

УДК 612.123-057.5

ГИГИЕНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА КРОВИ У РАБОТНИКОВ ТРАНСПОРТА: МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Копя М.Р., Третьякова Е.В.

Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса

Впервые поступила в редакцию 11.05.2007 г. Рекомендована к печати на заседании ученого совета НИИ медицины транспорта (протокол № 3 от 29.05.2007 г.).

Профессиональная деятельность работников транспорта зачастую характеризуется экстремальными условиями и неблагоприятной экологической обстановкой. Исследования специалистов по гигиене труда свидетельствуют о том, что условия производственной среды и быта на транспорте протекают при комплексном воздействии неблагоприятных факторов различной природы и интенсивности. Эти факторы можно условно разделить на две группы [1].

В первую группу следует включить:

- неблагоприятные природные факторы, определяющие психоэмоциональную напряженность у членов экипажей или транспортных бригад, которые обязаны поддерживать постоянную готовность к борьбе за живучесть судна, самолета, поезда, автомобиля, самих себя, пассажиров и грузов;
- специфические воздействия, влияющие на состояние здоровья людей (быстрая смена климатогеографических зон, часовых поясов, вахтовый режим труда и отдыха, которые изменяют природные биоритмы организма и т.п.).

Ко второй группе относятся:

- гигиенически нормируемые параметры шума, вибрации, тепловых, инфракрасных, радиационных, электромагнитных излучений, уровни искусственной освещенности, микроклимата и др., оказывающие существенное влияние на организм;

- химические факторы, формирующиеся при перевозке и переработке опасных химических грузов, а также грузов, даже пищевых, но обрабатываемых различными фумигантами, или обладающие аллергенными свойствами, полимерные и синтетические материалы строительного и отделочного назначения на транспортном объекте.

Именно эти особенности определяют специфику динамики формирования хронической патологии у работников транспорта.

Таким образом исследование биохимических процессов и регуляторных механизмов организма при различных функциональных состояниях, а также при патологических изменениях, возникающих вследствие воздействия экстремальных факторов, приобретает важное гигиеническое значение [2].

Актуальность темы

Биологическая роль липидов очень разнообразна. В настоящее время на первый план выдвигаются их структурно-функциональные способности. Молекулы сложных липидов обладают своеобразными физико-химическими свойствами, которые делают их универсальным материалом для образования различных клеточных и субклеточных мембран, проницаемость которых зависит от структуры и ориентации липидов.

Изменения липидного обмена при различных экстремальных воздействиях отражают неспецифическую реакцию

организма на повреждение. Мобилизация липидов и переключение метаболизма с углеводного типа на липидный является довольно частой формой ответа на изменения внешней среды организма. По мере нарастания негативных воздействий на организм увеличивается скорость биотрансформации, усиливается генерация активных форм кислорода. При этом ускорение процесса выше определенного предела приводит к срыву регуляторных механизмов [3].

Важнейшими компонентами липидов, определяющими их свойства и функциональные особенности, являются жирные кислоты. В липидах различных тканей обнаруживаются жирные кислоты с длиной цепи от 12 до 24 углеродных атомов, содержащие четное и нечетное количество атомов углерода, с нормальной и разветвленной цепью, насыщенные и ненасыщенные с разным количеством двойных связей. Жирные кислоты принимают участие в интеграции биологических мембран, обуславливая их структурные и функциональные особенности. Углеводородные цепи жирных кислот участвуют в молекулярной организации биомембран, взаимодействуя с другими липидами (например, с холестерином) и с гидрофобными областями мембранных белков. От жирнокислотного состава липидов зависит и целый ряд других процессов, например, транспортные процессы, гормон-рецепторное взаимодействие, синаптическая передача, некоторые иммунологические реакции и т.д. [2].

Одним из механизмов токсического проявления негативных факторов является увеличение концентрации супероксидных радикалов в клеточных мембранах. В свою очередь эти супероксидные радикалы могут давать различные токсические эффекты, в том числе и усиливать процессы перекисного окисления липидов. Для обеспечения функционально-активного состояния клеток существенное значение имеет соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот [4]. В литературе имеются сведения о лимитиру-

ющем влиянии полиненасыщенных жирных кислот на клеточный метаболизм [5]. Поскольку ЖК и холестерин, являясь структурными элементами биологических мембран, одновременно служат основными субстратами процесса свободнорадикального окисления, то качественные и количественные изменения этих показателей могут свидетельствовать о состоянии процесса перекисного окисления липидов и структурных нарушениях клеточных мембран в целом.

