

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ ОБЩИХ ЛИПИДОВ КРОВИ, ЖЕЛЧИ И СЛЮНЫ У ВЫСШИХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Шукшина С.С.¹, Ширяева О.Ю.¹

¹ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный педагогический университет», Оренбург, Россия, e-mail: aelriel@yandex.ru

С помощью метода газовой хроматографии проведен анализ спектра жирных кислот общих липидов крови, слюны и пузырной желчи человека и коров. Определены 23 жирные кислоты, в том числе 7 насыщенных, 5 моноеновых и 11 полиеновых. Доминирующими среди жирных кислот общих липидов крови и желчи являются 5 из них - C16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:4, в слюне к 5 названным добавляется еще одна кислота – C20:5 – эйкозапентаеновая кислота. Относительное равенство состава жирных кислот общих липидов крови коров и человека отмечено для 7 кислот, желчи – для 6 кислот. В слюне у коров и человека определяются иные, специфические для нее, в отличие от крови и желчи, показатели спектра жирных кислот. Так, отмечаются равные уровни для большинства – 17 из 23 – кислот. Различия относятся к C14:0, 18:3, 20:3, 20:5, количество которых у человека выше, и к C17:0 и 18:1, уровни которых ниже по сравнению с данными в слюне коров. Выявлена высокая концентрация C20:5 кислоты в липидах слюны человека и коров. Показатель соотношения между полиеновыми C20:4 и C20:5 кислотами может служить критерием оценки состояния липидного обмена и вероятной диагностики различных заболеваний у коров.

Ключевые слова: жирные кислоты, эйкозапентаеновая кислота, слюна.

COMPARATIVE ANALYSIS OF FATTY ACID COMPOSITION IN LIPIDS OF HUMAN AND COWS BLOOD, BILE AND SALIVA

Shukshina S.S.¹, Shiryaeva O.Y.¹

¹Orenburg State Pedagogical University, Orenburg, Russia, e-mail: aelriel@yandex.ru

We used gas chromatography for analysis of the spectrum of fatty acids of lipids in human and cows blood, saliva and gallbladder bile. There were identified 23 fatty acids, including 7 of saturated, 5 monoenoic and 11 polyene. The acids C16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:4 are prevailed among the acid composition of a peripheric blood and bile, the acids C16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:4, C20:5 are prevailed among the acid composition of saliva and bile. The relative equality of the fatty acid composition of the human and cows blood marked for 7 acid, bile - 6 acids. The spectrum of fatty acids in humans and cows saliva has specific features. There are equal levels for most of acids - 17 of 23 - acids. The differences relate to C14:0, 18:3, 20:3, 20:5 and C17:0 and 18:1 acids. High concentrations of C20:5 acids are identified in the lipids of human and cows saliva. The ratio between the unsaturated C20:4 and C20:5 acids can serve as a criterion for the assessment of lipid metabolism and probable diagnosis of various diseases in cows.

Keywords: fatty acids, eicosapentaenoic acid, saliva.

В связи с тем что в настоящее время исследованию жира и отдельных жирных кислот уделяется большое внимание, а также с развитием газовой хроматографии значительно интенсифицировались работы по изучению жирнокислотного состава липидов различных органов и тканей у высших животных и человека [4; 6; 7]. Роль жирных кислот достаточно хорошо изучена [2; 5]. Жирные кислоты обеспечивают транспорт и обмен одних из главных структурных компонентов клеточных мембран – фосфолипидов, участвуют в энергетическом обеспечении клеток, являются промежуточными продуктами в обмене аминокислот и углеводов, а также субстратами при синтезе клеточных медиаторов – простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов [3; 7].

Цель исследования - провести исследование жирнокислотного состава общих липидов (ЖКОЛ) крови, слюны и желчи коров и дать сравнительную оценку с соответствующими показателями у человека.

Материалы и методы

Объектами исследования явились коровы черно-пестрой породы. Слюну от крупного рогатого скота собирали из ротовой полости с помощью шприца в количестве 20 мл в течение 10 мин. К 20 мл собранной жидкости добавляли 3-кратный объем хлороформ-метанольной смеси (2:1, по объему). Затем встряхивали в течение 5 мин в делительной воронке объемом 200 мл. После разделения смеси липидный экстракт отделяли. Полученную хлороформ-метанольную вытяжку упаривали под вакуумом до объема 1–2 мл. К полученному объему добавляли 5-кратное количество 5%-ного раствора серной кислоты в метаноле и оставляли в термостате на 2 ч при 37 °С. Из охлажденной смеси (+20 °С) проводили рекстракцию метиловых эфиров жирных кислот 3-кратным объемом гексана. Операцию повторяли трижды. Объединенные объемы гексана упаривали под вакуумом до 0,1 мл. Анализ жирных кислот в составе общих липидов слюны коров проводили методом газовой хроматографии [1]. Общие липиды крови и желчи (отобранной после убоя животных на мясокомбинате) выделяли хлороформ-метанольной смесью (2:1 по объему) из расчета 1 мл и 15 мл смеси, путем 3-разового (по 0,5) этапного экстрагирования. Подготовку проб для хроматографического анализа проводили аналогично как для слюны. Для разделения кислот применяли газовый хроматограф серии «Цвет-110» с ионизационно-пламенным детектором в стеклянных колонках размером 200×0,35 см, заполненных хроматоном N-AW-DMCS (0,125 – 0,160 мм) + 4.5% полидиэтиленгликольсукцината при следующих стандартных условиях анализа: температура испарителя 200 °С, термостата колонок 185 °С. Кроме того, применяли режим программирования температуры от 75 до 185 °С с интервалом 6 °С/мин. Поток газа носителя (азот особой чистоты) не превышал 30 мл/мин. Для построения калибровочных графиков анализировали характеристики каждой из кислот. Концентрацию кислот в смеси (%) определяли методом внутренней нормировки. Учет результатов: площади пиков на хроматограммах определяли с помощью измерительной лупы, умножая высоту пика на его ширину, измеренную в точке ½ высоты. Затем определяли долю каждого пика от общей площади всех пиков (в %), т.е. определяли содержание каждой кислоты (в %) от общего количества кислот.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

В крови, слюне и пузырной желчи коров, аналогично как в данных объектах человека, на хроматограммах определяются 23 жирные кислоты, в том числе 7 насыщенных, 5 моное-

новых и 11 полиеновых. Доминирующими среди кислот крови и желчи являются 5 из них, составляющие в сумме более 80% (C16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 20:4), тогда как в слюне к 5 названным добавляется еще одна кислота – C20:5 – 5,8,11,14,17 – эйкозапентаеновая кислота (ЭПК).

Различия состава ЖКОЛ крови коров от такового у человека относится к 5 насыщенным (C14:0, 15:0, 18:0, 20:0, 22:0), одной моноеновой (C20:1) и 5 полиеновым (C18:2, 20:2, 20:5, 22:2) кислотам, уровни которых выше в спектре у человека, а также к 1 насыщенной (C16:0), 1 моноеновой (C16:1) и 3 полиеновым (18:3, 22:4, 22:6) кислотам, уровни которых выше у коров. Относительное равенство отмечено для 7 кислот: C17:0, 17:1, 18:1, 20:3, 20:4, 22:1, 22:3 (табл. 1). Сходные с кровью результаты отмечаются для показателей ЖКОЛ желчи коров и человека. Исключение составили уровни для C16:1, 17:0, 17:1, 18:1, 20:4, 20:5 кислот, т.е. 6 из 23 определяемых в равных количествах в данных сравниваемых группах кислот.

