

## СПЕКТРЫ ЛИПИДОВ И ФОСФОЛИПИДОВ ЗАКЛАДОК ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ В РАЗЛИЧНЫХ ГЕОХИМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

<sup>1</sup>Асадулаева М.Н., <sup>1</sup>Лазько А.Е., <sup>2</sup>Лазько М.В.

<sup>1</sup>БГОУ ВПО «Дагестанская Государственная медицинская академия Минздрава России»,  
Махачкала, e-mail: dgma@iwt.ru;

<sup>2</sup>ФБГОУ ВПО «Астраханский Государственный университет Минобразования России»,  
Астрахань, e-mail: lazkomv@mail.ru

Методом тонкослойной хроматографии изучались спектры липидов и фосфолипидов в закладках бедренных костей человека от 6 до 12 недель пренатального развития в различных геохимических условиях Нижнего Поволжья (г.Астрахань) и Северного Кавказа (г.Махачкала). За исключением фосфолипидов, общее содержание липидов, выявляемых методом тонкослойной хроматографии, по мере созревания хряща и замещения его костной тканью, а также дальнейшей её минерализации, прогрессивно снижается в обоих геохимических регионах. Развертывание процессов оссификации и минерализации в закладках бедренных костей человека сопровождается прогрессирующим снижением содержания фракций свободного холестерина и его эфиров в обеих геохимических зонах. С началом интенсивных процессов оссификации и минерализации (9 -10 недель пренатального развития) в закладках бедренных костей из зоны с повышенной минерализацией окружающей среды впервые начинают определяться фракция фосфатидилсерина и значительно усиливается фракция фосфатидилэтаноламина – мощных индукторов минерализации.

**Ключевые слова:** липиды, фосфолипиды, закладки трубчатых костей человека, геохимические условия, тонкослойная хроматография.

## SPECTRA OF LIPIDS AND PHOSPHOLIPIDS OF LAYING TUBULAR BONES IN DIFFERENT GEOCHEMICAL CONDITIONS

<sup>1</sup>Asadulaeva M.N., <sup>1</sup>Lazko A.E., <sup>2</sup>Lazko M.V.

<sup>1</sup>Dagestan state medical academy, Makhachkala, e-mail: dgma@iwt.ru;

<sup>2</sup>Astrakhan state university. Astrakhan, e-mail: lazkomv@mail.ru

By thin-layer chromatography were examined the spectra of lipids and phospholipids in human laying femur from 6 up to 12 weeks prenatal development in different geochemical conditions of the lower Volga region (Astrakhan) and the Northern Caucasus (Makhachkala). With the exception of total lipids, phospholipids, maturation of cartilage and bone tissue of his replacement, as well as continuing its mineralization, progressively decreasing in both geochemical regions. Deployment of ossification and mineralization processes in human femur tabs is accompanied by a progressive reduction of fractions of free cholesterol and its esters in both geochemical zones. With the beginning of intensive processes of mineralization and ossification (10 – 9 weeks prenatal development) in laying thighs from the zone with high mineralization of the environment for the first time, is beginning to be fosfatidilserine and the fraction is considerably increasing fraction of phosphatidylethanolamine – powerful inducers of mineralization.

**Keywords:** lipids, phospholipids, laying humans tubular bones, geochemical conditions, thin-layer chromatography.

Процессы остеогенеза и минерализации костной ткани являются весьма сложными и зависящими от многих факторов, как эндогенных, так и экзогенных. В числе последних, как весьма важных, нужно отметить минеральные компоненты окружающей среды, например, металлы [2, 6, 4]. Между тем, несмотря на довольно значительное число исследований, посвященных морфогенезу костей [1, 8], работ, в которых бы учитывалось влияние различных геохимических условий на ранний остеогенез трубчатых костей человека, недостаточно.

На территории России существует множество геохимических областей, резко раз-

личающихся по содержанию минеральных веществ в источниках водопотребления. Например, концентрация таких металлов, как Cr, Co, Cu, Se, Cd и Sb, в водах Дагестана в разы превышает таковое в реках Нижнего Поволжья [3].

В то же время о большом значении липидов в механизме минерализации костной ткани свидетельствует тот факт, что при заболеваниях, отрицательно влияющих на кальцификацию (рахит, цинга), липидное вещество исчезает из зоны отложения минералов. Когда кальцификация восстанавливается с получением организмом витамина D или аскорбиновой кислоты, это вещество вновь начинает выявляться [9].

**Цель исследования:** определение изменений спектров нейтральных липидов и фосфолипидов в закладках бедренных костей человека в процессе раннего остеогенеза в условиях различных геохимических зон Нижнего Поволжья и Северного Кавказа.

