

4/10
7458

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І.І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет
Кафедра біохімії

Спеціальність
Освітньо-кваліфікаційний рівень

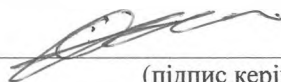
7.04010201 Біологія
Спеціаліст

Кваліфікаційна робота на здобуття ОКР «Спеціаліст»

ВПЛИВ ПОЛІВІТАМІНІВ НА ВМІСТ МОЛОЧНОЇ, ПРОВІНОГРАДНОЇ
І ЯБЛУЧНОЇ КИСЛОТ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ ШУРІВ ПРИ
ІНГІБУВАННІ БІОСИНТЕЗУ БІЛКА

Студента денної форми навчання
(нормативний термін навчання 1 рік)
Петрова Анатолія Сергійовича

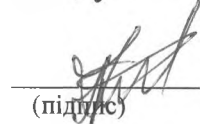
Науковий керівник
ст. викладач кафедри біохімії
Кокошкіна Оксана Олександрівна



(підпис керівника)

Рецензент
к.б.н. доцент кафедри фізіології
людини та тварин
Майкова Ганна Вікторівна

Рекомендовано до захисту
Протокол засідання кафедри
№ 13 від «16» 05, 2013р.
Завідуючий кафедрою

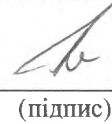


(підпис)

(прізвище, ініціали)

Захищено на засіданні ДЕК № 1
протокол № 41 від «18» 06, 2013р.
Оцінка відмінно 91, +
(за 4-х, 100- бальною, за шкалою ECTS)

Голова ДЕК



(підпис)

Галин В.М.
(прізвище, ініціали)

Одеса 2013

645287

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота викладена на 48 сторінках друкованого тексту, містить у собі 2 таблиці та 3 рисунки.

У роботі є посилання на 62 джерела літератури, з них іноземних – 7.

Метою дослідження було експериментальне вивчення дії актиноміцину, хлорамфениколу і полівітамінів на вміст лактату, пірувату й малату, а також встановлення можливості застосування полівітамінів для корекції вмісту субстратів НАД-залежних дегідрогеназних систем в умовах інгібування біосинтезу білка у щурів. Дослідження проводилися на базі кафедри біохімії біологічного факультету ОНУ ім. І.І. Мечникова.

З'ясовано, що після парантерального введення хлорамфениколу й актиноміцину у різних тканинах щурів з неоднаковою інтенсивністю змінюється вміст лактату, пірувату й малату. Виявлений перерозподіл метаболітів НАД-, НАДФ-дегідрогеназних систем - лактату, пірувату й малату – обумовлює підвищення співвідношення лактат/піруват і малат/піруват у досліджених тканинах. Введення антибіотиків хлорамфениколу й актиноміцину викликає зменшення співвідношення вільних НАД/НАДН і НАДФ/НАДФН у цитоплазмі досліджуваних тканин особливо виражене в печінці. Введення полівітамінного препарату сприяє корекції зазначених змін.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	6
1.1. Синтез білка та його інгібування	6
1.2. Лактат в органах і тканинах організму тварин	10
1.3. Піруват в органах і тканинах	13
1.4. Малат в органах і тканинах організму тварин	15
1.5. Нікотинамідні коферменти	17
1.6. Коферментні функції деяких вітамінів в організмі тварин	20
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	23
2.1. Постановка експериментів	23
2.2. Матеріали та методи	24
2.2.1. Методика визначення вмісту лактату, пірувату, малату в тканинах експериментальних тварин	24
2.2.2. Статистична обробка результатів	28
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	31
УЗАГАЛЬНЕННЯ	40
ВИСНОВКИ	42
ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА	43

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

АТФ	– аденозинтрифосфат
АЛТ	– аланінамінотрансфераза
АМ	– актиноміцин
ВП	– вітамінний препарат
КоА	– коензим А
ЛДГ	– лактатдегідрогеназа
МДГ	– малатдегідрогеназа
МЕ	– малатензим
МК	– молочна кислота
НАД	– нікотинамідаденіндинуклеотид
НАДН	– нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений
НАДФ	– фосфорильований нікотинамідаденіндинуклеотид
НАДФН	– фосфорильований нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений
НАм-коферменти	– нікотинамідні коферменти
НК	– нікотинова кислота
НОР	– надосадова рідина
ПК	– піровиноградна кислота
ПДГ	– піруватдегідрогеназа
ПДК	– піруватдегідрогеназний комплекс
ТДФ	– тіаминдифосфат
ТМФ	– тіамінмонофосфат
ФАД	– флавінаденіндинуклеотид
ФМН	– флавінмононуклеотид
ФР	– фізіологічний розчин
ХА	– хлорамфенікол
ЦТК	– цикл трикарбонових кислот
α -КГК	– α -кетоглутарова кислота

