

Oznaczanie stężenia melatoniny u pacjentów z patologiami szyszynki

Natalia Jakubczyk

Kierownik: **prof. dr hab. Magdalena Biesaga**

Celem badań było oznaczanie zawartości melatoniny w próbkach biologicznych z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją fluorescencyjną (FLD). Melatonina jest hormonem syntetyzowanym z tryptofanu głównie w szyszynce. Jej wydzielanie regulowane jest przez enzym N-acetylotransferazę serotoninową zależny od aktywności jądra nadskrzyżowaniowego, pełniącego funkcję zegara biologicznego. Melatonina odpowiada za regulację rytmów dobowych, zwłaszcza cyklu snu i czuwania. Do oceny jej stężenia wykorzystuje się próbki krwi, moczu oraz śliny.

Zastosowano kolumnę Luna Phenyl/Hexyl 3 μ m 150x3mm firmy Phenomenex, a optymalnym eluentem był roztwór kwasu mrówkowego z gradientową zmianą stężenia acetonitrylu. Oznaczano melatoninę w próbkach krwi pobranych od pacjentów z patologiami szyszynki oraz zdrowych wolontariuszy pozyskanych we współpracy z dr hab. Andrzejem Koziarskim, prof. instytutu z Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Próbki przechowywano w temperaturze -80°C . W trakcie przygotowania materiału biologicznego próbki zakwaszono, odwirowywano, następnie doprowadzono do obojętnego pH, nanoszono na kolumny SPE i eluowano metanolem, a uzyskane eluaty poddawano analizie chromatograficznej.

Wykazano, że u pacjentów z patologiami szyszynki melatonina nie była wykrywana zarówno w próbkach pobranych przed zabiegiem operacyjnym, jak i po jego przeprowadzeniu, co może wskazywać na zaburzenia jej wydzielania związane ze zmianami chorobowymi w obrębie szyszynki. W grupie zdrowych wolontariuszy melatoninę oznaczano jedynie w części próbek, głównie pobranych w godzinach wieczornych i nocnych, co pozostaje zgodne z fizjologicznym rytmem jej syntezy. W pozostałych próbkach nie uzyskano stężeń przekraczających granicę wykrywalności metody.

Dodatkowo oceniono stabilność melatoniny w roztworach metanolowym i wodnym. Wykazano, że melatonina zachowuje stabilność przez co najmniej 175 dni w środowisku metanolowym oraz przez co najmniej 90 dni w środowisku wodnym.

Literatura:

[1] Mannino G., Pernici C., Serio G., Gentile C., Berteà C.M., Melatonin and Phytomelatonin: Chemistry, Biosynthesis, Metabolism, Distribution and Bioactivity in Plants and Animals—An Overview, *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22(18), 9996

[2] Nowak J.Z., Zawilska J.B., Melatonin and its physiological and therapeutic properties, 1998, 20.

[3] Rizzo V., Porta C., Moroni M., Scoglio E., Moratti R., Determination of free and total (free plus protein-bound) melatonin in plasma and cerebrospinal fluid by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2002, 774(1), 17–24.