

С. С. ОГАНЕСЯН

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ИНСУЛИНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕГО ДОЗЫ

Железы внутренней секреции являются важным звеном рефлекторной регуляции функций организма в процессе уравнивания его деятельности с окружающей средой. Гуморальная регуляция, возникшая на ранних этапах развития животного мира, до сих пор не потеряла своего большого значения для организма и под влиянием нервной системы приобрела более совершенный характер. Взаимодействие нервной системы с железами внутренней секреции является одним из главных факторов регуляции обмена веществ. На тесную связь нервных и гуморальных факторов в адаптационных процессах указывают многочисленные работы советских и зарубежных авторов. За последние годы получено огромное количество фактов о выработке условно-рефлекторных связей на инкреторные органы и об обязательном участии некоторых желез внутренней секреции в осуществлении регуляторных влияний высших центров нервной системы на обмен веществ.

Однако до сих пор еще недостаточно изучен вопрос о количествах выделяемых в кровь гормонов, в частности инсулина. Выясняя биохимическую сторону действия инсулина и значение нервной системы в реализации его действия на углеводный обмен, многие исследователи совершенно не затрагивают вопроса о количестве инсулина, выделяемого в кровь в различных условиях существования организма.

Мало исследован также вопрос чувствительности к инсулину, которая имеет особенно большое значение для клинической практики. Некоторые исследователи указывают, что у диабетиков чувствительность к инсулину варьирует в весьма широких пределах. Согласно Грей и Бертнес [1], введение 0,01 единицы инсулина на кг веса больным диабетом вызывает падение уровня глюкозы в крови значительно больше, чем у здоровых людей; больные же гипогликемией дают падение меньше, чем в норме. Беккер и Селлерс [2] указывают, что при низкой температуре в окружающей среде действие инсулина на организм усиливается. Весьма интересно сообщение Сомалайнен [3] о том, что у зимне спящих животных (еж) летом, после некоторого охлаждения тела подкожное введение инсулина вызывает спячку.

Многие авторы обращают внимание на различную чувствительность отдельных индивидов к инсулину. Как указывает А. Т. Кэмерон [4], Коллинсом для объяснения этого явления выдвинут принцип обратной чувствительности к вводимым гормонам. Согласно Коллинсу, чувствительность к данному гормону обратно пропорциональна содержанию или продукции гормона в собственной железе. Недавно А. Г. Лейбсон [5] изучил зависимость между чувствительностью к инсулину и нервным типом животного, однако ему не удалось установить определенной связи между ними.

Значительно затруднено определение количества инсулина, циркулирующего в крови, из-за отсутствия количественного химического метода его определения. Применяемый в последние годы меченый инсулин (с радиоактивным иодом), дает возможность определить количество связанного инсулина в различных органах и тканях, однако этот метод еще не приспособлен для определения количества инсулина в крови.

Собственные исследования и их обсуждение

В связи с изучением зависимости между нервным типом животного и его чувствительностью к инсулину, проводившегося в секторе биохимии Института физиологии Академии наук АрмССР, перед нами была поставлена задача: выявить те „пороговые“ дозы инсулина, которые при внутривенном введении способны вызвать отчетливую гипогликемию. В наших исследованиях для оценки действия инсулина на организм, кроме колебания гипогликемической кривой, изучались также количество глутатиона и аскорбиновой кислоты в крови.

Первоначально были проведены контрольные опыты, где взамен инсулина в яремную вену вводился физиологический раствор.

Глюкоза в крови определялась по методу Иватэке в модификации Дюмазера [6], которая дает возможность осаждать другие восстанавливающие вещества, титруемые при методе Хагедорна-Иенсена, как сахар. Аскорбиновая кислота определялась по М. М. Эйдельман и Ф. Л. Гордон [7], а восстановленный глутатион — по Вудвард-Фрея [8]. Собакам вводился физиологический раствор натощак, через 14—16 часов после еды.

Определение исследуемых веществ производилось до инъекции и через 20,40 минут после нее.

Как показали контрольные опыты, внутривенное введение физиологического раствора не отражается на количестве исследуемых веществ в крови (табл. 1). Их колебания находятся в пределах ошибки метода.