Изменения жирнокислотной формулы липидов сыворотки крови свидетельствует об активации процесса липидной перекисидации и согласуется с литературными данными [6] о том, что процесс перекисного окисления липидов может стать одной из причин возникновения и развития патологического состояния в организме.

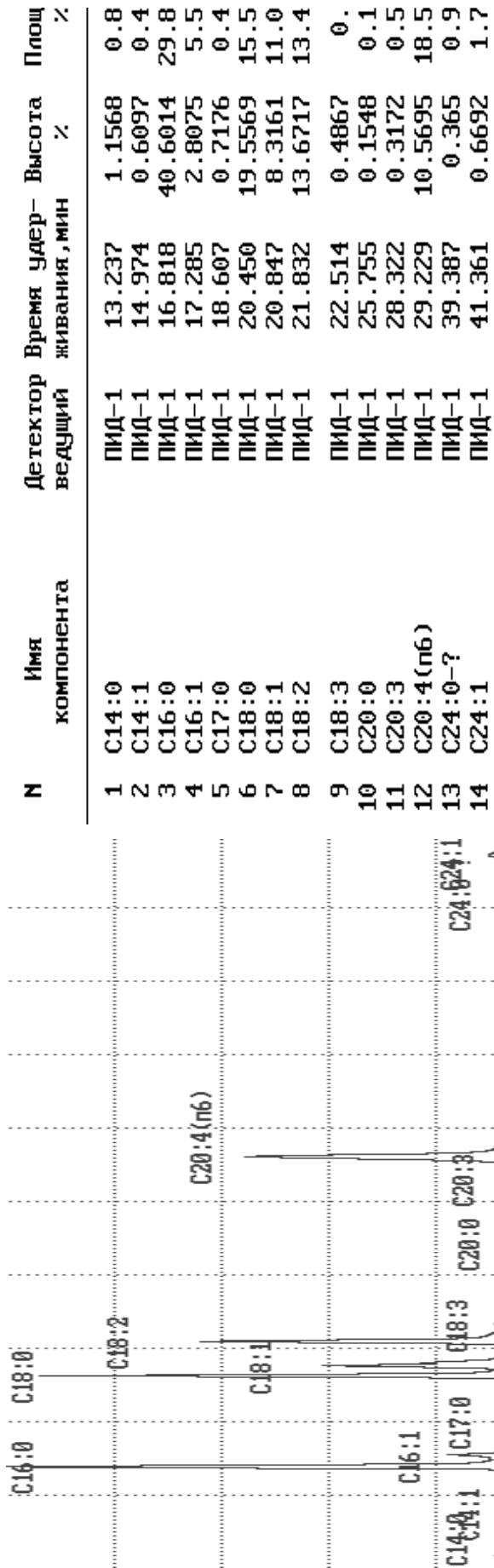
Одним из наиболее распространенных в токсиколого-гигиенических исследованиях биомаркеров свободно-радикального окисления (СРО) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) является малоновый диальдегид, уровень которого определяют в сыворотке крови [7-11]. Малоновый диальдегид принадлежит к вторичным *стабильным* продуктам СРО и, как и другие вторичные карбонильные соединения образуется при деструкции гидропероксидов полиненасыщенных жирных кислот. Однако, метод определения малонового диальдегида в биосубстратах является малоспецифичным, т.к. в реакцию с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) с образованием окрашенных продуктов вступают кроме него некоторые другие вещества, в частности альдегиды, то есть фактически определяют суммарно все ТБК-активные продукты [11].

Применение газожидкостной хроматографии в биохимических целях сравнительно долго не получало должной оценки. Считалось, что биологические объекты недостаточно летучи и малоустойчивы к различным физико-химическим воздействиям, применяемым в газохроматографическом анализе. Успехи в раз-

работке методов расщепления липидов, углеводов и белков до более простых компонентов и превращение их в летучие соединения открыли широкую дорогу для применения метода в биохимическом анализе.

