

УДК: 615.451.13:613.281:612.392.61

Влияние этилового спирта на связывание левотироксина натрия сывороточным альбумином

П. А. Авдеев, Ю. В. Корноушенко, Л. А. Евтухова, В. А. Игнатенко

Результат проведенных экспериментов показал, что этиловый спирт в высоких концентрациях уменьшает связывающую способность бычьего сывороточного альбумина к различным лигандам. Можно предположить, что даже низкие концентрации этилового спирта в крови могут пагубно сказываться на транспортной функции альбумина.

Ключевые слова: сывороточного альбумин, лиганды.

The result of the experiments has shown that ethyl spirit in high concentration reduces the connecting ability of bull serum albumin to various ligands. It may be assumed that even low concentration of ethyl spirit in blood can fatally affect albumin transport function.

Keywords: serum albumin, ligands.

Введение

Левотироксин натрия — лекарственное средство, левовращающий изомер тироксина, после частичного метаболизма в печени и почках оказывает влияние на развитие и рост тканей, обмен веществ. Механизмы метаболических эффектов включают рецепторное связывание с геномом, изменения окислительного обмена в митохондриях, а также регулирование потока субстратов и катионов вне и внутри клетки. В малых дозах обладает анаболическим действием. В средних дозах стимулирует рост и развитие, повышает потребность тканей в кислороде, стимулирует метаболизм белков, жиров и углеводов, повышает функциональную активность сердечно-сосудистой системы и центральной нервной системы. В больших дозах угнетает выработку тиротропин-рилизинг гормона гипоталамуса и тиреотропного гормона гипофиза [1].

Левотироксин натрия назначается при гипотиреоидных состояниях различной этиологии в том числе обусловленных хирургическим или медикаментозным воздействием, супрессивной тиреоидной терапии простого (нетоксического) зоба, аутоиммунном тиреоидите Хашимото, многоузловом зобе, тиреостатическом лечении гипертиреоза (комплексная терапия после достижения эутиреоидного состояния, тиреотропинзависимых высокодифференцированных папиллярных или фолликулярных карциномах щитовидной железы (комплексное лечение), профилактике рецидива зоба после резекции, а также при проведении супрессионного скинтиграфического теста щитовидной железы [2].

Лекарственный препарат после всасывания в тонком кишечнике, попадает в кровеносное русло, где связывается практически весь с белками плазмы [3].

Гормон тироксин и его производные, в том числе и левотироксин натрия транспортируются транстиретином (преальбумином), тироксинсвязывающим глобулином и альбумином в печень, головной мозг и мышцы, где главным образом и происходит их метаболизм. Высокие концентрации определенных веществ, содержащихся в крови, могут влиять на транспортную функцию сывороточного альбумина, при этом может происходить снижение связывания левотироксина натрия с альбумином. Несвязанный с белками крови левотироксин натрия практически сразу выводится из кровотока почками, не проявляя своей физиологической функции [4].

Известно, что высокие концентрации этилового спирта вызывают изменение конформации белков вплоть до денатурации, что неблагоприятно сказывается на проявлении их физиологических функций [5].

Цель работы: изучение влияния этилового спирта на связывающую способность левотироксина натрия с сывороточным альбумином.

Материалы и методы исследования

Для целей проведения эксперимента был приготовлен раствор бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich) 0,66 г/л (10^{-5} М) в фосфатном буфере рН= 7,48. Регистрацию спектра интенсивности собственной и зондовой флуоресценции проводили на спектрофлуориметре Cary Eclipse (США).

Условия регистрации зондовой и собственной флуоресценции: длина возбуждения 296 нм, длина регистрации 306-600 нм, спектральные ширины щелей возбуждения и флуоресценции по 5 нм; собственной флуоресценции: длина возбуждения 296 нм, длина регистрации 306-650 нм, спектральные ширины щелей излучения и поглощения – 5 нм.

Сначала провели эксперимент по влиянию левотироксина натрия на параметры собственной флуоресценции бычьего сывороточного альбумина (БСА). Для этого измерили спектры флуоресценции чистого белка и при добавлении 2, 4, 6, 8 и 10 мкг левотироксина натрия. В следующем эксперименте к раствору белка, содержащего 10 мкг левотироксина, добавляли этиловый спирт концентрации: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2 М и измеряли, как при этом менялась величина интенсивности собственной флуоресценции.