После контрольных опытов был применен инсулин в возрастающих дозах, начиная от 0,01 единицы на вес животного. Опыты ставились на собаках через день. Инсулин разбавлялся в физиологическом растворе; смесь вводилась внутривенно в количестве 1 см³. По-

Таблица 1
Влияние внутривенного введения 1 см³ физиологического раствора на количество глюкозы, SH-глутатиона и аскорбиновой кислоты (в мг %)о)

Клички собак	До введения физиологического раствора			После введения физиологического раствора на 10 минуте		
	глюкоза	SH-глутатион	аскорбиновая кислота	глюкоза	SH-глутатион	аскорбиновая кислота
Пугливый	63	21	1,07	64	21	1,14
Севук	63	34,9	0,7	67	33,7	0,65
Меланхолик	66	25,7	0,72	64	25,1	0,72
Бобик	68	31,8	0,79	66	31,1	0,77
Овчарка	64	30	0,64	68	31,1	0,71

роговые количества инсулина, способного вызвать гипогликемию, для подопытных собак были следующие:

Бобик	—0,05 ед. на весь живой вес (16 кг)
Пугливый	—0,45 ед. " (16,5 кг)
Севук	—0,40 ед. " (20 кг)
Меланхолик	—0,20 ед. " (14 кг)
Овчарка	—0,25 ед. " (21 кг)

Эти количества инсулина в десятки раз меньше тех доз, которые применяются многими исследователями в их опытах по изучению действия инсулина на организм. Так, например, С. В. Захаров [9] применял 1,5—2,0 ед. инсулина на кг живого веса, Н. Н. Яковлев [10]—3,0—4,0 ед. на кг веса, Бинкли [11]—1,5—2,0 ед. на кг веса, З. И. Казмирова [12]—2,0 ед. инсулина на кг веса животного.

Недавние работы американских авторов Беста и Тейлора [13] указывают, что для поддержания уровня глюкозы в норме в течение часа у собак с удаленной поджелудочной железой необходимо в среднем от 0,005 до 0,035 ед. инсулина на кг веса животного. Сопоставляя с этим наши данные, нетрудно увидеть, что найденные нами „пороговые“ количества инсулина, вызывающие гипогликемию при пересчете на кг веса дают подобные цифры. Как в опытах Беста и Тейлора, так и в наших, уже на 40-й минуте после введения инсулина наблюдается исчезновение его эффекта. Поэтому нам кажется вероятным, что „пороговые“ дозы инсулина, установленные нами экспериментально, приблизительно соответствуют тому количеству инсулина, которое выделяется (импульсивно или постоянно) поджелудочной железой в кровь при нормальных физиологических условиях.

Вопрос об определении количеств инсулина, выделяемых в кровь, тесно связан с изучением одного важного свойства инсулина — свойства скачкообразного действия. Это очень важно также для изучения тех сдвигов в обмене веществ, которые наступают при действии инсулина.

В последние годы накопились многочисленные данные, говорящие о нелинейной зависимости гипогликемического эффекта инсулина

от его количества, вводимого в кровь. Бест и Тейлор [13] приводят данные о том, что одна единица инсулина дает половину эффекта 26 единиц. В наших опытах был изучен этот вопрос. Как показано в таблице 2, двукратное и большее увеличение пороговой дозы инсулина не давало соответственной гипогликемии. Действие инсулина проявляется скачкообразно, сразу.

В последнее время опытным путем (А. М. Лейтис и др. [14]) была показана возможность рефлекторной гипогликемии при действии инсулина изолированно на хеморецепторы каротидного синуса. Можно допустить, что „первый удар“ инсулин производит по хеморецепторам.

Таблица 2

Действие различных доз инсулина на количество глюкозы в крови в мг⁰/₀

Клички собак	Дата	Количество инсулина в ед.	Глюкоза до введения инсулина	Глюкоза после введения инсулина		Доза
				на 20 мин.	на 40 мин.	
Бобик	29/XII 1953 г.	0,03	65	65	70	под порог
	8 I 1954 г.	0,05	72	65	61	порог
	13/I 1954 г.	0,05	67	60	54	порог
	6/I 1954 г.	0,1	68	56	57	порог × 2
	4/I 1954 г.	0,2	69	54	—	порог × 4
Пугливый	10/I 1954 г.	0,1	66	72	72	
	4/II 1954 г.	0,2	56	58	60	под порог
	15/II 1954 г.	0,4	55	58	51	под порог
	5/I 1954 г.	0,5	61	43	49	порог
	23/XI 1953 г.	1,0	63	43	44	порог × 2

Для таких представлений очень важным являются данные с применением меченого инсулина (инсулин- j^{131}). Опытами на изолированной диафрагме Стеди, Хугард и Хиллс [15] показали, что после 15 минут находящийся в среде инсулин перестает связываться с тканью диафрагмы, но изменение обмена глюкозы держится довольно долго. Таким образом, существует определенная степень насыщения инсулином тканей, дальше которой инсулин не связывается. Конечно, было бы интересно изучить связывание инсулина рецепторами кровяного русла и тканей, однако таких методов еще нет.

