

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема № FGMP-2025-0014).

ЛИТЕРАТУРА

1. Composition of Plasmalogens in Serum Lipoproteins from Patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis and Their Susceptibility to Oxidation / A. Ikuta, T. Sakurai, M. Nishimukai [et al.] // Clinica Chimica Acta. – 2019. – Vol. 493. – P. 1–7.
2. Green-Inspired Method to Prepare Non-Split High-Density Lipoprotein (HDL) Carrier with Anti-Dysfunctional Activities Superior to Reconstituted HDL / Y. Wang, X. Huang, D. Yang [et al.] // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2023. – Vol. 182. – P. 115–127.
3. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / National Research Council, Institute for Laboratory Animal Research, National Academies Press. – 8th ed. – Washington, 2011. – 246 p.
4. Isolating and Quantifying Plasma HDL Proteins by Sequential Density Gradient Ultracentrifugation and Targeted Proteomics. In Quantitative Proteomics by Mass Spectrometry / C. Henderson, T. Vaisar, A. Hoofnagle, S. Sechi // Methods in Molecular Biology. – 2016. – Vol. 1410. – P. 105–120.
5. Lack of Association between Serum Paraoxonase 1 Activities and Increased Oxidized Low-Density Lipoprotein Levels in Impaired Glucose Tolerance and Newly Diagnosed Diabetes Mellitus / S. Kopprasch, J. Pietzsch, E. Kuhlisch, J. Graessler // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2003. – Vol. 88, № 3. – P. 1711–1716.
6. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL / T. Vaisar, S. Pennathur, P. S. Green [et al.] // Journal of Clinical Investigation. – 2007. – Vol. 117, № 3. – P. 746–756. – doi: 10.1172/JCI26206.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ УРОВНЯ 5-ОКСИТРИПТОФАНА И РОДСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Блашко Т.Р.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь.*

Актуальность. 5-окситриптофан (5-НТР) – первый метаболит гидроксилазного пути превращения триптофана, в котором синтезируются серотонин и мелатонин, и его определение может быть информативным для оценки относительной значимости различных путей метаболизма триптофана при различных физиологических состояниях и патологии. Прямое детектирование 5-НТР по его природной флуоресценции (возможно при его

разделении методом ион-парной ВЭЖХ) имеет недостатки, связанные с необходимостью только изократического элюирования, ограниченным кругом определяемых веществ [1]. Прямой анализ в других режимах требует использования масс-спектрометрии, при которой часто ограничена чувствительность из-за слабой ионизации и сильных матричных эффектов, снижающих точность. Применение дериватизации может позволить модифицировать структуру анализа для улучшения хроматографического разрешения 5-НТР, что позволит более надежно количественно определять на ультранизких уровнях концентрации, потенциально недостижимые при прямом вводе пробы.

Цель. Оптимизировать хроматографический метод определения 5-окситриптофана в структурах головного мозга млекопитающих.

Материалы и методы исследования. В работе использовался биологический материал, полученный в эксперименте с моделированием эффектов холодового стресса [2]. Исследование проведено на 40 белых крысах-самцах гетерогенной популяции массой в начале опыта 180-220 г. Крысы находились на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Контрольной группой служили интактные животные, в качестве опытной использовали группу животных, которых подвергали ежедневному принудительному плаванию в течении 5 дней (10 мин, температура воды $12 \pm 1^\circ\text{C}$, эвтаназия через 1 ч после последнего сеанса плавания).

Метод определения 5-НТР основан на ион-парной ВЭЖХ хлорнокислых экстрактов тканей с детектированием по природной флуоресценции и представляет собой модификацию [1]. Применение детектирования по природной флуоресценции позволяет достичь приемлемой чувствительности при определении кислых метаболитов биогенных аминов [4].

Разделение проводили с помощью ион-парной ВЭЖХ. Колонку Zorbax Plus C18 (Agilent Technologies) 2,1x150 мм термостатировали при 27°C . Подвижная фаза: 0,1 М NaH_2PO_4 , 0,033 М CH_3COOH , pH 3,45; 110 мг/л октансульфоната натрия, 50 мг/л ЭДТА, 4,4% (об.) ацетонитрила. Скорость потока 0,2 мл/мин. Детектирование по флуоресценции при длинах волн: возбуждения 280 нм, излучения – 340 нм. Объем ввода проб (хлорнокислых экстрактов) 5-20 мкл. Идентификацию определяемых соединений и количественную обработку хроматограмм проводили с использованием метода внутреннего стандарта (ванилиновой кислоты). Смесь стандартов включала: 3,4-диоксифенилаланин (DOPA), тирозин (Tyr), норадреналин (NE), 3-метокси-4-оксифенилэтиленгликоль (MHPG), адреналин (E), 5-НТР, норметанефрин (NM), 3,4-диоксифенилуксусную кислоту (DOPAC), дофамин (DA), сальсолинол (Sal), 5-оксииндолуксусную кислоту (5-HIAA), триптофан (Trp), гомованилиновую кислоту (HVA), 3-метокситирамин (3-MT) и серотонин (5-HT) в концентрациях 1 мкмоль/л.

Для контроля надежности данного метода и выяснения возможности определения 5-НТР в составе полного аминокислотного анализа, была произведена попытка его определения методом [5]. Так как в данном методе, В предварительном эксперименте было установлено, что хроматографическое

разрешение пика 5-НТР является удовлетворительным, поэтому данный метод был использован в качестве метода сравнения.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. (описательная статистика, сравнение групп с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок с проверкой достоверности медианным тестом Манна-Уитни). Связи между уровнями 5-НТР, определенными с помощью двух методов, оценивали с помощью корреляционного анализа.