ВСТУП

Однією із глобальних завдань сучасної біології є з'ясування молекулярних основ і тонких механізмів синтезу білка в нормі й при патології. Синтез білка являє собою циклічний енергозалежний багатоступінчастий процес, у якому вільні амінокислоти полімеризуються в генетично детерміновану послідовність із утворенням поліпептидів. Один зі шляхів з'ясування тонких молекулярних механізмів синтезу білка в клітинах – використання лікарських препаратів, які його стимулюють або інгібують.

Метою наших досліджень було вивчення дії актиноміцину, хлорамфениколу й полівітамінів на вміст лактату, пірувату та малату – граючих важливу роль в основних метаболічних процесах в організмі, а також встановлення можливості застосування полівітамінів для корекції вмісту субстратів НАД-залежних дегідрогеназних систем в умовах інгібування біосинтезу білка у щурів.

Для досягнення зазначеної мети вирішували наступні завдання:

1. Вивчити дію хлорамфениколу та актиноміцину і їхнього сполучення в органах щурів при моделюванні інгібування біосинтезу білка й визначити вміст лактату, пірувату та малату. Вивчити співвідношення лактату і малату до пірувату при введенні антибіотиків.

2. Дослідити вплив антибіотиків на співвідношення вільних окиснених нікотинамідних коферментів до їхніх відновлених форм в органах щурів.

3. Дослідити вплив полівітамінів разом з антибіотиками на співвідношення лактату і малату до пірувату та на співвідношення вільних окиснених нікотинамідних коферментів до їх відновлених форм в органах щурів.

Об'єкт дослідження – інгібування біосинтезу білка.

Предмет дослідження – вміст лактату, пірувату та малату в органах щурів.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Таким чином, ми можемо укласти, що при моделюванні інгібування біосинтезу білка шляхом введення антибіотиків у різних тканинах з неоднаковою інтенсивністю змінюється вміст лактату, пірувату й малату. Виявлене збільшення співвідношення лактату до пірувату й зсув окиснювально-відновного стану нікотинамідних коферментів у бік відновлених форм в умовах інгібування біосинтезу білка може свідчити про активацію анаеробних процесів у гліколізі.

Певне значення в збільшенні співвідношення вільних НАДФ/НАДФН пар має тканинна специфічність, особливо якщо врахувати, що біосинтез НАДФ – це процес залежний від рівня АТФ. У тканинах з високим рівнем біосинтезу НАД зростання вмісту НАДФ є обмеженим, внаслідок конкуренції цих двох процесів за АТФ у клітині [3].

З погляду регуляції метаболізму, значення має та обставина, що незначна відмінність у хімічній структурі НАД і НАДФ обумовлює їхню участь у різних метаболічних процесах.

Коферментні функції НАД в основному пов'язані з каталізом окиснювально-відновних реакцій, у яких електрони й протони переносяться від відновленого субстрату до різних акцепторів; а відновлена форма НАДФ використовується в різноманітних біосинтетичних процесах, таких як утворення жирних кислот, сполук стероїдної природи, амінокислот [3].

За нашим даними при застосуванні антибіотиків у печінці, мозку й серці співвідношення вільних НАДФ/НАДФН знижувалося, а в нирках практично не змінювалося. Зазначене змінення окиснювально-відновного потенціалу клітини, хоч і неяскраво виражене, очевидно обумовлений тим, що інтенсивність біосинтетичних процесів у тканинах тварин при дії антибіотиків вимагає більшої витрати відновлених форм нікотинамідних коферментів.

Відомо, що співвідношення НАДФ/НАДФН є регуляторним для дегідрогеназ пентозофосфатного шляху й ліпогенезу, а рівень НАДФН,

пов'язаний з антиоксидантною системою, зокрема із глутатіонредуктазою, що особливо важливо для підтримки високого рівня відновленості білків.

Відомо, що зміна співвідношення вільних нікотинамідних коферментів при введенні коферментних форм вітамінів, у тому числі й РР, у гепатоцитах є основним чинником регуляції енергетичного й вуглеводного обміну [8, 10].