Таблица 1 - Жирнокислотный состав (в %) общих липидов биологических жидкостей у коров и человека (M±m)

Жирные кислоты	Желчь		Кровь		Слюна	
	Коровы (n=16)	Человек (n=20)	Коровы (n=16)	Человек (n=23)	Коровы (n=7)	Человек (n=23)
14:0	0.20±0.02	0.50±0.05*	0.16±0.03	0.25±0.08*	0.90±0.20	1.53±0.27*
15:0	0.05±0.01	0.20±0.01*	0.04±0.01	0.07±0.02*	0.40±0.10	0.56±0.17
16:0	40.70±3.16	26.80±1.15*	36.50±1.19	21.70±0.87*	28.20±3.10	29.72±1.98
16:1	4.20±0.52	3.90±0.31	5.11±0.43	2.30±0.21*	4.30±0.60	4.75±0.65
17:0	0.70±0.12	0.70±0.05	0.83±0.13	0.80±0.10	2.90±0.50	1.70±0.29
17:1	0.40±0.11	0.30±0.01	0.32±0.06	0.20±0.02	01.0±0.02	0.35±0.06
18:0	6.70±0.73	7.10±0.43	5.13±0.36	12.50±0.65*	20.30±2.50	20.81±2.01
18:1	18.90±2.16	20.70±1.21	18.90±1.32	22.00±1.16	32.60±4.30	18.71±1.76*
18:2	15.40±1.73	29.60±1.53*	19.40±1.74	26.80±1.24*	7.20±1.80	7.13±1.81
18:3	1.10±0.13	0.70±0.06*	1.02±0.12	0.60±0.06*	0.80±0.20	2.17±0.66*
20:0	0.01±0.01	0.10±0.01*	0.01±0.01	0.10±0.01*	0.80±0.20	0.90±0.01
20:1	0.20±0.03	0.40±0.01*	0.12±0.02	0.40±0.02*	0.90±0.20	0.70±0.01
20:2	0.10±0.02	0.30±0.01*	0.10±0.06	0.25±0.07*	0.60±0.10	1.00±0.21
20:3	1.40±0.12	1.20±0.13	0.78±0.12	1.00±0.11	0.70±0.10	1.96±0.46*
20:4	6.20±0.43	4.60±0.33	5.73±0.42	6.70±0.41	1.80±0.40	1.84±0.12
20:5	0.10±0.01	0.10±0.01	0.10±0.02	0.30±0.02*	2.80±0.60	6.90±1.51*
22:0	0.20±0.03	0.30±0.01*	0.20±0.02	0.40±0.01*	0.10±0.01	0.07±0.02

22:1	0.10±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01	0.10±0.02	0.05±0.01
22:2	0.40±0.05	0.70±0.02*	0.53±0.05	0.80±0.02*	0.30±0.04	0.16±0.04
22:3	0.10±0.02	0.10±0.01	0.10±0.02	0.10±0.01	0.10±0.02	0.10±0.01
22:4	0.40±0.20	0.20±0.01*	0.85±0.12	0.20±0.01*	0.30±0.04	0.20±0.01
22:5	0.40±0.10	0.70±0.03*	0.48±0.10	1.50±0.21*	0.30±0.04	0.25±0.10
22:6	2.00±0.37	0.70±0.06*	3.32±0.56	0.90±0.07*	0.40±0.04	0.30±0.10

* $p < 0.05$ – различие в группах.

В слюне у коров и человека определяются иные, специфические для нее, в отличие от крови и желчи, показатели ЖКОЛ. Так, отмечаются равные уровни для большинства – 17 из 23 – кислот. Различия относятся к С14:0, 18:3, 20:3, 20:5, количество которых у человека выше, и к С17:0и 18:1, уровни которых ниже по сравнению с данными в слюне коров.

Исходя из вышеизложенных результатов состава ЖКОЛ слюны наиболее важным и перспективным в отношении возможного выбора критерия оценки состояния липидного обмена и вероятной диагностики различных заболеваний у коров может служить показатель соотношения между полиеновыми С20:4 и С20:5 кислотами. Данное предположение связано с выявлением высокой концентрации С20:5 кислоты в липидах слюны в отличие от ее минимальных уровней в липидах крови и желчи как у человека, так и у коров.

