

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра медицинской физики

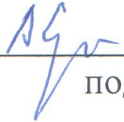
**Изучение влияния катионов магния на процессы сорбции ионов калия и
натрия белками in vitro**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 2 курса 205 группы
направления 03.04.02 «Физика»,
профиль подготовки «Медицинская физика»
факультета nano- и биомедицинских технологий

Майскова Дмитрия Игоревича

Научный руководитель
профессор, д. ф.-м. н.

 А.В. Скрипаль
подпись, дата

Консультант
инженер

 19.06.17 Д.Г. Верхов
подпись, дата

Зав. кафедрой
профессор, д. ф.-м. н.

 19.06.17 А.В. Скрипаль
подпись, дата

Саратов 2017

ВВЕДЕНИЕ

В медицинских исследованиях было и остаётся актуальным изучение K^+/Na^+ -баланса в организме человека. Нарушение этого баланса связано с рядом заболеваний, таких как несахарный диабет, синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона, пиелонефрит. Поэтому очень важно исследовать причины, приводящие к таким нарушениям. Однако эти причины можно понять, только изучив механизм связывания этих катионов клеточными белками и их взаимное влияние на сорбционные (сорбция (от лат. *sorbeo* — поглощаю), поглощение твёрдым телом или жидкостью вещества из окружающей среды) процессы.

Калий, как и натрий, играет большую роль в образовании буферных систем, предотвращающих сдвиги реакции среды и обеспечивающих их постоянство. Калий относится к основным внутриклеточным катионам, являясь необходимым компонентом внутриклеточной среды всех живых организмов. В организме человека около 98% калия находится внутри клеток тканей. Соединения калия оказывают влияние на коллоидное состояние тканей, способствуют выведению из организма жидкости. Для всех тканей характерно определенное соотношение концентраций между калием и натрием, который содержится преимущественно во внеклеточной среде. В некоторых физиологических процессах калий выступает как антагонист натрия: увеличение концентрации калия в организме приводит к выведению из организма натрия.

Известно, что будучи естественным антагонистом кальция, магний является универсальным регулятором биохимических и физиологических процессов в организме: обеспечивает гидролиз аденозинтрифосфата (АТФ), ингибируя разобщение окисления и фосфорилирования, способствует фиксации калия в клетках, обеспечивая поляризацию клеточных мембран; контролирует спонтанную электрическую активность нервной ткани и проводящей системы сердца, контролирует нормальное функционирование кардиомиоцита.

Анализ современного состояния проблемы влияния катионов магния на распределение ионов калия и натрия показал, что авторами приводятся различные объяснения процессов распределения ионов в организме человека и модельных системах.

Целью работы являлось исследование процесса сорбции ионов K^+ и Na^+ в присутствии Mg^{2+} гемоглобином и альбумином.

В задачи исследования входило: проведение анализа современного состояния данной проблемы, изучение основ потенциометрического метода измерения концентраций и принципа работы ионоселективных электродов, а также определение влияния различных концентраций магния на количество сорбированных ионов калия и натрия белками.

Показано влияние двухвалентного иона магния на процессы сорбции клеточных катионов калия и натрия гемоглобином и альбумином, что свидетельствует в пользу существования единых сорбционных свойств как для отдельно взятых высокоочищенных гемоглобина и альбумина, так и для других типов белков, входящих в состав клеточных структур.

Выпускная квалификационная работа состоит из введения, содержания, 6 разделов, заключения и списка литературы. В 4, 5 и 6 разделах приведено описание методики исследований и экспериментальной установки, представлены результаты проведенных экспериментов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении приведена актуальность темы исследований, сформулирована цель выпускной работы магистра и задачи, необходимые для ее достижения.

В первом разделе приведены общие аспекты связывания лигандов (в том числе и металлов) с молекулами различных органических соединений. Рассмотрен процесс гидратации и взаимодействия заряженных частиц и групп в водных растворах.

Во втором разделе приведена информация о строении и функции гемоглобина в организме человека.

Третий раздел посвящен альбумину и его строению и функциям.