Так же провели отдельный эксперимент по влиянию концентраций 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1; 1,1; 1,2 М этилового спирта на интенсивность собственной флуоресценции.

После провели аналогичные опыты, только с добавлением в реакционную среду флуоресцентного зонда 1-анилино-8-нафталинсульфонат (АНС) в концентрации $6 \cdot 10^{-5}$ М (Sigma-Aldrich), для изучения показателей зондовой флуоресценции.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных экспериментов по изучению влияния левотироксина натрия, этилового спирта и их совместного действия на собственную флуоресценцию БСА были построены графики, отображенные на рисунке 1.

При действии этилового спирта на БСА, происходят незначительные конформационные переходы, только при концентрации 0,9 М этилового спирта наблюдается значительный конформационный переход, на что указывает значительное снижение интенсивности собственной флуоресценции.

При добавлении левотироксина показатель интенсивности собственной флуоресценции снижался без значительных скачков, что может указывать на незначительные конформационные переходы, происходящие в белке, при связывании его с левотироксином. При добавлении 0,2 М этилового спирта к смеси левотироксина натрия и БСА, интенсивность собственной флуоресценции немного возросла, что может говорить о снижении влияния левотироксина под действием спирта на белок. Однако, при дальнейшем росте концентрации спирта в смеси показатель интенсивности собственной флуоресценции продолжил падение, это может быть результатом денатурирующего влияния самого спирта на белок.

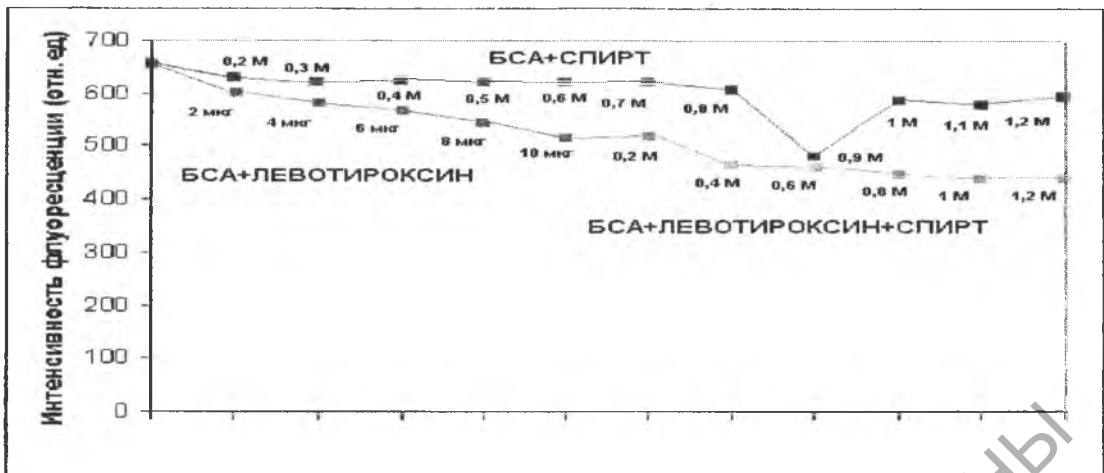


Рисунок 1 – Влияние этилового спирта, левотироксина натрия и их совместное влияние на интенсивность собственной флуоресценции БСА

По результатам проведенных экспериментов по изучению влияния левотироксина натрия, этилового спирта и их совместного действия на зондовую флуоресценцию БСА были построены графики, отображенные на рисунке 2.