Застосовуваний вітамінний препарат, до складу якого входить нікотинамід, попередник нікотинамідних коферментів, сприяє підвищенню рівня більшою мірою окислених форм і в меншому ступені відновлених форм. Це й обумовлює збільшення співвідношення НАД/НАДН і НАДФ/НАДФН, зміни ключових окиснювально-відновних процесів і швидкості протікання метаболічних процесів. Так, згідно з отриманими даними, при введенні ВП на фоні дії ХА й АМ співвідношення НАДФ/НАДФН, як правило, у всіх досліджених групах, за винятком печінки в групі із сумісним застосуванням ВП і ХА+АМ, підвищувалося відносно даних по групах з відповідним антибіотиком.

На закінчення необхідно відзначити, що окиснювально-відновний стан нікотинамідних коферментів утворює єдину редокс-систему з рядом ферментів, що забезпечує скоординованість функціонування дегідрогеназ, редуктаз і пероксидаз у різних метаболічних шляхах, що є визначальним у регуляції окиснювально-відновних процесів у гліколізі, циклі трикарбонових кислот, ланцюгу транспорту електронів і пентозофосфатного шляху [9].

ВИСНОВКИ

1. Після парантерального введення ХА й АМ у різних тканинах щурів з неоднаковою інтенсивністю змінюється вміст лактату, пірувату й малату. Виявлений перерозподіл метаболітів НАД-, НАДФ-дегідрогеназних систем – лактату, пірувату й малату – обумовлює підвищення співвідношення лактат/піруват і малат/піруват у досліджених тканинах.

2. Введення антибіотиків хлорамфениколу й актиноміцину викликає зменшення співвідношення вільних НАД/НАДН і НАДФ/НАДФН у цитоплазмі досліджуваних тканин, яке особливо виражене в печінці.

3. Введення полівітамінного препарату у сполученні з антибіотиками сприяє корекції зазначених змін. Спостерігалось зниження співвідношення лактат/піруват і малат/піруват та підвищення співвідношення вільних окиснених нікотинамідних коферментів до їх відновлених форм в досліджуваних органах щурів.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. *Авакумов В. И., Ковлер М. А.* Лекарственные средства метаболической терапии на основе витаминов и коферментов // Тез. докл. Всесоюзн. конф. «Клиническая витаминология». – М.: 1991. – 241 с.
2. *Анисимов А. А.* Основы биохимии. – М.: Высш. Школа, 1986. – 551 с.
3. *Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф.* Биологическая химия. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.
4. *Березовский В. М.* Химия витаминов. – М.: Пищепромиздат. – 1959. – 396 с.
5. *Бобылева-Гуарриеро В. Б., Уэбби Р. С., Мускателло У., Ларди Г. А.* Роль малата в регуляции скорости митохондриального дыхания *in vitro* // Биохимия. – 1991. – Т. 56, № 3. – С. 542-551.
6. *Борзенко И. А.* Клинико-фармакологические аспекты применения рибофлавина и рибофлавиновых коферментов // Врачебное дело. – 1983. – № 10. – С. 4-8.
7. *Великий Н. Н., Кучмеровская Т. М., Пархомец П. К.* Окислительно – восстановительное состояние свободных никотинамидных коферментов и синтез фосфоенолпирувата в печени крыс и морских свинок // Укр. биохим. журн. – 1981. – Т. 53, № 1. – С. 60-66.
8. *Великий Н. Н., Пархомец П. К.* Роль окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов в регуляции клеточного метаболизма // Витамины. – 1976. – № 9. – С. 3-15.
9. *Великий Н. Н., Пархомец П. К., Симонова Н. Я. и др.* Гипогликемический эффект никотинамида при аллоксановом диабете у крыс // Проблемы эндокринологии. – 1978. – Т. 24, № 1. – С. 83-88.
10. *Виноградов В. В., Тарасов Ю. А., Струмило С. А., Мандрик К. А.* Кора надпочечников и витамин РР. Влияние кортикостероидов на уровень НАД в печени крыс после введения избытка никотиновой кислоты или никотинамида

// Проблемы эндокринологии. – 1979. – Т. 25, № 2. – С. 61-64.

11. Гулый М.Ф. Основные метаболические циклы. – К.: Наукова думка, 1986. – 236 с.

12. Доссон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Биохимический справочник. – М.: Мир, 1991. – 553 с.

13. Дунаев В. В., Тишкин В. С., Милонова Н. П., Белай И. М., Макаренко А. Н., Гармаш С. Н. Влияние солей яблочной кислоты на физическую работоспособность и ее восстановление после истощающей мышечной деятельности // Фармакология и токсикология. – 1988. - № 3. – С. 21-25.