В исследовании липидов, в особенности жирных кислот, газовая хроматография - как метод - не имеет альтернативы. Возможность определения индивидуального состава жирных кислот является чрезвычайно мощным инструментом в познании структуры и функций биологических мембран, процессов внутриклеточного метаболизма [12].

Изучение спектра жирных кислот в биологических жидкостях, в частности в сыворотке крови, представляет интерес для экспериментальной токсикологии, имеет большое значение для специалистов санитарно-гигиенического профиля и клиницистов при диагностике таких заболеваний как: вегетососудистая дистония, атеросклероз, сахарный диабет, воспалительные заболевания печени и желчевыводящих путей и т.д.



- С 14:0 – метиловый эфир линолевой кислоты
- С 18:3 – метиловый эфир линоленовой кислоты;
- С 20:0 – метиловый эфир арахидиновой кислоты;
- С 20:3 – метиловый эфир эйкозотриеновой кислоты;
- С 20:4 – метиловый эфир арахидиновой кислоты;
- С 24:0 – метиловый эфир лигноцериновой кислоты;
- С 24:1 – метиловый эфир нервоновой кислоты;

- С 14:0 – метиловый эфир миристиновой кислоты;
- С 14:1 – метиловый эфир меристоолеиновой кислоты;
- С 16:0 – метиловый эфир пальмитиновой кислоты;
- С 16:1 – метиловый эфир пальмитоолеиновой кислоты;
- С 17:0 – метиловый эфир гептадекановой кислоты;
- С 18:0 – метиловый эфир стеариновой кислоты;
- С 18:1 – метиловый эфир олеиновой кислоты;

Рис. 1: Хроматограмма спектра жирных кислот сыворотки крови

Цель исследований

Проведение работ по разработке и усовершенствованию методики определения жирнокислотного состава липидного комплекса сыворотки крови с возможностью дальнейшего ее применения в гигиенических, токсикологических и клинических исследованиях

Методы и результаты исследований

Объектом являлись белые крысы исходной массой 220 ± 20 г. Для исследования отбиралась кровь с последующим центрифугированием и получением 2,0 мл сыворотки крови.

Определение жирнокислотного состава сыворотки крови крыс проводилось согласно методике, разработанной в лаборатории хроматографии Нижегородского медицинского диагностического центра. [13]

Сущность метода заключается в переводе малолетучих жирных кислот в метиловые эфиры этих кислот с последующим газохроматографическим их разделением.

В процессе работы данная методика была нами усовершенствована: сократилось время, необходимое для пробоподготовки при более качественной очистке экстрактов.

Газохроматографический анализ проводился с использованием газового хроматографа «Кристаллюкс – 4000» с пламенно-ионизационным детектором на 30-метровой капиллярной колонке VB-Wax производства фирмы «VICI AG International». Программируемый режим температуры термостата колонок – от 60° до 220° С. Количественное содержание метилатов жирных кислот определялось методом процентной нормализации.

В ходе исследований мы убедились в достоверности и точности разработанного метода. Нами было получено 12 хроматограмм с очевидными как качественными (от 12 до 17 идентифицированных пиков), так и количественными различиями жирнокислотного состава липидного комплекса сыворотки крови у различных особей экспериментальной группы подопытных живот-

ных. С другой стороны, проведенный в нескольких параллелях анализ одной и той же сыворотки показал хорошую сходимость полученных результатов ($P < 0,1$). На рис.1 приведена одна из хроматограмм с расшифровкой идентифицированных пиков,

Выводы:

1. Разработанная методика не требует длительного времени проведения и большого количества биожидкостей, взятых для анализа. Результаты исследований обладают высокой степенью достоверности, необходимым уровнем точности и сходимости, что, на наш взгляд, делает возможным проведение исследований различных групп работников транспортной отрасли.
2. Результаты исследований могут быть достаточно информативными, т.к. соотношение основных жирных кислот липидного комплекса крови является высокочувствительным, достоверным и достаточно универсальным биомаркером функционального состояния организма в процессе трудовой деятельности и отражать эффективность проводимых профилактических мероприятий.