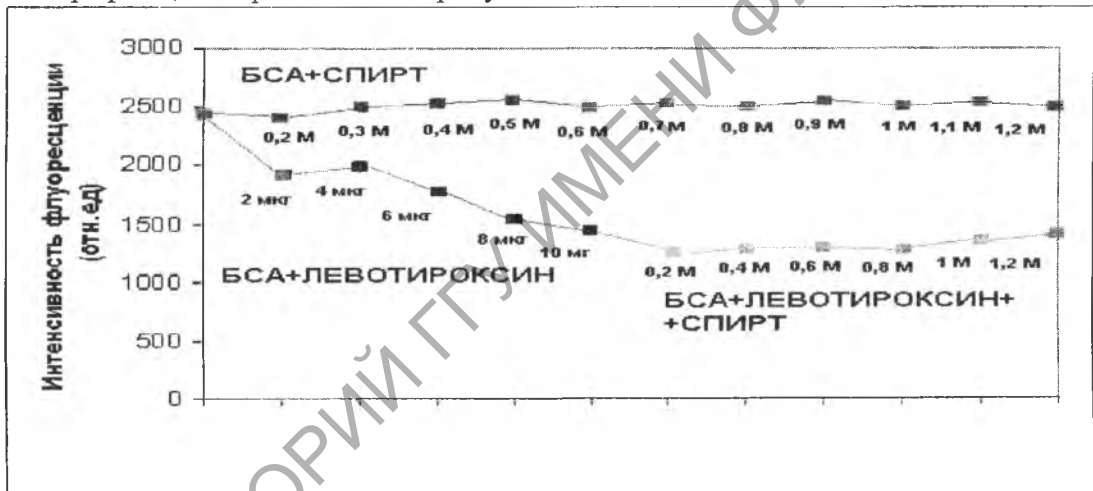


Рисунок 2 – Влияние этилового спирта, левотироксина натрия и их совместное влияние на интенсивность зондовой флуоресценции БСА

Таким образом, при действии этилового спирта на показатель зондовой флуоресценции БСА, ее интенсивность незначительно возрастала. Это может говорить об увеличении связывающей способности альбумина при росте концентрации спирта. Так как этиловый спирт – менее полярный растворитель, чем вода, поэтому его высокие концентрации способствуют выходу на поверхность гидрофобных аминокислот, с которыми благодаря гидрофобным взаимодействиям присоединяется АНС.

При добавлении левотироксина натрия к БСА, интенсивность его зондовой флуоресценции снижалась, что происходит в результате вытеснения АНС из мест его посадки. АНС и левотироксин конкурируют между собой за одни места связывания в белке. Далее к смеси белка, зонда и левотироксина добавляли этиловый спирт, при добавлении его 0,2 М интенсивность зондовой флуоресценции снижалась, однако большие концентрации спирта вызвали рост показателя интенсивности зондовой флуоресценции. Частично это может происходить из-за увеличения показателя связывающей способности АНС с альбумином под влиянием спирта, однако, при действии одного спирта без левотироксина интенсивность зондовой флуоресценции меняется не так значительно. Это может происходить только в результате вытеснения левотироксина с мест его посадки на белке под действием спирта, и по-

садкой на освободившиеся места флуоресцентного зонда, за счет чего происходит более значительный рост интенсивности зондовой флуоресценции.

Заключение

Таким образом, в результате проведенных экспериментов нами было доказано, что этиловый спирт в высоких концентрациях влияет на связывающую способность бычьего сывороточного альбумина к различным лигандам. Так как спирт способствует к незначительному росту связывающей способности альбумина к флуоресцентному зонду АНС, вероятно эта закономерность относится и к другим схожим по химическому строению лигандам. Однако, при больших концентрациях спирта связывающая способность альбумина по отношению к левотироксину натрия снижается. Хотя столь высокие концентрации спирта в крови практически не наблюдаются не исключено, что они могут возникать в организме локально. Можно предположить, что даже низкие концентрации этилового спирта в крови могут пагубно сказываться на транспортной функции альбумина по отношению к другим лигандам.

Литература

1. Захаревский, А.С. Фармакология с рецептурой: учебник / А.С. Захаревский, Б.Б. Кузьмицкий, Л.Д. Курлович. – Мн.: Высш. шк., 2004. – 304 с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух частях. Ч. 1. – 12-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1998. – 736 с.
3. Розен В.Б. Основы эндокринологии: Учебник. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 1994. – 384 с.
4. Кольман, Я. Наглядная биохимия: Пер. с нем. / Я. Кольман, К.Г. Рем, – М.: Мир, 2000. – 469 с.
5. Березов, Т.Т. Биологическая химия: Учебник. – 3-е изд., перераб. и доп. / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин, – М.: Медицина, 1998. – 704 с.