Результаты и обсуждение. При ион-парном разделении с детектированием по природной флуоресценции пик 5-НТР имел удовлетворительное хроматографическое разрешение как в смеси стандартов, так и в исследованных образцах. Форма пика и его симметрия, а также спектральные характеристики соответствовали стандарту. Так как пик 5-гидрокситриптофана выходит в полном аминокислотном анализе и удовлетворительно отделяется от соседних пиков, в частности от тирозина, была предпринята попытка установить, возможно ли использование данного метода вместо вышеуказанного. В анализе биогенных аминов (ион-парное разделение) пики 5-НТР и серотонина (5-НТ) выходят в разных местах на хроматограмме, и, как следствие, не могут влиять один на другой. Но в пробах всех исследованных структур мозга, кроме ствола, уровни этих соединений коррелировали между собой, что доказывает связь уровня серотонина и скорости гидроксилазного пути превращений триптофана.

Сравнение данных, полученных с помощью двух использованных методов, показало, что между уровнями 5-НТР из аминокислотного анализа и из анализа биогенных аминов (ион-парного разделения) только в гипоталамусе выявлена статистически значимая корреляция, как в контрольной ($r=0,88$; здесь и далее приводятся коэффициенты корреляции с $p<0,05$), так и в опытной ($r=0,52$; $p<0,05$) группах, что означает, что уровень 5-НТР определенный методом ВЭЖХ в составе полного аминокислотного анализа с предколоночной дериватизацией отражает уровень 5-НТР, определенный прямым детектированием по природной флуоресценции. Последний следует считать истинным, учитывая меньшее количество этапов при пробоподготовке (отсутствие этапа дериватизации) и более высокое отношение сигнал/шум (типично более 50 в ион-парной системе и не более 10 – в аминокислотном анализе, в связи с тем, что в ион-парной системе используется 5 мкл экстракта для анализа, а при полном аминокислотном анализе – не более 0,2 мкл из-за ограничений по линейности отклика детектора для «больших» компонентов аминокислотного пула ткани (для мозга – уровни глутамата, таурина, ГАМК).

Следовательно, метод, использующий прямое детектирование может быть использован для оценки уровня 5-гидрокситриптофана и гидроксилазного пути обмена триптофана. Подтверждением этому является то, что уровень 5-НТР из аминокислотного анализа и 5-НТР из метода с ион-парным разделением в гипоталамусе у крыс контрольной группы коррелируют ($r=0,88$ $p<0,05$).

В больших полушариях уровень 5-НТР из анализа биогенных аминов положительно коррелирует с уровнем серотонина ($r=0,58$). Аналогичная связь

наблюдалась между уровнями 5-НТ и 5-НТР в стриатуме контрольной ($r=0,67$) и опытной ($r=0,55$) групп. В среднем мозге эти корреляции отсутствовали, что, однако, не влияет на аналитическую пригодность метода.

Вывод. Метод полного аминокислотного анализа с предколоночной дериватизацией пригоден для оценки уровня 5-НТР только в гипоталамусе. Во всех исследованных структурах головного мозга для определения 5-НТР может быть использован оптимизированный нами метод, основанный на ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции, позволяющий также одновременное определение биогенных аминов и их метаболитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Применение ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции для определения биогенных аминов и их предшественников в тимусе и селезенке крыс / Е. М. Дорошенко, Н. М. Скурят, И. О. Лях [и др.] // Аналитика РБ - 2010 : сб. тез. докл. Респ. науч. конф. по аналитической химии с междунар. участием, посвящается 100-летию со дня рождения Г. Л. Старобинца, Минск, 14–15 мая 2010 года. – Минск, 2010. – С. 137-140.

2. Влияние холодового стресса и острой алкогольной интоксикации аминокислоты с разветвлённой углеродной цепью в тимусе крыс / Н. А. Валько, А. А. Дробышевская, Т. Р. Блашко [и др.] // Актуальные проблемы медицины : сб. материалов итоговой науч.-практ. конф., 29 января 2026 г. / отв. ред. И. Г. Жук. – Гродно : ГрГМУ, 2026. – С. 58-60

3. Величко, И. М. Влияние однократного комплексного введения этанола и морфина на содержание нейроактивных аминокислот в головном мозге крыс / И. М. Величко, С. В. Лелевич, В. В. Лелевич // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2020. – Т. 18, № 5. – С. 590-596. – doi: 10.25298/2221-8785-2020-18-5-590-596.

АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИАГРЕГАТНОГО ДЕЙСТВИЯ

В СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Будник Е.В., Наумов А. В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь*

Актуальность. Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) занимают одно из ключевых мест в современной фармакотерапии, обеспечивая контроль боли, воспаления и лихорадки. Особое место среди них занимает ацетилсалициловая кислота (АСК), которая более века остается востребованным лекарственным средством благодаря сочетанию анальгезирующего, антипиретического и противовоспалительного действия. [1, 2, 3]

Цель. Изучить современные представления о фармакодинамике ацетилсалициловой кислоты, её воздействии на метаболизм арахидоновой кислоты, продукцию тромбоксана A_2 (TxA_2) и простагландинов.