

<https://doi.org/10.3176/biol.1978.1.01>

УДК 612.42+591.85

Яан АЛЛИКВЕРЕ

ДИНАМИКА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ КРОВИ И ЛИМФЫ ПРИ ВВЕДЕНИИ ИНСУЛИНА

Наряду с влиянием на углеводный, жировой и минеральный обмены, инсулин действует также на белковый и аминокислотный обмены организма. В основном это сопровождается изменениями в азотистом балансе — увеличением синтеза и замедлением распада тканевых белков, повышением аккумуляции аминокислот в тканях (Haberman, 1950; Крал, 1964; Ренолд, Уайнгрэд, 1964; Wool и др., 1968; Mortimore, Mondon, 1970; Manchester, 1971). Изучены также взаимоотношения между интенсификацией синтеза белка и поглощением аминокислот тканями (Snipes, 1968; Wool и др., 1968; Manchester, 1971).

Интерес представляют и обмен белка между тканями и кровеносной системой под влиянием инсулина и участие в нем лимфатической системы (Айнсон, 1970). Настоящая работа выполнена с целью получить некоторые дополнительные сведения о влиянии инсулина на аминокислотный обмен между тканями и кровеносной системой и определить значения для него лимфатической системы. Для этого проведено параллельно изучение аминокислотного состава лимфы и крови овец до и после однократного введения им инсулина.

На клинически здоровых баранах эстонской темноголовой породы 1,5—2-летнего возраста со средним живым весом 50 кг провели восемь опытов. У животных образовали искусственный хронический экстракорпоральный лимфо-венозный анастомоз между грудным лимфатическим протоком и яремной веной. Инсулин в дозе 2 ЕД на 1 кг живого веса вводили внутримышечно. Пробы крови и лимфы брали до введения и через 1, 2, 3 и 4 ч после введения гормона. На анализаторе аминокислот ААА-881 (ЧССР) из заменимых аминокислот определяли аспарагиновую кислоту, аспарагин, глутаминовую кислоту, глутамин, аланин, глицин, серин, тирозин и пролин, из незаменимых — валин, изолейцин, лейцин, треонин, фенилаланин и метионин. Дисперсионный анализ (Плохинский, 1967) проводили с абсолютными содержаниями (мкг/мл сыворотки) и их относительными (по сравнению с исходными) показателями в крови и лимфе (достоверность результатов обозначали соответственно P_1 и P_2). Таким же образом обрабатывали данные о лимфо-кровных соотношениях концентраций ($C_L : C_S$). Дополнительно относительные показатели обмена аминокислот совокупно подвергали статистической обработке по двухфакторному дисперсионному анализу. Одним фактором аналогично однофакторному дисперсионному анализу служило время, вторым фактором — тип аминокислоты, по которому определяли различие между динамиками показателей отдельных аминокислот.

Свободные аминокислоты в сыворотке крови овец

Аминокислота	До введения препарата, мкг/мл	После введения препарата через, % от исходного уровня			
		1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Аспарагиновая кислота	1,02±0,11	110±13	104±13	89±13	88±13
Аспарагин*	4,12±0,34	76±11	83±11	70±11	76±11
Глутаминовая кислота*	13,2±0,9	96±5	104±5	83±5	78±5
Глутамин	16,0±1,8	103±7	95±7	90±7	90±7
Аланин*	13,3±1,8	94±4	92±4	82±4	78±4
Глицин*	31,1±1,9	102±7	86±7	72±7	74±7
Серин*	8,60±0,67	96±6	97±6	78±6	70±6
Тирозин*	11,0±0,8	91±6	96±6	81±6	69±6
Пролин	10,6±1,4	112±20	136±20	83±20	90±20
Валин	26,3±2,0	88±7	97±7	79±7	81±7
Изолейцин*	12,2±0,9	86±6	96±6	75±6	75±6
Лейцин*	13,2±1,2	83±6	88±6	68±6	61±6
Треонин*	9,45±1,13	91±6	90±6	75±6	71±6
Фенилаланин*	9,44±0,69	90±5	98±5	76±5	71±5
Метионин*	3,58±0,31	88±8	89±8	72±8	74±8
Совокупно* (%)	100±2	94±2	97±2	78±2	76±2

Примечание.* — изменения в течение опыта были статистически достоверными ($P < 0,05$).