Литература

1. Лисобей В.А., Жижневская А.А. Социально-гигиенические аспекты заболеваемости работников транспорта // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2005. - № 1. С. 46-54
2. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под редакцией проф. Прохоровой М.И. – Л.: Издательство ЛГУ, 1982. – 272 с.
3. Варус В.И., Белов А.А., Брюзгина Т.С. Состояние липидного комплекса крови у военных специалистов, работающих с высокотоксичными компонентами ракетного топлива // Современные проблемы токсикологии. – 1999. - № 1. С. 30-32
4. Бекер И.Б. Нарушения барьерной функции мембран микроорганизмов при обезвоживании регидротацией // Сборник: Биомембраны – Рига, 1981. –

- C.203-209
5. Бурлакова Е.Б., Крамаков С.А., Храпова Н.Г. Роль токоферола в окислении липидов биомембран // Биологические мембраны. – 1998. - № 2. – С.137-167
 6. Русін Є.В., Білий О.В., Мостбауер Г.В. та ін. Вивчення вільнорадикальних механізмів патогенезу імунних порушень // Український молодіжний журнал. – 1997. - №3. – С.22-25
 7. Акиншина Н.Г., Тухтамурадов З.З., Гутникова А.Р., Абидова С.С. Токсичность пиретроидного инсектицида бульдок для теплокровных и детоксикационные возможности сорбента КАУ // Токсикологический вестник. – 2000. - №2. – С.23-26
 8. Коршун М.М. Використання малонового діальдегіду як біомаркера шкідливої дії на організм пріоритетних забруднювачів навколишнього середовища // Укр. наук.-мед. молодіжний журнал. – 2003. - № 1-2. – С. 79-85
 9. Миронова Г.Е. Влияние профессиональной пылевой нагрузки на состояние антиоксидантной системы у горнорабочих алмазодобывающей промышленности // Мед. труда и пром. экол. – 2002. - № 1. – С.18-21
 10. Москвичев Д.В. Кесельман М.Л. Лукаш А.И. Свободнорадикальные механизмы пестицидной интоксикации в тканях белых крыс // Токсикологический вестник. – 2000. - № 2. – С. 6-11
 11. Стежка В.А. Функциональное состояние системы свободнорадикального окисления как патогенетически обоснованный критерий гигиенической оценки воздействия на организм факторов производственной и окружающей среды // Довкілля та здоров'я. – 1999. - № 1. – С.2-9
 12. Гончарук Є.Г., Коршун М.М. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля // Профілактична медицина. – 2004. – т. 10. - № 1. – С.131-150
 13. Зеленин К.Н. Газовая хроматография в медицине // Соросовский образовательный журнал. – 1996. - № 11. – С. 20-25
 14. Методика газохроматографического определения жирных кислот в биологических жидкостях (сыворотка, желчь). Разработчик зав. лабораторией хроматографии НОМДЦ Басалгина Т.А. Н. Новгород, 1999 г.

Резюме

ГІГІЄНИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОЇ СКЛАДОВОЇ ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКСУ КРОВІ У РОБІТНИКІВ ТРАНСПОРТУ. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЖИРНИХ КИСЛОТ

М. Р. Копа, Є. В. Третякова

Обґрунтовано, що зміни жирнокислотної формули ліпідів сироватки крові часто свідчать про активацію процесів ліпідної пероксидації. Виявлена можливість використання співвідношення основних жирних кислот ліпідного комплексу крові в якості чутливого, достовірного та достатньо універсального біомаркери функціонального стану організму у процесі трудової діяльності робітників транспорту. Розроблен метод кількісного визначення жирнокислотного спектру ліпідного комплексу крові, який базується на переводі малолетких жирних кислот у метилові ефіри цих кислот з наступним газохроматографічним їх розподілом.

Summary

HYGIENIC MEANING OF FAT ACIDS OF BLOOD LIPID SPECTRUM IN TRANSPORT BRANCH WORKERS. METHODS OF FAT ACIDS DETERMINATION

M. R. Kopa, YE.V. Tretiakova

It has been stipulated that changes of fat acids formula of blood lipids serum often testify about the activation of the lipid peroxidation processes. The possibility of the ratio of basic fat acids of blood lipid complex as sensitive reliable and versatile biomarker of a body functional state in the labour process on transport. Method of quatitative determination of fat acids spectrum of blood lipid complex, based on transformation of fat acids in methyl esters of these acids and their further separation with gas chromatography.