

Определение уровня пептидемии в плазме крови методом ВЭЖХ

*Бурдашкина¹ К. Г., Бычко¹ Г. Н., Власов² А. П., Ринейская¹ О.Н., Кирковский¹ В. В.
УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹, г. Минск
ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и
медицинских биотехнологий»², г. Минск
E-mail: krista-prok@mail.ru*

В настоящее время установлена важная роль пептидов группы «средних молекул» (СМ) с молекулярной массой 300-5000Д, которые отражают выраженность эндогенной интоксикации и ее динамику при различных патологических состояниях. Возрастание их уровня, возможно, связано с нарастанием активности процессов протеолиза либо затруднением их элиминации из кровотока.

Наиболее точным методом оценки уровня эндотоксинов пептидной природы является хроматографическое фракционирование биологических жидкостей с использованием колоночной гель-хроматографии на носителях типа сефадекс. Этот метод позволяет не только определять уровень СМ, но и оценить молекулярно-массовое распределение веществ нормального и патологического белкового метаболизма, отделяя высокомолекулярные соединения от средне- и низкомолекулярных компонентов. Вместе с тем этот процесс весьма длителен и трудоемок, так как фракционирование одного биообразца в зависимости от объема хроматографической колонки занимает от 4 до 8 ч, что снижает ценность метода для клинико-лабораторного анализа.

В этой связи представляется актуальной задачей разработка унифицированной ВЭЖХ методики количественной оценки уровня пептидемии по уровню СМ в средах организма при тяжелых патологических состояниях, сопровождающихся эндогенной интоксикацией.

В работе использовали донорскую плазму, полученную из образцов крови практически здоровых людей. Кровь, стабилизированную цитратом натрия, центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин. Плазму отделяли от эритроцитов, замораживали и хранили при -18°C не более двух недель. Хроматографическое фракционирование донорской плазмы было проведено на хроматографе «АКТАpurifier, GE Healthcare» (США), разделение проводили на колонке Superdex 75 10/300 GL с оптимальными пределами эксклюзии белков и пептидов и стабильностью по рН в области 3,0 – 12,0. В качестве элюирующего раствора использовали буферную систему PBS, состоящую из 0,05 М фосфатного буфера и 0,15 М NaCl, рН 7,2. Плазму разводили в 5 раз элюирующим буфером. Вся процедура от момента пробоподготовки, нанесения образца и его разгонки и до получения результата занимает, в среднем, 40 мин. Детектирование осуществлялось при 280 нм.

Хроматографическая оценка изменения молекулярно-массового распределения белково-пептидных компонентов и уровня пептидемии высокоинформативна не только в плане диагностики, но и позволяет адекватно оценивать эффективность проводимых детоксикационных мероприятий.