Проведенный анализ жирных кислот в составе общих липидов крови, желчи и слюны у коров по сравнению с аналогичными объектами исследования у человека свидетельствует о том, что в крови и желчи сравниваемых субъектов имеются как однотипные, так и значительно различающиеся между собой показатели индивидуальных кислот. Естественно, что качественный состав всех трех объектов исследования оказался однотипен и нет эксклюзивных кислот, характерных для животных, относящихся к не млекопитающим. Преобладающими в объемном отношении определяются 5 кислот, являющихся основными, так называемыми центральными в обменных процессах липидов в целом (к данным кислотам стремится биосинтез большинства остальных кислот). Указанными однотипными данными сравнение ЖКОЛ по крови и желчи ограничивается. У коров, в отличие от человека, количественные показатели 19 из 23 кислот значительно различаются. Этот факт подтверждает различие метаболизма липидов у жвачных животных по сравнению с человеком, имеющих специфику в морфологических структурах желудочно-кишечного и гепатобилиарного трактов. В то же время как у коров, так и у человека нами определены равные уровни 17 из 23 жирных кислот в составе общих липидов слюны, т.е. в жидкости, секрете слюнных желез, которая является первой многокомпонентной средой, вступающей в контакт с пищей. При этом, как известно, жвачные животные удерживают пищу (жвачку) в этой среде значительно более длительное время по сравнению с человеком. Своеобразие переваривания пищи у коров, как известно,

связано с задержанием корма в рубце на длительное время, куда непрерывно поступает слюна из ротовой полости. Можно предположить, что данная до настоящего времени мало изученная биологическая среда эволюционно сформировалась по своему составу у млекопитающих в определенной степени однотипно. Возможно, этим обуславливаются равные условия первого этапа сложного физиологического процесса пищеварения.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о возможности проведения контроля за уровнем С20:5 кислоты методом газожидкостной хроматографии в качестве дополнительного диагностического критерия оценки процесса развития эндометрита. В то же время наши исследования требуют, очевидно, дальнейших фундаментальных исследований важного, на наш взгляд, объекта слюны – 5,8,11,14,17 – эйкозапентаеновой кислоты.

Список литературы

1. Богдарин Ю.А. Особенности состава липидов энтерогепатической системы и пути его коррекции при холелитиазе : дис. ... докт. биол. наук. - Горький, 1990. – С. 52–54.
2. Богдарин Ю.А. Сравнительная характеристика основных липидов и жирных кислот лосиного и коровьего молока // Вопр. питания. – 1998. - № 1. – С. 54–57.
3. Левачев М.М. Новые представления о физиологической роли полиненасыщенных жирных кислот // Обзорная информация. Сер.: Терапия. – М., 1988. – Вып. 4. – 83 с.
4. Маль Г.С., Кувшинова Ю.А. Роль полиненасыщенных жирных кислот в коррекции гиперлипидемии у больных ИБС // Международный журнал экспериментального образования. – 2014. - № 8. – С. 79–80.
5. Никитин Д.Н., Косухин А.Б. Регуляция спектра жирных кислот ферментами липидного метаболизма биологических жидкостей // Актуальные вопросы развития науки. – 1985. – С. 18–25.
6. Пинтаева Е.Ц. Особенности жирнокислотного состава липидов байкальской нерпы и свойства поверхностно-активных соединений, синтезированных на их основе : автореф. дис. ... канд. хим. наук. – М., 2009. – 18 с.
7. Fielding C.J. Lipid transfer proteins, transmembrane carriers and signaling intermediates for intracellular and extra cellular lipid reactions // Curr. Opin. Lipidol. – 1999. – Vol. 4. – P. 218–222.
8. Oelz O. Die Klinische Bedeutung der Prostaglandine und anderer Arachidonsauremetaboliten. Prostaziklin (PGI₂), Tromboxan (A₂), Leukotriene // Ther. Umsch. – 1992. – Vol. 39, № 10. – P. 751–758.

Рецензенты:

Бабичева И.А., д.б.н., профессор кафедры химии, ФГБОУ ВПО «Оренбургский ГАУ», г. Оренбург;

Герасименко В.В., д.б.н., профессор отделения химической технологии переработки нефти и газа и экологии, Филиал ФГБОУ ВПО «Российский государственный университет нефти и газа имени И.М. Губкина», г. Оренбург.