**Материал и методы исследования**

Материалом для исследования служили бедренные кости и их закладки 47 зародышей и предплодов женского пола от 6 до 12 недель пренатального развития, полученных в результате искусственного прерывания беременности у практически здоровых женщин, и преждевременных родов, обусловленных экзогенным воздействием, из прозектур, акушерских и гинекологических клиник г. Астрахани и г. Махачкалы в осенне-зимний период. Женщины, от которых был получен материал исследования, имели сходный социальный и бытовой статус.

Спектр липидов и фосфолипидов закладок бедренных костей человека исследовался методом тонкослойной хроматографии, для чего из исследуемого материала были получены липидные экстракты по методу Фольча, изложенному в руководстве А.А. Покровского [5]. Разделение общих липидов и фосфолипидов на фракции проводили на пластинках «Silufol» с слоем силикагеля фирмы «Kavalier» (Чехия). Для проявления общих липидов использовалась система растворителей гексан-эфир-ледяная уксусная кислота, а для выявления спектра фосфолипидов – хлороформ-метанол-вода [7]. Контроль и идентификация фракций производились по параллельным (выполненным на одной и той же пластинке) хроматограммам липидов сывороток крови женщин, имеющих такой же срок беременности, как и женщины, от которых был получен материал.

**Результаты исследования и их обсуждение**

Хроматограммы общих липидов из экстрактов, приготовленных из закладок бедренных костей зародышей и предплодов 6 – 8 недель из сравниваемых геохимических регионов, практически не различаются. Выявляются небольшие количества свободного холестерина, триглицеридов и фосфолипидов, отмечается значительное содержание неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), отсутствие моно- и диглицеридов (Рис. 1).

На хроматограммах фосфолипидов закладок бедренных костей на этой стадии онтогенеза и в г.Астрахани, и в г.Махачкале обращало на себя внимание малое количество и бедность спектра данных веществ. Не выявляются фосфатидилэтаноламин и сфингомиелин. Фосфатидилхолин, хотя и присутствует, но в незначительной концентрации.

Спектр нейтральных липидов закладок бедренных костей предплодов человека 9, 10 недель и в г.Астрахани, и в г.Махачкале, в отличие от предыдущих этапов онтогенеза, имеет как черты сходства, так и заметно различия.

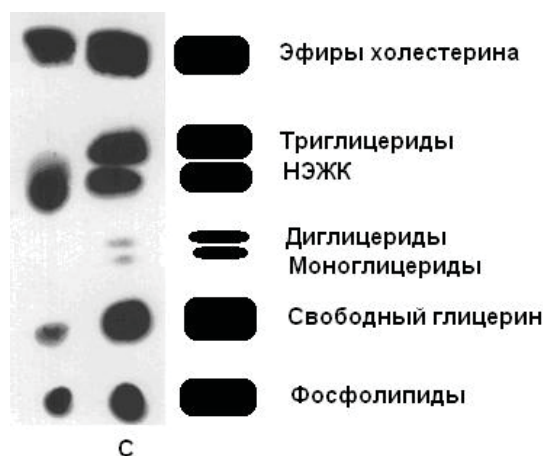


Рис. 1. Хроматограмма липидов закладок бедренных костей зародышей и предплодов человека 6 – 8 недель пренатального развития из г.Астрахани.  
С – хроматограмма сыворотки крови женщины аналогичного срока беременности в качестве контроля

Например, на хроматограммах общих липидов экстрактов закладок бедренных костей предплодов человека данного срока развития (Рис. 2) из обеих изучаемых геохимических зон не выявляются моно- и диглицериды, присутствующие в сыворотке крови женщин с аналогичным сроком беременности, и значимо меньше по отношению к этому контролю и в том и в другом случае обнаруживаемое количество триглицеридов.



Рис. 2. Хроматограммы липидов закладок бедренных костей предплодов человека 9, 10 недель пренатального развития из г.Астрахани (А) и г.Махачкалы (М).  
С – хроматограмма сыворотки крови женщины аналогичного срока беременности в качестве контроля

В то же время, в отличие от предыдущего примера, неэстерифицированных жир-

ных кислот (НЭЖК) в закладках предплюдов данного срока из г.Астрахани содержится несколько больше по сравнению с г.Махачкалой.

Напротив, можно отметить заметно большее количество свободного холестерина и фосфолипидов в закладках бедренных костей из г.Махачкалы, что может свидетельствовать в пользу предположения о несколько большей активности процессов оссификации и минерализации в данном геохимическом регионе.

