

Table of Contents

	page
LIST OF TABLES	iv
LIST OF PLATES	v
LIST OF FIGURES	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCTION	1
MATERIALS AND METHODS	12
MATERIALS 1. Chemicals	12
2. Animals and Diets	12
METHODS 1. Treatment of animals	13
2. Determination of plasma vitamin E	15
3. H ₂ O ₂ hemolysis test	16
4. Determination of plasma pyruvate kinase activity	18
5. Determination of erythrocytes superoxide dismutase activity	18
6. Fractionation of rabbit liver	20
7. Biochemical assays of various marker enzyme activities	21
8. Preparations of electron microscopic sections of liver heavy mitochondria and microsomes	23
9. Preparation of muscle sarcoplasmic reticulum	23

10. Determination of lipid-requiring enzyme activities	24
11. Effect of temperatures on lipid-requiring enzyme activities	28
12. Measurement of sarcoplasmic reticulum Ca ⁺⁺ -uptake	29
13. Determination of inorganic phosphate contents...	30
14. Determination of protein by Lowry's method	30
RESULTES	
1. Effect of vitamin E on growth	32
2. Effect of vitamin E deficiency on plasma vitamin E level and susceptibility to hydrogen peroxide hemolysis <u>in vitro</u> of rabbit erythrocytes	32
3. Effect of vitamin E deficiency on hematocrit and hemoglobin concentration of rabbit blood ...	33
4. Effect of vitamin E deficiency on erythrocyte superoxide dismutase activity	33
5. Effect of vitamin E deficiency on plasma pyruvate kinase activity	38
6. Specific activities of various marker enzymes in mitochondria and microsomes preparations from rabbit liver	43

7. Effect of vitamin E deficiency on specific activities of lipid-requiring enzymes of rabbit liver mitochondria and microsomes 47

8. Effect of vitamin E deficiency on specific activity of Ca^{++} -ATPase and Ca^{++} -uptake of muscle sarcoplasmic reticulum 49

9. Effect of vitamin E deficiency on temperature of discontinuity in Arrhenius plot of each lipid-requiring enzyme activities of liver mitochondria and microsomes 50

10. Effect of vitamin E deficiency on the apparent activation energies of lipid-requiring enzymes of liver mitochondria and microsomes and muscle sarcoplasmic reticulum 52

DISCUSSION 59

SUMMARY 78

REFERENCES 82

Abstract

The purpose of this investigation is to study the function of vitamin E in the membranes by determining changes in the membrane lipid microenvironments of various lipid-requiring enzymes namely oligomycin-sensitive ATPase and β -hydroxybutyrate dehydrogenase of liver mitochondria, glucose-6-phosphatase and NADH-cytochrome c reductase of liver microsomes as well as Ca^{++} -uptake of muscle sarcoplasmic reticulum. Both significantly increases and decreases in specific activities of these enzymes and Ca^{++} -uptake of muscle sarcoplasmic reticulum were found in the deficient rabbits as compared to the controls. Differences in discontinuity temperatures of all enzymes in the Arrhenius plot between the vitamin E deficient rabbits and the controls were also observed.

It was concluded that there must be changes in the micro environment of these membrane-bound enzymes especially in the lipid composition as a consequence of vitamin E deficiency. Such changes may lead to different fluidity of the microenvironment and may cause conformational changes in these enzymes.

บทย่อ

การทดลองนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาถึงการทำงานของวิตามิน อี ในร่างกาย โดยได้ทำการวิเคราะห์เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงใน activity ของเอนไซม์ต่างๆ ใน mitochondria และ microsomes ของตับและ sarcoplasmic reticulum (SR) ของกล้ามเนื้อในกระต่ายที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ขาดวิตามินอี เอนไซม์ที่ทำการศึกษาคือ oligomycin-sensitive ATPase และ β -hydroxybutyrate dehydrogenase ใน mitochondria ของตับ, glucose-6-phosphatase และ NADH - cytochrome c reductase ใน microsomes ของตับและ Ca^{++} -ATPase ใน SR ของกล้ามเนื้อ

จากผลของการทดลองปรากฏว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญใน activity ของเอนไซม์เหล่านี้รวมทั้งความสามารถในการสะสม Ca^{++} ของ SR ของกล้ามเนื้อ ในกระต่ายที่เลี้ยงให้ขาดวิตามิน อี เมื่อเปรียบเทียบกับกระต่ายที่ได้รับวิตามินอี นอกจากนี้ discontinuity temperature ใน Arrhenius plot ของเอนไซม์ต่างเหล่านี้ในกระต่ายที่ขาดวิตามินอี ก็แตกต่างจากกระต่ายที่ได้รับวิตามิน อี อีกด้วย

ความแตกต่างเหล่านี้พอจะกล่าวสรุปได้ว่า อาจจะเป็นองมาจากมีการเปลี่ยนแปลงในสภาวะแวดล้อมของเอนไซม์ ในส่วนประกอบของลิพิดอันเป็นผลเนื่องมาจากการขาดวิตามิน อี การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใน fluidity ของส่วนประกอบที่อยู่ล้อมรอบและอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของเอนไซม์