Зависимость содержания жирных кислот от стадии заболевания при желчнокаменной болезни.

Пики этих жирных кислот появляются на хроматограммах непостоянно, и площади этих пиков трудно поддаются количественной оценке. Полученные данные (табл., рис.1), свидетельствуют о том, что у больных физико-химической стадией ЖКБ, по сравнению с контролем, значительно возросло содержание насыщенных жирных кислот – до 50.32%, в первую очередь за счёт возрастания концентрации пальмитиновой (C_{16:0}) и стеариновой (C_{18:0}) кислот, составившей 47.18%.

При газохроматографическом анализе жирных кислот сыворотки крови при физико-химической стадии ЖКБ идентифицирована арахидоновая (C_{20:0}) кислота – до 9.18%, не зарегистрированная в сыворотке крови практически здоровых лиц.

Содержание мононенасыщенных жирных кислот в сыворотке крови больных физико-химической стадией желчнокаменной болезни оказалось умеренно сниженным по сравнению с контролем и составило $27.74 \pm 1.02\%$ от общей суммы жирных кислот, среди которых преобладало содержание олеиновой ($C_{18:1}$) и пальмитоолеиновой ($C_{16:1}$) кислот – 27.74% . Однако отмечено заметное снижение концентрации полиненасыщенных жирных кислот – до $24.11 \pm 0.85\%$ за счёт уменьшения содержания линолевой ($C_{18:2}$) и арахидоновой ($C_{20:4}$) жирных кислот.

Известно, что уровень литогенности желчи у больных коррелирует с интенсивностью ПОЛ (процесс окисления липидов). Как известно, интенсификация ПОЛ приводит к уменьшению содержания полиненасыщенных жирных кислот, деградации фосфолипидов, снижению активности мембраносвязанных ферментов, повышению проницаемости мембран. Поэтому снижение содержания полиненасыщенных жирных кислот при одновременном возрастании содержания насыщенных может способствовать увеличению литогенного потенциала желчи, а также процессам агрегации везикул и росту кристаллов холестерина.

Состав сывороточных жирных кислот у больных физико-химической и хирургической стадиями заболевания (табл., рис.1) оказался сходным.

Хирургическая стадия желчнокаменной болезни отличалась от физико-химической более высокой концентрацией пальмитиновой ($C_{16:0}$) и стеариновой ($C_{18:0}$) кислот, составивших 56.2% от общей суммы насыщенных, жирных кислот, составляющих $64.74 \pm 1.54\%$; снижением содержания арахидоновой кислоты ($C_{20:2}$), жирных кислот – до $2.48 \pm 0.06\%$ и незначительным возрастанием содержания полиненасыщенных жирных кислот – до $25.96 \pm 0.21\%$. Линоленовая ($C_{18:3}$) кислота в сыворотке крови на физико-химических и хирургических стадиях желчнокаменной болезни не была обнаружена.

Все проведенные экспериментальные работы по газохроматографическим исследованиям говорят о несомненном преобладании нарушений в содержании жирных кислот в сыворотке крови больных физико-химической стадией заболевания. Изменение количества отдельных жирных кислот у больных хирургической стадией желчнокаменной болезни, вероятно, связано с процессом формирования желчных конкрементов и с дальнейшим накоплением их в камнях.

Как мы отметили, на рис.1 приведены результаты данных, полученных при газохроматографическом исследовании состава жирных кислот в сыворотке крови, и на основании этих результатов построен график зависимости содержания жирных кислот от различных стадий заболевания при желчнокаменной болезни.

Вызывает интерес то, что в сыворотке крови практически здоровых лиц только шесть жирных кислот составляют в сумме 90% от общего содержания жирных кислот. Из них в максимальной концентрации представлена олеиновая ($C_{18:1}$) кислота, составляющая

25.41±1.00%. Эта жирная кислота активно участвует в процессах метаболизма интактной и патологически изменённой клетки, тем более что, по данным литературы, она является одной из основных её компонентов

На рис. 2 приведена хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот в сыворотке крови у здоровых людей.

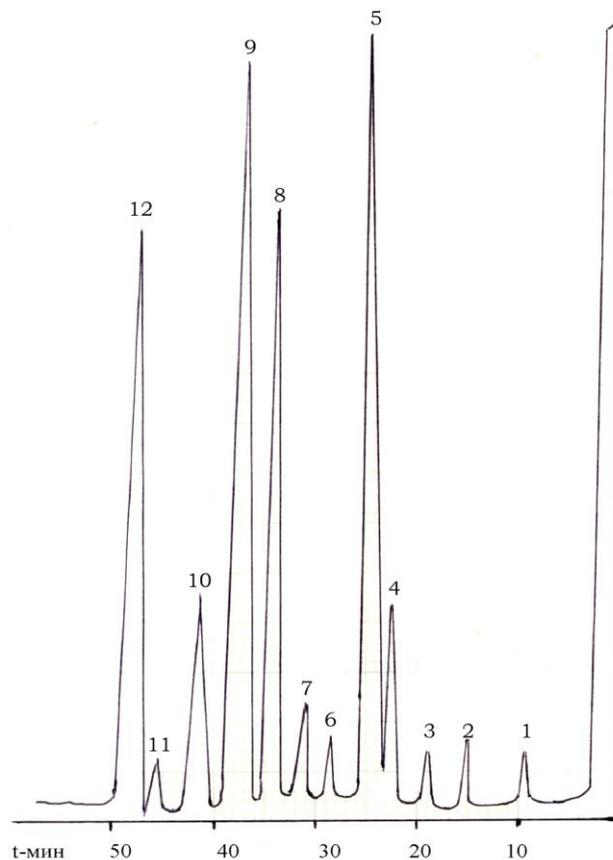


Рис. 2. Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот в сыворотке крови у здоровых людей:

1. C_{10:0}, 2. C_{14:0}, 3. C_{15:0}, 4. C_{16:1}, 5. C_{16:0}, 6. C_{17:1}, 7. C_{17:0}, 8. C_{18:0}, 9. C_{18:1}, 10. C_{18:2}, 11. C_{18:3}, 12. C_{20:4}.

Таким образом, на основе выявленной нами закономерности построен график зависимости содержания жирных кислот от различных стадий заболевания желчнокаменной болезнью. В хроматограммах жирных кислот сыворотки крови больных желчнокаменной болезнью доминирующими являются пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и арахидоновая, концентрация которых значительно возрастает до начала камнеобразования желчных конкрементов. Содержание линолевой и арахидоновой кислот, напротив, снижается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берчфильд Г., Сторре Э. – Газовая хроматография в биохимии. М.,1964, с.73-76.
2. Муродова М.М. Синтез и свойства некоторых производных холановых кислот. Дисс...канд. хим. наук. Душанбе, 2007, с.22-30.
3. Мансурова И.Д., Султанова У.К. – Лаб. дело, 1985, №9, с. 524-527.

А.Х.Қодиров, Ф.Х.Мансурова, М.Б.Тошев, М.Р.Суриев

**МУАЙЯН КАРДАНИ МИҚДОРИ ТУРШОБАҲОИ ОЛИИ КАРБОНӢ ДАР
ТАРКИБИ ЗАРДОБИ ХУНИ ОДАМОНИ СИҲАТ ВА БЕМОРОНИ
ГИРИФТОРИ САНГИ ТАЛХАДОН ДАР ДАВРАҲОИ ГУНОГУНИ
ЛИТОГЕНЕЗ**

Дар мақола миқдори туршобаҳои олии карбон дар таркиби зардоби хуни одамони сиҳат ва беморони гирифтори санги талхадон дар давраҳои гуногуни литогенез бо усули хроматографияи газӣ муайян ва муқоиса карда шудааст.

A.H.Kadyrov, F.H.Mansurova, M.V.Toshev, M.R.Suriev

**DETERMINATION OF CONTENTS OF HIGH ACIDS IN BLOOD SERUM
OF HEALTHY PEOPLE AND PATIENTS WITH ON DIFFERENT STAGES
OF LITHO GENESIS**

In this article by gas chromatography method was determined and compared the quantity of high fatty acids in the blood serum of healthy people and the patients with cholelithiasis in different stages of lithogenesis.