При сравнительном изучении хроматограмм фосфолипидов закладок бедренных костей предплюдов человека 9, 10 недель пренатального развития как между различными геохимическими регионами (Рис. 3), так и по отношению с предыдущими этапами онтогенеза (6 – 8 недель пренатального развития) обращает на себя внимание появление в закладках из г.Махачкалы заметных количеств фосфатидилсерина – мощного модулятора кальцификации.

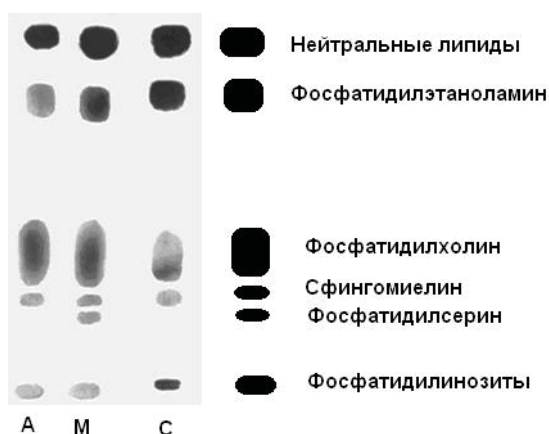


Рис. 3. Хроматограммы фосфолипидов закладок бедренных костей предплюдов человека 9, 10 недель пренатального развития из г.Астрахани (А) и г.Махачкалы (М). С – хроматограмма сыворотки крови женщины аналогичного срока беременности в качестве контроля

В закладках бедренных костей из г.Махачкалы по отношению к г.Астрахани заметно больше такого промодулятора минерализации, как фосфатидилэтаноламин, содержание которого прямопропорционально концентрации в организме витамина D. Весьма вероятно, что данный факт можно объяснить значительным количеством мягкого ультрафиолетового излучения на поверхности земли в Дагестане ввиду большей высоты над уровнем моря и меньшей запыленности атмосферы.

Хроматограммы липидов закладок бедренных костей человека в обеих геохими-

ческих зонах на 11, 12 неделях внутриутробного развития (Рис. 4) демонстрируют уменьшение содержания и обеднение спектра триглицеридов – выявляются только самые «быстрые» фракции, практически сливающиеся с НЭЖК. По-прежнему отсутствуют моно- и диглицериды, а содержание эфиров холестерина, НЭЖК и свободного холестерина снижено и мало различается в закладках из г.Астрахани и г.Махачкалы.

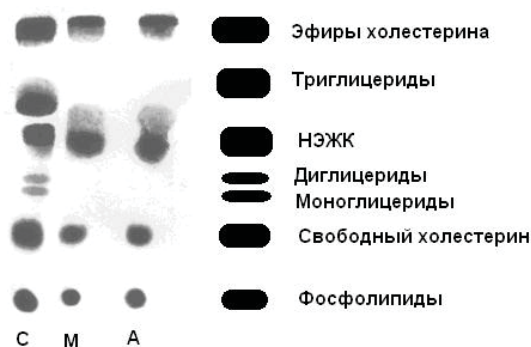


Рис. 4. Хроматограммы липидов закладок бедренных костей предплюдов человека 11, 12 недель пренатального развития из г.Астрахани (А) и г.Махачкалы (М). С – хроматограмма сыворотки крови женщины аналогичного срока беременности в качестве контроля

Таким образом, можно сделать вывод о том, что в отличие от предыдущего изучаемого этапа онтогенеза (9, 10 недель пренатального развития) концентрация и спектры липидов при переходе к более поздним стадиям остеогенеза и минерализации в обеих геохимических зонах выравниваются.

На хроматограммах фосфолипидов закладок бедренных костей предплюдов 11, 12 недель пренатального развития из г.Астрахани только теперь начинает выявляться незначительное количество фосфатидилсерина (Рис. 5).

Общая концентрация фосфолипидов, выражающаяся через интенсивность окраски хроматограмм, заметно выше в закладках бедренных костей из г.Махачкалы. Особенно это показательно для сфингомиелина и фосфатидилсерина – фосфолипидов интенсифицирующих остеогенез и минерализацию кости.

На хроматограммах общих липидов на всех изученных стадиях остеогенеза отсутствуют моно- и диглицериды, присутствующие в контрольных параллельных хроматограммах липидов сыворотки крови женщин, имеющих аналогичный срок беременности.



Рис. 5. Хроматограммы фосфолипидов закладок бедренных костей предплодов человека 11, 12 недель пренатального развития из г.Астрахани (А) и г.Махачкалы (М). С – хроматограмма сыворотки крови женщины аналогичного срока беременности в качестве контроля

За исключением фосфолипидов, общее содержание липидов, выявляемых методом тонкослойной хроматографии, по мере созревания хряща и замещения его костной тканью, а также дальнейшей её минерализации, прогрессивно снижается в обеих геохимических регионах, что хорошо согласуется с данными гистохимических исследований.