кислот. Изменчивость результатов анализировали подробнее по тестам (Sokal, Rohlf, 1969).

По дисперсионному анализу значимые изменения в содержании показывали девять аминокислот крови из 15 определенных (табл. 1): из заменимых — глутаминовая кислота ($P_1 < 0,05$; $P_2 < 0,01$), аланин ($P_2 < 0,01$), глицин ($P_1 < 0,01$; $P_2 < 0,05$), серин ($P_1 < 0,05$; $P_2 < 0,01$) и тирозин ($P_1 < 0,05$; $P_2 < 0,01$), из незаменимых — изолейцин ($P_1 < 0,05$; $P_2 < 0,01$), лейцин ($P_1 < 0,05$; $P_2 < 0,001$), треонин ($P_2 < 0,01$) и фенилаланин ($P_1 < 0,05$; $P_2 < 0,001$). Почти у всех аминокислот изменения оказались наибольшими между исходной и конечной концентрациями, т. е. через 4 ч после введения гормона (SNK-тест), причем это выразилось в снижении. У глицина в абсолютном его содержании обнаружена наибольшая разница между исходной концентрацией и концентрацией через 3 ч (от 31,1 до 22,3 мкг/мл), а в относительных показателях разница была наибольшая через 1 и 3 ч (от 102 до 72% по сравнению с исходным уровнем) после введения животным гормона. К концу опыта содержание лейцина достигало 61, тирозина — 69, серина — 70, треонина и фенилаланина — 71, глицина — 74, изолейцина — 75 (также и на третий час опыта) и глутаминовой кислоты и аланина — 78%. Дополнительно установлено (SS-STP-тест), что у всех названных аминокислот (кроме глицина) наиболее существенное снижение концентраций отмечается между вторым и третьим (у глицина между первым и вторым) часом опыта. С помощью априорного теста выявлено, что после введения гормона содержание отмеченных выше аминокислот, а также аспарагина и метионина в крови понижено. Аналогичные изменения выявлены в совокупном содержании аминокислот в крови ($P_2 < 0,001$).

По второму фактору (тип аминокислоты) установлено, что динамика содержания аспарагиновой кислоты статистически достоверно отличалась от динамик содержания лейцина и аспарагина, и динамика содер-

жания пролина отличалась от динамик содержания остальных аминокислот (кроме аспарагиновой и глутаминовой кислот и глутамина).

Изменения в аминокислотном спектре лимфы не отличались такой существенностью, как в аминокислотном спектре крови (табл. 2). По

Таблица 2

Свободные аминокислоты в сыворотке лимфы овец

Аминокислота	До введения препарата, мкг/мл	После введения препарата через, % от исходного уровня			
		1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Аспарагиновая кислота	1,50±0,16	110±11	89±10	87±10	80±10
Аспарагин	5,37±0,60	96±16	102±15	89±15	74±15
Глутаминовая кислота*	12,5±0,8	85±10	86±9	89±9	71±9
Глутамин	19,8±2,0	89±12	85±11	74±11	83±11
Аланин	14,9±1,3	88±10	90±9	94±9	80±9
Глицин*	33,1±1,6	88±10	89±10	91±10	78±10
Серин	11,2±1,2	97±9	89±8	92±8	72±8
Тирозин	12,2±1,0	89±9	92±9	92±9	70±9
Пролин	11,0±1,4	94±34	121±32	131±32	119±32
Валин	30,3±2,6	88±10	87±9	95±9	75±9
Изолейцин*	14,8±0,9	83±11	82±10	89±10	71±10
Лейцин*	17,8±1,1	86±11	78±10	88±10	68±10
Треонин	14,2±1,7	101±13	88±12	101±12	79±12
Фенилаланин*	11,3±0,6	95±8	93±8	94±8	76±8
Метионин*	4,40±0,37	78±10	78±9	71±9	67±9
Совокупно* (%)	100±3	91±4	90±3	92±3	77±3

дисперсионному анализу статистически достоверные изменения концентраций из заменимых аминокислот отмечены у глутаминовой кислоты и глицина, из незаменимых — у изолейцина, лейцина, фенилаланина и метионина (у всех $P_1 < 0,05$).