14. Дэгли С., Николсон Д. Метаболические пути. – М.: Мир, 1973. – 151с.

15. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. – М.: Высшая школа, 1986. – 447 с.

16. Ефремов В. В., Горбунова Т. Г. К вопросу об обеспеченности человека рибофлавином и витамином В₆ и о потребности в них организма. // Тез. докл. Всес. конф. «Актуальные проблемы витаминологии». – М. – 1978. –Т. 3. – С. 45-48.

17. Запорожченко А. В., Карпов Л. М., Коломийчук С. Г., Кокошкина О.А., Сорокин А. В., Станев А. И. Содержание лактата и пирувата в органах крыс при ингибировании биосинтеза белка и при введении животным поливитаминов // Вестник ОНУ. – 2004. – Т. 9, вып. 1. – С. 39-46.

18. Зуев И. В. Перекисное окисление липидов печени под влиянием актиномицина D // Медицинский журнал Узбекистана. – 1985. - № 2. – С. 68-69.

19. Иваненко Е. Ф. Биохимия витаминов. – К.: 1970. – 393 с.

20. Иванищев В. В., Курганов Б. И. Ферменты метаболизма малата: характеристика, регуляция активности и биологическая роль // Биохимия. – 1992. – Т. 57, № 5. – С. 653-662.

21. Кайдин Д. А. Влияние яблочной кислоты и карбонатов щелочных и щелочноземельных металлов на развитие алиментарной гиперхолестеринемии и липоидоза аорты у кроликов // Бюллетень экспериментальной биологии и

медицины. – 1968. – № 12. – С. 29-31.

22. *Кендыш И. Н.* Регуляция углеводного обмена. – М.: Медицина, 1985. – 387 с.

23. *Кокунин В. А.* Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Укр. биохим. журн. – 1975. – Т. 47, № 6. – С. 776 – 791.

24. *Коломийчук С. Г.* Методика определения содержания лактата, малата и пирувата в тканях экспериментальных животных. – Одесса, 1991. – 14 с.

25. *Коровкин Б. Ф.* Ферменты в жизни человека. – Л.: Медицина, 1972. – 287 с.

26. *Краснов И. Б., Ильина-Какуева Е. И.* Гистохимическое изучение путей обмена яблочной кислоты в кожно-двигательном анализаторе нервной системы крысы // Цитология. – 1967. – Т. 9, № 2. – С. 207-210.

27. *Крю Ж.* Биохимия (медицинские и биологические аспекты) – М.: Медицина, 1979. – 510 с.

28. *Кузин А. М.* Радиационная биохимия. – Минск: Наука и техника, 1972. – 130 с.

29. *Кучеренко Н. Е.* Биохимия. – К.: Вища шк., 1988. – 432 с.

30. *Ланчини Д., Паренти Ф.* Антибиотики. – М.: Мир, 1985. – 272 с.

31. *Ленинджер А.* Основы биохимии. – М.: Мир, Т.3., 1985. – 320 с.

32. *Леутский К. М.* Никотиновая кислота. Витамин РР. Львов: Изд-во Львов. ун-та, 1972. – 181 с.

33. *Малер Г., Кордес Ю.* Основы биологической химии. – М.: Мир, 1970. – 568 с.

34. *Мальцев Н. И., Щорс Е. И.* Изменение свойств лактатдегидрогеназы при действии ртутьсодержащих агентов // Биохимия. – 1971. – Т. 36, № 4. – С. 761-768.

35. *Мари Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В.* Биохимия человека. – М.: Мир, 1993. – Т. 1. – 384 с.

36. *Марченко Л. Ф., Батулин А. А., Терентьева Е. А.* Диагностическое

значение определения уровня лактата, пирувата и 2,3-дифосфоглицерата в крови при сахарном диабете у детей // Педиатрия. – 1991. - № 2. – С. 26 – 30.

37. *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен)* / Под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – 272 с.

38. *Мойсеенок А. Г.* Пантотеновая кислота. – Минск: Наука и техника, 1980. – 216 с.

39. *Навашин С. М., Фомина И. П.* Справочник по антибиотикам. – М.: Медицина, 1974, ч. 1. – 416 с.

40. *Наградова Н. К.* Белок-белковые взаимодействия в функционировании НАД⁺-зависимых дегидрогеназ. – М: Наука, 1990. – С. 34-35.

41. *Островский Ю. М., Величко М. Г., Якубчик Т. Н.* Пируват и лактат в животном организме. – Минск: Наука и техника, 1984. – 224 с.