В четвертом разделе обсуждаются принципы потенциометрического метода анализа, дано описание ионометрических преобразователей И-500 и Эксперт-001, используемых в работе, а также ионоселективных электродов.

Пятый раздел представляет из себя описание материалов и методики подготовки экспериментальных растворов, которые были использованы в работе.

В шестом разделе приведены результаты исследования.

В настоящей работе исследования были направлены на определение влияния Mg^{2+} на сорбцию K^{+} и Na^{+} гемоглобином и альбумином.

В ходе серии экспериментов готовились восемь растворов, в состав которых входили раствор гемоглобина, растворы солей KCl и $NaCl$ с одинаковой концентрацией и раствор соли $MgCl_2$ с концентрацией, зависящей от номера измеряемого раствора. Концентрация соли $MgCl_2$ в растворах выбиралась согласно таблице 1. Начальной точкой служил раствор, не содержащий ионов магния. Для каждого исследуемого белка измерения проводились потенциометрическим методом в порядке возрастания концентрации магния в растворах.

Таблица 1 – Концентрации ионов магния в исследуемых сериях, полученные при разбавлении маточного раствора соли MgCl_2

№ раствора	1	2	3	4	6	7	8
Объём раствора соли MgCl_2 , мл	0	0,5	1	2	3	5	10
Концентрация раствора соли, моль/л	0	$3,125 \cdot 10^{-3}$	$6,25 \cdot 10^{-3}$	0,0125	0,0188	0,0313	0,0625

При проведении экспериментов соответствующим ионоселективным электродом измерялась концентрация свободных ионов калия и натрия в исследуемых растворах, которая затем вычиталась из исходной концентрации ионов калия и натрия соответственно. В результате получали концентрацию ионов, сорбированных белком. Каждое измерение имело четыре повторения, затем данные усреднялись.

Результаты экспериментальных исследований представлены на рисунках 1 и 2.

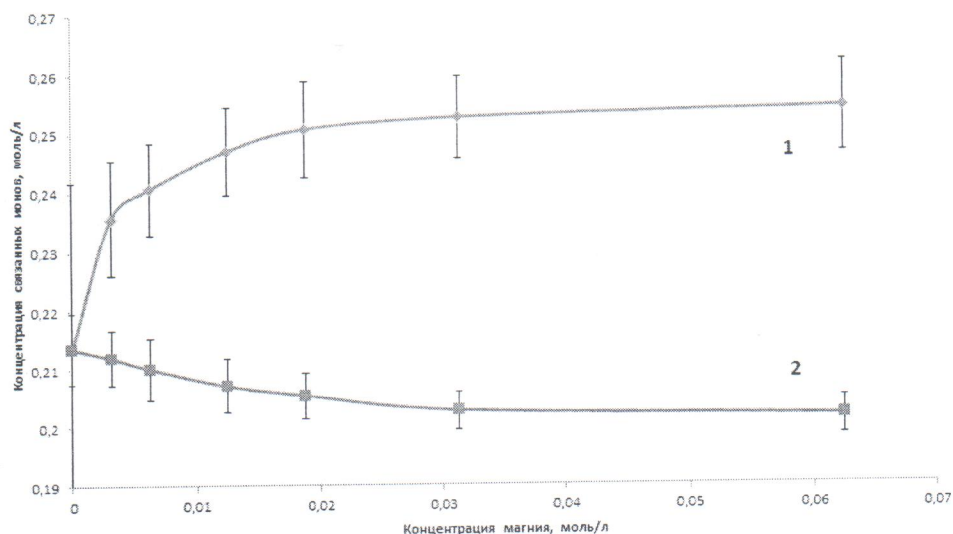


Рисунок 1 – Зависимости концентрации сорбированных ионов K^+ и Na^+ (совместно) гемоглобином при их равной концентрации при различных значениях концентрации Mg^{2+} в растворах: кривая 1 – калий, кривая 2 - натрий.

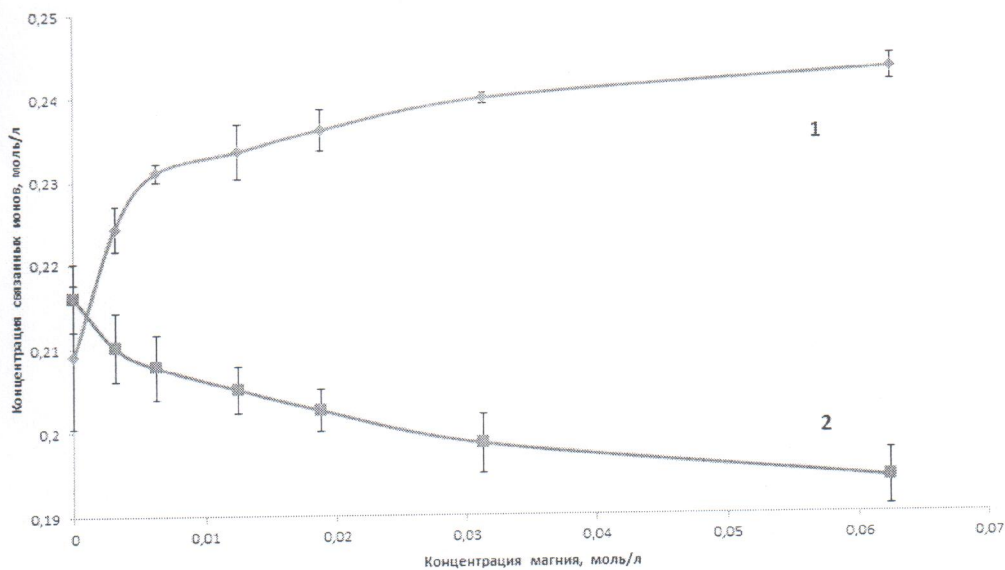


Рисунок 2 – Зависимости концентрации сорбированных ионов K^+ и Na^+ (по отдельности) гемоглобином при различных значениях концентрации Mg^{2+} в растворах: кривая 1 – калий, кривая 2 - натрий.

Из рисунков 1 и 2 видно, что с повышением концентрации магния в растворах, растет количество сорбированных ионов калия на белке, в то время как концентрация сорбированных ионов натрия падает. Характер полученных зависимостей можно объяснить тем, что присутствие обоих ионов K^+ и Na^+ в растворе может влиять на процесс их сорбции

гемоглобином по конкурентному механизму: при наличии доступных карбоксильных групп на поверхности белка увеличение доли сорбированного K^+ будет сопровождаться уменьшением доли сорбированного Na^+ .

В различных литературных источниках приводятся сообщения о том, что магний помогает более полному усвоению калия в организме. Согласно этому предположению может быть объяснено полученное увеличение концентрации сорбированных ионов калия белком, происходящее при наличии ионов магния в растворах.

На рисунке 3 (найденном автором в результате проведения анализа работ по данной проблеме) была представлена зависимость аккумуляции K^+ и вытеснения Na^+ теньями эритроцитов, полученными из отмытых эритроцитов человека. Согласно этим результатам равновесное содержание K^+ в теньях, как и степень вытеснения Na^+ из них, количественно связано с содержанием в них остаточного гемоглобина: чем больше белка, тем больше ионов K^+ в теньях и тем сильнее вытеснение Na^+ из них. В проведенном исследовании количество белка во всех растворах было одинаковым, следовательно, этот факт свидетельствует о том, что увеличение доли сорбированных ионов калия может быть связано только с увеличением концентрации ионов магния в растворах.

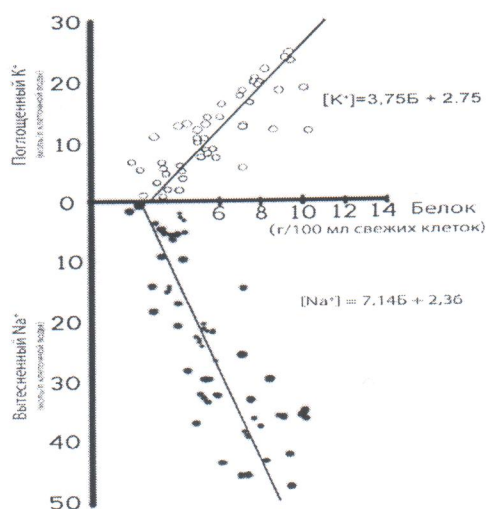


Рисунок 3 – Аккумуляция K^+ и вытеснение Na^+ теньями эритроцитов, полученными из отмытых эритроцитов человека.

