

Нехаева Я. И., Давыдова О. В.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИСТЕАМИНА В ПЕЧЕНИ КРЫС С ПОМОЩЬЮ ВЭЖХ

Научный руководитель канд. биол. наук, доц. Дорошенко Е. М.

НИЛ, кафедра биологической химии

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно

Актуальность. Цистеамин – продукт декарбоксилирования L-цистеина – обладает радио- и гепатопротекторными свойствами и используется в качестве лекарственного препарата. Тем не менее, эндогенные концентрации цистеамина определялись лишь в единичных исследованиях в связи с наличием серьёзных методических трудностей: наличием в печени достаточно богатого пула соединений, содержащих сульфгидрильную группу. В то же время информация о содержании эндогенного цистеамина может внести существенный вклад в выяснение механизмов метаболических нарушений, влияющих на формирование пула свободных серусодержащих соединений, включая конечный продукт их превращений – таурин, предшественником которого является цистеамин.

Цель: разработать модификацию метода определения свободных серусодержащих соединений в ткани печени, позволяющую производить количественное определение цистеамина при его эндогенных уровнях.

Материал и методы. При отработке метода использовали гомогенаты печени крыс на 0,15M KCl, прибор для ВЭЖХ Agilent 1200 с 4-канальной системой подачи растворителя и флуоресцентным детектором. В качестве основного метода пробоподготовки применяли восстановление дисульфидов трис-(карбоксиэтил)-фосфином (ТСЕР) с последующим осаждением белков и дериватизацией тиолов 7-фторо-4-сульфобензофуразаном (SBD-F). Разделение отработывали с использованием градиентного элюирования. В качестве внутреннего стандарта использовали N-ацетилцистеин.

Результаты. Нами получено удовлетворительное разрешение (разделение пиков до базовой линии) для пика цистеамина при использовании Na-фосфатного буфера с низкими величинами pH. Увеличение pH приводит к интерференции пика цистеамина с пиком неидентифицированного соединения, отсутствующим в пробах плазмы крови. Использование градиентного элюирования необходимо для возможности одновременного определения общего глутатиона, а также внутреннего стандарта. Профиль градиента был нами оптимизирован для наилучшего разрешения пика внутреннего стандарта. Измеренные нами значения (n=8) концентрации цистеамина составили 10.97 (9.46–16.36) нмоль/г ткани.

Заключение. Отработан метод определения низкомолекулярных серусодержащих соединений в ткани печени крыс, позволяющий корректно измерять уровни эндогенного цистеамина одновременно с цистеином и глутатионом, отличающийся высокой селективностью. Метод позволяет исследовать формирование пула таурина при различных метаболических состояниях, при этом составляя более полную картину соотношения путей превращений серусодержащих аминокислот (окисление/декарбоксилирование).