Содержание этих аминокислот лимфы снижалось наибольшим образом в конце опыта (SNK-тест). Так, уровень метионина опускался до 67, лейцина — до 68, глутаминовой кислоты и изолейцина — до 71, фенилаланина — до 76 и глицина — до 78% от исходного. С помощью априорного теста выявлено, что указанные выше аминокислоты характеризуются пониженным содержанием в лимфе после введения гормона. У фенилаланина установлено более существенное снижение концентрации после 3-го ч опыта (SS—STP-тест). В совокупном содержании аминокислот в лимфе выявлены изменения, аналогичные изменениям фенилаланина ($P_2 < 0,001$).

По второму фактору (тип аминокислоты) установлено, что динамика содержания пролина в лимфе существенно отличалась от динамик содержания остальных аминокислот.

С помощью дисперсионного анализа в лимфо-кровном соотношении концентраций отдельных аминокислот, кроме лейцина ($P_2 < 0,05$), статистически существенной изменчивости не обнаружено (табл. 3). Достоверное повышение в соотношении концентраций лейцина отмечалось со второго по третий час опыта (от 89 до 128% по сравнению с исходным). Анализ совокупного соотношения концентраций показал, что в ходе опыта оно существенно изменилось ($P_2 < 0,01$), т. е. через 3 ч после введения гормона достигало 122% исходного уровня.

Таким образом, по результатам видно, что в крови после 2-го ч опыта и в лимфе после 3-го аминокислотный уровень снижается существенно, чем в начале опыта. В течение часа (с 1 по 2 ч опыта) в крови

Таблица 3

Коэффициент концентрации аминокислот

Аминокислота	До введения препарата ($C_L : C_S$)	После введения препарата через, % от исходного уровня			
		1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
Аспарагиновая кислота	1,63±0,27	122±32	111±30	103±30	121±30
Аспарагин	1,32±0,27	127±28	137±26	137±26	106±26
Глутаминовая кислота	0,96±0,08	85±11	83±10	108±10	93±10
Глутамин	1,37±0,19	90±13	90±12	85±12	92±12
Аланин	1,07±0,13	95±10	98±9	114±9	101±9
Глицин	1,10±0,10	88±13	110±12	124±12	106±12
Серин	1,29±0,11	101±13	98±12	120±12	106±12
Тирозин	1,14±0,14	97±7	95±7	115±7	104±7
Пролин	1,13±0,19	88±47	136±44	179±44	127±44
Валин	1,17±0,11	103±15	92±14	124±14	99±14
Изолейцин	1,17±0,13	98±12	86±11	119±11	98±11
Лейцин*	1,39±0,16	104±9	89±8	128±8	114±8
Треонин	1,61±0,26	107±12	99±11	134±11	112±11
Фенилаланин	1,22±0,12	104±9	97±9	126±9	109±9
Метионин	1,24±0,17	92±19	97±18	108±18	94±18
Совокупно* (%)	100±5	100±5	101±5	122±5	106±5

и двух часов (с 1 по 3 ч опыта) в лимфе концентрации аминокислот остаются сравнительно стабильными.

Снижение содержания аминокислот в крови и лимфе объясняется в основном антикатаболическим и анаболическим действием инсулина на белки и повышением аккумуляции аминокислот в мышечной ткани (Крал, 1964; Ренолд, Уайнгрэд, 1964; Snipes, 1968; Wool и др., 1968; Manchester, 1971 и др.).