42. *Островский Ю. М. и др.* Экспериментальная витаминология. – Минск: Наука и техника, 1979. – 264 с.

43. *Орлова Т. И.* О механизме биосинтеза антибиотиков актиномицетов // Антибиотики и химиотерапия. – 1991. – Т. 36, № 9. – С. 47-51.

44. *Оэриу С.* Исследование отношений между витаминами-коэнзимами и соответствующими ферментами в зависимости от возраста животного и под действием некоторых веществ, свойственных организму // Биохимия. – 1963. – Т. 28, № 1. – С. 3-8.

45. *Подорожный П. Г., Томашевский Я. И.* Клиническая витаминология. – М.: Мир, 1977. – С. 3-8.

46. *Пыжик Т. Н.* Роль ниацина в регуляции пентозофосфатного пути и продукции НАДФН в жировой ткани // Вопросы питания. – 1989. - № 5. – С. 53-55.

47. *Розанов А. Я.* Механизмы регуляции биокатализа. – Киев: Вища школа, 1989. – С. 234.

48. *Романович Е. А., Басиева Ф. И.* Влияние нагрузки яблочной кислотой на содержание в крови и моче животных продуктов малатдегидрогеназной

реакции и соотношение восстановленной и окисленной форм аскорбиновой кислоты // Вопросы медицинской химии. – 1975. – Т. 21, № 2. – С. 131-133.

49. *Сазыкин Ю. О.* Антибиотики как ингибиторы биохимических процессов. – М: Наука, 1968. – 463 с.

50. *Спиричев В. В.* Актуальные проблемы витаминологии // Тез. докл. Всесоюзн. конф. – М.: 1991. – Т. 2. – С. 33-35.

51. *Турсинходжаева М. С., Исмаилова Н. И.* Об экскреции тиамин с мочой у больных хроническим энтероколитами пожилого и старческого возраста // Мед. ж. Узбекистана. – 1971. – № 8. – С. 33-36.

52. *Федик М. Я.* Никотинамидные коферменты в коррекции метаболических нарушений при экспериментальном стрептозоциновом диабете у крыс. – К.: 1998. – 18 с.

53. *Хоменко А. Г., Высочина И. В., Ефимова Л. Н., Кузьмина Н. В.* Компоненты гликолиза и активность некоторых ферментов углеводного обмена в крови при длительном действии рифампицина и изониазида // Бюл. exper. биол. и мед. – 1982. – №4. – С. 54 – 57.

54. *Шилов П. И., Яковлев Т. Н.* Основы клинической витаминологии. – Л.: Медицина. – 1974. – 343 с.

55. *Языкова М. Ю., Петухов С. П., Муромец В. И.* Фосфорилирование лактатдегидрогеназы протеинкиназами // Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 10. – С. 1409-1414.

56. *Bergmeyer H. U.* Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. – Berlin: 1970. – S. 1536-1539.

57. *Greenbaum A. L., Guma K. A., Mclean P.* The distribution of hepatic metabolites and the control of the pathways of carbohydrate metabolism in animals of different dietary and hormonal status. // Arch. Biochem. and Biophys.. – 1971. – Vol. 143, №2. – P. 617 – 663.

58. *Kawashima Tsuyoshi, Nakazawa Tohru.* Transient increase in mitochondrial protein synthesis of starfish embryo before gastrulation // Zool. Sci. –

1989. – V. 6, №4. – P. 800 – 804.

59. *Leske M. C., Chylack L. T., Wu S. – Y.* The Lens Opacities Case Control Study // *Arch. Ophthalmol.* – 1991. – V.109, №2. – P. 244 – 251.

60. *Neetan M., Degani H.* Early estrogen – induced metabolic changes and their inhibition by actinomycin D and cycloheximide in human breast cancer cells: ^{31}P and ^{13}C NMR studies // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1989. – V. 6, № 14. – P. 5585 – 5589.

61. *Rao P. V., Bhat K. S.* Influence of dietary riboflavin deficiency on lenticular glutathione redox cycle, lipid peroxidation and free radical scavengers in the rat // *J. Clin. Biochem. And Nutr.* – 1989. - V. 6, № 3. – P. 195 – 204.

62. *Shu, X.; Gao, Y.; Linet, M.; Brinton, L.; Gao, R.; Jin, F.; Fraumeni, J.* Chloramphenicol use and childhood leukaemia in Shanghai // *The Lancet.* – 1987. – V. 330, № 2. – P. 934–937.