Также были проведены исследования, в которых в качестве белка использовался бычий сывороточный альбумин. Растворы готовились аналогичным образом, в тех же объемах и с теми же концентрациями белка и солей, как и в экспериментах с гемоглобином. Измерение концентрации катионов также проводилось потенциометрическим методом в порядке возрастания концентрации магния в растворах.

При проведении экспериментов с альбумином также измерялась концентрация свободных ионов калия и натрия в исследуемых растворах, которая затем вычиталась из исходной концентрации ионов калия и натрия соответственно. В результате получали концентрацию ионов, сорбированных белком. И в этом случае для каждого измерения имелось по четыре повторения с последующим усреднением данных.

Результаты данных экспериментов представлены на рисунках 4 и 5.

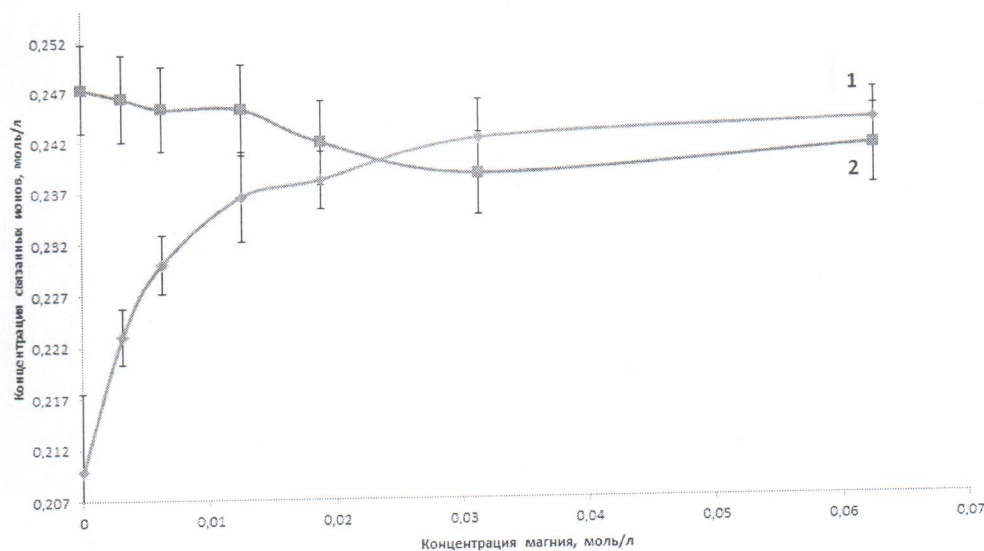


Рисунок 4 – Зависимости концентрации сорбированных ионов K^+ и Na^+ (совместно) альбумином при их равной концентрации при различных значениях концентрации Mg^{2+} в растворах: кривая 1 – калий, кривая 2 - натрий.

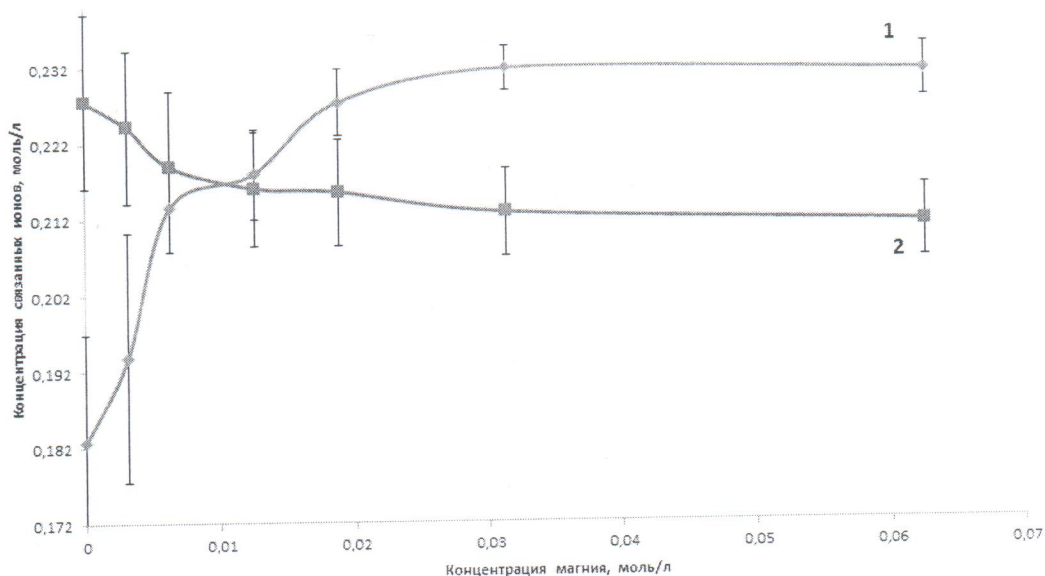


Рисунок 5 – Зависимости концентрации сорбированных ионов K^+ и Na^+ (по отдельности) альбумином при различных значениях концентрации Mg^{2+} в растворах: кривая 1 – калий, кривая 2 - натрий.

В обоих экспериментах, как в контрольном, где ионы K^+ и Na^+ были в растворах по отдельности, так и в опытном, где в растворах присутствовали сразу оба иона, наблюдается идентичная картина: увеличение концентрации связанных ионов калия происходит с уменьшением концентрации связанных ионов натрия на фоне увеличения концентрации магния в растворах.

Из работ других авторов известно, что белковые ферменты имеют свои центры связывания с ионами магния (предположительно не меньше двух центров), что дает возможность выдвинуть гипотезу о некотором действии катионов магния на белки, с которым и связано накопление калия в проведенных экспериментах.

С другой стороны, Г. Линг придерживается иного взгляда на влияние катионов калия и магния друг на друга при процессах их сорбции белками. В своих трудах он утверждает, что влияния K^+ на распределение Mg^{2+} между мышечными клетками и яйцеклетками лягушки и средой показать не удалось, как и заметного влияния Mg^{2+} на распределение ионов K^+ . Но, в то же время, в работах А.С. Трошина можно найти информацию о том, что на примере миозина показано, что накопление ионов калия и магния данным

мышечным белком не происходит независимо друг от друга. И даже более того: ионы магния обладают большим сродством к активным центрам данного белка, чем катионы калия. Однако вопрос о том есть ли подобная взаимосвязь для других белков остается открытым.

Таким образом, учитывая все вышесказанное, можно сказать, что увеличение концентрации связанных ионов калия гемоглобином и альбумином и уменьшение связанных ионов натрия в присутствии магния при совместном нахождении обоих ионов в растворе может быть связано с процессом их сорбции по конкурентному механизму. Однако подобную картину, которую можно было наблюдать при нахождении ионов калия и натрия в растворах по отдельности, этим объяснить нельзя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы проведен анализ современного состояния проблемы влияния катионов магния на процессы сорбции ионов калия и натрия белками. Приведены принципы взаимодействия заряженных частиц в растворах.

Кроме того, изучены основы потенциометрического метода измерения концентраций и принцип работы ионоселективных электродов.

По результатам проведённых экспериментов можно сделать заключение о том, что ионы Mg^{2+} в составе водных растворов белков, когда присутствовали только соль KCl или NaCl, влияют на процесс сорбции K^{+} гемоглобином, увеличивая его долю связывания белком, и почти не влияют на процесс связывания Na^{+} .

В серии других экспериментов, когда в водных растворах белков присутствовали все три иона, имел место механизм конкурентного накопления клеточных катионов белками, и наблюдалось увеличение концентрации сорбированных ионов калия, сопровождаемое уменьшением концентрации сорбированных ионов натрия.

19.06.2017

Ришад