Однако различие сдвигов в содержании аминокислот между кровью и лимфой с некоторой вероятностью можно объяснить изменениями протеолитической активности крови и лимфы (Солль, 1974). Под влиянием инсулина повышается протеолитическая активность крови и лимфы. Интересно отметить, что максимумы протеолитической активности и соотношения концентраций (совокупное и лейцина) совпадают (через 3 ч после введения животным инсулина). Очевидно, в лимфе запаздывание в снижении содержания аминокислот по сравнению со снижением в крови примерно на один час в некоторой степени обусловлено более высокой протеолитической активностью лимфы. Так, в ранние сроки после введения гормона на уровень аминокислот в крови и лимфе в основном влияют, с одной стороны, антикатаболическое и анаболическое действие инсулина на тканевые белки, с другой, повышенная протеолитическая активность, удерживающие концентрации аминокислот на сравнительно стабильном уровне. Снижение содержания аминокислот в крови после второго часа опыта дает основание предполагать, что, по-видимому, влияние первого фактора на аминокислоты крови превосходит влияние второго (протеолитическую активность). После третьего часа, т. е. после максимума протеолитической активности, аминокислотный уровень падает и в лимфе.

Предполагается, что повышение протеолитической активности крови берет начало из лимфы (Солль, 1974). Кроме того, лимфа грудного протока в основном происходит из кишечника (Jacobs, Largis, 1969; 70—80% — у жвачных, Aliyev, 1975). Видимо, отмеченные (Солль, 1974) сдвиги в протеолитической активности крови и особенно лимфы могут указывать на аналогичные изменения в активности действия про-

теолитических ферментов в кишечнике. Последняя в свою очередь влияет на перевариваемость белков рациона в кишечном тракте и, по-видимому, на резорбцию из него в кровь и лимфу аминокислот (установлено, что в лимфе появляются как аминокислоты, так и белки, в синтезе которых участвуют аминокислоты рациона (Jacobs, Largis, 1969)). В связи с этим можно предположить, что, видимо, инсулин не только влияет на утилизацию аминокислот для белкового синтеза, но и создает условия для большего снабжения организма из кишечного тракта белковыми веществами. Последнее имеет немаловажное значение в регуляции белкового обмена у сельскохозяйственных животных.

На изменение обмена аминокислот в исследуемых жидкостях могут действовать и изменения в активности ферментов аминокислотного метаболизма как в печени (Holten, Kenney, 1967; Brown, Civen, 1969), так и в мышечной ткани (Manchester, Krahl, 1959). Более значительное снижение уровня некоторых аминокислот крови и лимфы, по-видимому, вызвано аминокислотным составом образовавшихся тканевых белков овец или превращением аминокислот в тканях. Кажется, что установленные различия между динамиками содержания аминокислот в крови и лимфе связаны с действием ферментов аминокислотного метаболизма или с иным характером возможного нарушения соотношения между утилизацией аминокислот в организме и их резорбцией из кишечного тракта под влиянием инсулина.

Имеется возможность, что вызванные инсулином изменения в уровне белка (Троицкая, 1968; Айнсон, 1970) и аминокислот в крови и лимфе взаимосвязаны.

Таким образом, однократное внутримышечное введение интактным овцам инсулина в дозе 2 ЕД/кг вызывает у них в крови и лимфе существенное снижение уровня аминокислот, а также повышение лимфо-кровного соотношения их концентраций. Вероятными причинами этого могут быть антикатаболическое и анаболическое действие инсулина на тканевые белки, возможные изменения в активности протеолитических ферментов в кишечном тракте и энзимов аминокислотного метаболизма в тканях, а также сдвиги в содержании белка в крови и лимфе.

ЛИТЕРАТУРА

- Айнсон Х. Х., 1970. Сравнительная характеристика состава лимфы у кур и овец и влияние на него некоторых факторов. Дис. докт. биол. наук. Таллин.
- Крал М., 1964. Инсулин и белковый обмен. В кн.: Диабет. М. : 106—112.
- Плохинский Н. А., 1967. Алгоритмы биометрии. М.
- Ренолд А., Уайнгрэд А., 1964. Действие инсулина. Влияние на отдельные ткани. В кн.: Диабет. М. : 113—129.
- Солль М., 1974. Изучение у овец протеолитической активности крови и лимфы в норме и при введении инсулина. Мат. симпозиума по регуляции ферментных систем гормонами щитовидной железы и надпочечников. Таллин : 110—113.
- Троицкая Н. А., 1968. Влияние инсулина на восстановление белков плазмы после кровопотери. Патол. физиол. и эксперим. терапия 12 (2) : 26—29.
- Aliyev, A. A., 1975. A lymph flow and transport of substances in ruminants. Abstracts V Intern. Congr. of lymphology, March 23—29, 1975. Buenos Aires, Rio de Janeiro : 228—229.
- Brown, C. B., Civen, M., 1969. Control of rat liver aromatic amino acid transaminases by glucagon and insulin. Endocrinology 84 (2) : 381—385.
- Hoberman, H. D., 1950. Endocrine regulation of amino acid and protein metabolism during fasting. Yale J. Biol. Med. 22 : 341—368.
- Holten, D., Kenney, F. T., 1967. Regulation of tyrosine- α -ketoglutarate transaminase in rat liver. VI. Induction by pancreatic hormones. J. Biol. Chem. 242 (19) : 4372—4377.
- Jacobs, F. A., Largis, E. E., 1969. Transport of amino acids via the mesenteric lymph duct in rats. Proc. Soc. Exptl Biol. Med. 130 (3) : 692—696.

- Manchester, K. L., Krahl, M. E., 1959. Effect of insulin on the incorporation of C^{14} from C^{14} -labelled carboxylic acids and bicarbonate into the protein of isolated rat diaphragm. *J. Biol. Chem.* **234** (11) : 2938—2942.
- Manchester, K. L., 1971. Regulation by insulin of protein and amino acid metabolism. In: Francis J., Gilliland J., The scientific bases of medicine annual reviews. Univ. of London : 178—191.
- Mortimore, G. E., Mondon, C. E., 1970. Inhibition by insulin of valine turnover in liver. *J. Biol. Chem.* **245** (9) : 2375—2383.
- Snipes, C. A., 1968. Effects of growth hormone and insulin on amino acid and protein metabolism. *Quart. Rev. Biol.* **43** : 127—147.
- Sokal, R. R., Rohlf, F. J., 1969. *Biometry*. San Francisco.
- Wool, I. G., Stirewalt, W. S., Kurihara, K., Low, R. B., Bailey, P., Oyer, D., 1968. Mode of action of insulin in the regulation of protein biosynthesis in muscle. *Recent Progr. Hormone Res.* **24** : 139—208.

*Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
29/IV 1977

Jaan ALLIKVERE

VERE JA LÜMFI VABADE AMINOHAPETE DÜNAAMIKA INSULIINI MANUSTAMISE KORRAL

Resümee

Uuriti insuliini (2 T \bar{U} /kg) mõju kunstliku lümfovenoosse anastomoosiga lammaste kaelaveeni vere- ja rinnajuha lümfiseerumi vabade aminohapete sisaldusele. Nihked vere ja lümfi aminohapete kontsentratsioonid seletuvad hormooni toimega valgu sünteesile, proteolüütilistele ja aminohapete fermentide aktiivsusele ning vere ja lümfi valgusisaldusele.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut*

Toimetusse saanud
29. IV 1977

Jaan ALLIKVERE

DYNAMICS OF FREE AMINO ACIDS OF BLOOD AND LYMPH, INDUCED BY INSULIN

Summary

The present paper deals with the influence of a single administration of insulin (2 U/kg of body weight) on free amino acids of the blood and lymph of sheep from the jugular vein and the thoracic duct, respectively.

The concentration of amino acids decreased in the blood and lymph (in the latter about 1 h later). This may be explained by the effects of the hormone on the protein metabolism, on the activity of the proteolytic and amino acids metabolism enzymes, and on the protein levels in the blood and lymph.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology*

Received
April 29, 1977