

Rafał Kuzioła

*Inżynierii Środowiska,
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II*

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Oddziaływanie wybranych leków na albuminę obecną w moczu ludzkim

Wprowadzenie. Jednym z często badanych materiałów biologicznych jest mocz. W skład moczu wchodzi między innymi albumina, która przedostaje się w niewielkich ilościach z osocza krwi do moczu również zdrowego człowieka. Jej większe stężenie w moczu może sugerować choroby nerek.

Z krwi do moczu przedostaje się nie tylko albumina, ale często w niezmienionej formie przedostają się również leki stosowane przez ludzi chorych lub różne preparaty farmaceutyczne coraz częściej stosowane przez ludzi na własną rękę. Niektórym z tych leków przypisuje się działanie nefrotoksyczne lub nefroprotecyjne, co wyraża się często jako zdolność do zwiększania lub zmniejszania białkomoczu. Oczywiście istotne jest zbadanie czy sama obecność tych substancji w moczu nie wpływa na wynik oznaczania białkomoczu.

Dlatego wykonano pracę, której celem było zbadanie czy wybrane leki mogą wpływać na wynik analizy albuminy ludzkiej osocza krwi w modelowych i naturalnych próbach moczu w warunkach natywnej elektroforezy w żelu poliakrylamidowym, a w przypadku pozytywnej odpowiedzi na pytanie pierwsze próba znalezienia mechanizmu odpowiedzialnego za ten efekt.

Metoda. W pracy przebadano następujące leki: aspirynę (kwas acetylosalicylowy), antybiotyki (ampicylinę, cefuroksym), metforminę (lek przeciwcukrzycowy), 2,4-tiazolidinedion (lek przeciwcukrzycowy), cisplatynę (lek przeciwnowotworowy), metotreksat (lek przeciwnowotworowy), kaptopril (inhibitor enzymu konwertującego angiotensynę), werapamil (niedihydropidynowy bloker kanału wapniowego). Roztwory z lekami przygotowywano o stężeniach stosowanych u rzeczywistych pacjentów.

Wyniki. W wyniku przeprowadzonej elektroforezy natywnej płytowej HSA w roztworze buforu fosforanowego o pH=6,5 zarówno dla stosowanych stężeń aspiryny, antybiotyków (ampicyliny i cefuroksymu), metforminy, 2,4-tiazolidinedionu nie zauważono praktycznie wpływu na obraz elektroforetyczny albuminy (elektroforegram densytogram)

w postaci zmiany pola powierzchni piku monomeru albuminy, co odpowiadałoby zmianie stężenia albuminy.

Wyniki przeprowadzonej elektroforezy natywnej płytowej (PAGE) HSA w obecności cisplatyny, metotreksatu, kaptoprilu i werapamilu, wykazały oddziaływanie tych leków na obraz elektroforetyczny. Uzyskano prawie dwukrotne zmniejszenie pola powierzchni piku HSA w obecności cisplatyny i metotreksatu oraz prawie dwukrotne zwiększenie pola powierzchni piku HSA w obecności kaptoprilu i werapamilu. Pomiarów wykonano w próbach naturalnego moczu potwierdzają brak oddziaływania aspiryny, ampicyliny, cefuroksymu, metforminy, 2,4-tiazolidinedionu jak również potwierdzają wpływ kaptoprilu, który pozornie zwiększa stężenie albuminy.

W celu wyjaśnienia mechanizmu, który jest odpowiedzialny za ten efekt zbadano możliwość łączenia albuminy i badanych leków stosując spektrofotometrię UV-VIS.

Jak wynika z przeprowadzonych badań bardzo ważną przyczyną pozornego zmniejszenia lub zwiększenia stężenia albuminy w badaniu elektroforetycznym jest tworzenie się związków kompleksowych lek–albumina. Utworzone związki kompleksowe cisplatyna-albumina, metotreksat-albumina, kaptopril-albumina i werapamil-albumina wpływają w różny sposób na elektroforetyczne oznaczanie stężenia albuminy. Z tego powodu określono wpływ łączenia wyżej wymienionych leków z HSA na przestrzenne ułożenie łańcucha polipeptydowego albuminy (konformacja) w warunkach eksperymentu. Wyniki otrzymane metodą FTIR i CD wskazują, że mechanizm otrzymywania pseudo zawyżonych i zaniżonych wyników stężenia białka w pomiarach elektroforetycznych wiąże się ściśle ze zmianami w budowie przestrzennej białka wynikającej z tworzenia się kompleksu białko-lek. To z kolei zmienia zdolność do wiązania cząsteczek barwnika Coomassie Brilliant Blue R-250 i pozornie zmienia stężenie albuminy.

Wnioski.

- 1) Niektóre leki mogą wpływać na wynik oznaczenia zawartości albuminy ludzkiej w modelowych i naturalnych próbach moczu.**
- 2) Dotychczasowe obserwacje ograniczone są jedynie do elektroforezy w żelu poliakrylamidowym.**
- 3) Mechanizm omawianego procesu, związany jest prawdopodobnie z tworzeniem kompleksów albumina-lek, które prowadzą do zmiany konformacji białka. To z kolei zmienia zdolność do wiązania cząsteczek barwnika Coomassie Brilliant Blue R-250.**