Интересен тот факт, что развертывание процессов оссификации и минерализации в закладках бедренных костей человека сопровождается прогрессирующим снижением содержания фракций свободного холестерина и его эфиров в обеих геохимических зонах. Это свидетельствует в пользу того предположения, что данные нейтральные липиды играют важную роль лишь в начальных стадиях процессов минерализации, так как они являются необходимой составной частью биологических мембран везикул матрикса.

Содержание фосфолипидов в закладках бедренных костей человека на рассматриваемом этапе развития (от 6 до 12 недель) с возрастом увеличивается в обеих геохимических зонах. Однако возрастание концентрации отдельных представителей этой группы липидов происходит не одинаково.

С началом интенсивных процессов оссификации и минерализации (9-10 недель пренатального развития) в закладках бедренных костей из региона с повышенной минерализацией окружающей среды впервые начинает определяться фракция фосфатидилсерина и значительно усиливается фракция фосфатидилэтанолламина – мощных индукторов минерализации. Подобный эффект мы связываем с присутствием в окружающей среде Кавказа повышенных

по отношению к остальной территории России количеств микроэлементов, в частности, меди и селена.

### Список литературы

1. Аврунин, А.С. Уровни организации минерального матрикса костной ткани и механизмы, определяющие параметры их формирования / А.С. Аврунин, П.Р. Тихилов, А.Б. Аболин, И.Г. Шербак // Морфология. – 2005. – Т. 127, №2. – С. 78 – 82.
2. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
3. Бутаев А.М. Тяжелые металлы в речных водах Дагестана / А.М. Бутаев, М.А. Гуруев, У.Г. Магомедбеков, Н.Ф. Осипова, Х.М. Магомедрасулова, А.Д. Магомедова, А.А. Мухучев // Вестник дагестанского научного центра. – 2006. – № 26. – С. 43-50.
4. Ермаков В.В. Современные проблемы биогеохимии / В.В. Ермаков // Материалы 6-й Международной биогеохимической конференции по биогеохимии. – Астрахань: АГТУ, 2008. – С. 6-7.
5. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике – М.: Медицина, 1969. – С.286-287.
6. Сусликов В.Л. Геохимическая экология болезней. Атомовиты. – М.: Гелиос АРВ, 2000. – 672 с.
7. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. – М.: Мир, 1965. – 340 с.
8. Archer C., Dowthwaite G., Francis-West P. Development of synovial joints // Birth Defects Res. – 2003. –Vol. 69. – P. 144-155.
9. Weiner S., Troub W., Wagner H.D. Lamellar bone: structure-function relations // J.Struct.Biol. – 1999. – № 126. – P. 241-255.

### References

1. Avrunin A.S., Tihilov P.R., Abolin A.B., Shherbak I.G. Urovni organizacii mineral'nogo matriksa kostnoj tkani i mehanizmy, opredelajushhie parametry ih formirovaniya, Morfologija, 2005, T. 127, №2, S. 78 – 82.
2. Avcyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strohckova L.S. Mikrojelementozy cheloveka: jetiologija, klassifikacija, organopatologija, M.: Medicina, 1991, 496 s.
3. Butaev A.M., Guruev M.A., Magomedbekov U.G., Osipova N.F., Magomedrasulova H.M., Magomedova A.D., Muhuchev A.A. Tjazhelye metally v rechnyh vodah Dagestana, Vestnik dagestanskogo nauchnogo centra, 2006, № 26, S. 43-50.
4. Ermakov V.V. Sovremennye problemy biogeohimii, Materialy 6-j Mezhdunarodnoj biogeohimicheskoj konferencii po biogeohimii, Astrahan', AGTU, 2008, S. 6-7.
5. Pokrovskij A.A. Biohimicheskie metody issledovaniya v klinike, M.: Medicina, 1969, s.286-287.
6. Suslikov V.L. Geohimicheskaja jekologija boleznej. Atomovity, M.: Gelios ARV, 2000, 672 s.
7. Shtal' Je. Hromatografija v tonkih slojah, M.: Mir, 1965, 340 s.
8. Archer C., Dowthwaite G., Francis-West P. Development of synovial joints, Birth Defects Res, 2003, Vol. 69, P. 144-155.
9. Weiner S., Troub W., Wagner H.D. Lamellar bone: structure-function relations, J.Struct.Biol., 1999, № 126, P. 241-255.

### Рецензенты:

Сентюрова Л.Г., д.м.н, профессор, зав. кафедрой медицинской биологии Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань;

Наумова Л.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии и эмбриологии Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 30.06.2014.