

Združitev kemijske analize in bioloških testov za preučevanje steroidnih estrogenov in drugih biološko aktivnih snovi

Miha Avberšek^{1,2}, Bojana Žegura³, Metka Filipič³, Ester Heath¹

¹Odsek za znanosti o okolju, Institut Jožef Stefan, Ljubljana, Slovenija

²Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana (Ekotehnologija, 3. letnik)

³Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, Slovenija

miha.avbersek@ijs.si

Biološko aktivne snovi igrajo v življenju človeka in drugih živih organizmov pomembno vlogo, ki je lahko pozitivna (zdravilne učinkovine) ali pa negativna (škodljiva prisotnost v okolju). Onesnaževanje okolja je že več desetletij pomembna tema in predmet raziskav, pa vendar raziskovalci v Evropi in svetu ugotavljajo, da v okolju prepoznavamo vse več novih organskih in anorganskih biološko aktivnih onesnažil. Prav tako se nezadržno širi tudi spisek zdravilnih učinkovin, ki imajo poleg zelenih tudi neželene učinke. Ker se biološko aktivne snovi ponavadi pojavljajo v kompleksnih vzorcih, je poleg vsebnosti posameznih spojin pomemben tudi podatek o celotnem biološkem učinku vzorca. Osnovni metodologiji, ki se uporabljata za preučevanje zdravilnih učinkovin ter prisotnosti, kroženja in vpliva biološko aktivnih snovi v okoljskih vzorcih, sta kemijska analiza in biološko testiranje – biotesti.

Kemijska analiza, ki se najpogosteje uporablja za dokazovanje spojin v kompleksnih vzorcih, nam poda informacijo o kemijski sestavi vzorca, to je o vsebnosti posameznih spojin v vzorcu, ne pa tudi o njihovem dejanskem učinku in medsebojnih interakcijah. Celotni biološki učinek merimo z biotesti, ki pa nam sami ničesar ne povedo o vsebnosti posameznih spojin v vzorcu. Kvalitetnejše rezultate lahko zagotovimo z združitvijo kemijske analize in biološkega testiranja, v kolikor sta metodi smiselno združeni in prilagojeni ena drugi.

Del našega raziskovalnega dela pokriva preučevanje prisotnosti steroidnih estrogenov v okoljskih vzorcih s kemijsko analizo (plinska kromatografija z masno spektrometrično detekcijo, GC-MSD), kar kombiniramo z biološkimi testi za določanje celokupne estrogenosti vzorcev (ER-Calux[®]). Običajno raziskovalci kemijsko analizo in biološke teste obravnavajo ločeno, kar posledično pomeni ločeno in dvojno pripravo vzorcev. V našem laboratoriju smo s prilagajanjem posameznih metod (npr. uporaba enakega topila v obeh metodah, prilagoditev količine uporabljenega topila) združili oba postopka in dosegli več kot 90 % ujemanje rezultatov, pri čemer smo zmanjšali čas in stroške analize. V prihodnje bomo kombinirano metodo uporabili za preučevanje kroženja steroidnih estrogenov v okoljskih vzorcih (odpadna voda iz komunalnih čistilnih naprav in površinske vode) in njihov doprinos k celokupni estrogenosti vzorcev.

Preučevanje povezave med kemijsko sestavo vzorca in celokupnim biološkim učinkom vzorca je uporabno tako za preučevanje onesnaženosti okolja (strupene snovi, endokrini motilci ipd.), kot tudi za testiranje biološkega učinka zdravilnih učinkovin. Hkrati pa lahko s primerno kombinacijo analizne metode in biološkega testa odkrijemo neznane spojine, ki jih lahko s frakcioniranjem izoliramo in identificiramo. Tovrstni pristopi so pomembni pri iskanju novih biološko aktivnih zdravilnih učinkovin, v okolju pa za zaznavanje novih onesnažil. Združitev kemijske analize in biološkega testa pomeni kvalitetnejšo informacijo z nižjimi možnimi stroški in krajšim porabljenim časom.