При резком увеличении количества вводимого в организм инсулина, видимо, он начинает действовать достаточно сильно непосредственно и на ряд органов, в частности, как показали Стеди, Хугард и Вейган [16], он связывается очень интенсивно в печени, почках и лейкоцитах.

Если в отношении организма четко проявляется скачкообразное действие инсулина, то, как показали опыты Стеди, Хугард и Вейган [16], на изолированных органах (диафрагма) между синтезом гликогена и связыванием тканью инсулина имеется линейная зависимость.

В последние годы американскими авторами, в частности Бестом и Тейлором [13], выдвигается положение о том, что гипогликемический эффект инсулина — простая логарифмическая функция его дозы. Однако очень часто совершенно разные дозы вызывают одинаковый эффект, и одни и те же количества инсулина вызывают гипогликемию разных степеней. Эффект инсулина является результатом взаимодействия организма и вводимого инсулина, где первенствующая роль, безусловно, принадлежит организму. В организме имеется ряд рефлекторных механизмов, участвующих в регуляции эффекта инсулина. Состояние контринсулярного аппарата (надпочечники, гипофиз), реактивность поджелудочной железы к наступающему уменьшению глюкозы в крови, реакция центральной нервной системы и т. д. играют большую роль в осуществлении эффекта инсулина. Недавние работы Дунера [17] показали, что количество глюкозы в крови является одним из главных факторов в выделении адреналина надпочечниками. С другой стороны, Андерсон и Лонг [18], а также другие авторы, указывают, что уменьшение уровня глюкозы в крови вызывает уменьшение выделения инсулина, а гипергликемия, наоборот, стимулирует этот процесс. Таким образом, вызванная инсулином гипогликемия в свою очередь является раздражителем ряда функциональных систем, тормозящих дальнейшее падение сахара в крови. В зависимости от реактивности и функциональной мобильности контринсулярных аппаратов, видимо, и зависит эффект инсулина на организм. Все это делает вероятным ту мысль, что как чувствительность к инсулину, так и зависящее от нее скачкообразное усиление его эффекта определяется сложностью целостного ответа организма.

Предпринятое нами специальное исследование разных компонентов ответной реакции организма к инсулину показало, что различные звенья обмена веществ также обладают разной „чувствительностью“, реактивностью к инсулину. Как выяснилось в опытах у 10 собак, инсулин, введенный внутривенно в количествах ниже „пороговых“ (определенных по гипогликемии), не вызывая никаких видимых сдвигов в количестве глюкозы крови, довольно отчетливо изменяет количество SH-глутатиона и аскорбиновой кислоты (табл. 3).

Таблица 3

Дозы инсулина (в единицах на живой вес), требуемые для изменения количества глюкозы, SH-глутатиона и аскорбиновой кислоты

Клички собак	Глюкоза	SH-глутатин	Аскорбиновая кислота
Бобик	0,05	0,03	0,03
Овчарка	0,25	0,05	0,05
Меланхолик	0,2	0,1	0,1
Пугливый	0,45	0,2	0,3
Севук	0,4	0,1	0,3
Рыжик	0,2	0,05	0,05

Следовательно, независимо от гипогликемии инсулин способен вызвать сдвиги в других звеньях обмена веществ, причем для этого необходимо его весьма малое количество. В вышедшей недавно статье итальянских исследователей — Паскуанелли и Калциолари [19] — подтверждается этот факт в отношении действия инсулина на количество аминокислот в крови.

Одновременно наши опыты показали, что инсулин в „подпороговых“ и „пороговых“ дозах вызывает уменьшение SH-глутатиона, а в „сверхпороговых“ дозах, как это показано Бинкли [11] и нами, С. С. Оганесян, В. Б. Егиян [20] и другими авторами, приводит к увеличению SH-глутатиона (табл. 4). Такой эффект четко выражен у 7 собак из 10. Иначе говоря, направление изменения молекулярного состояния глутатиона меняется в зависимости от дозы инсулина.

Важно также тот факт, что при применении больших доз инсулина наступающая гипогликемия сопровождается судорогами, одышкой, сонливостью, что неоднократно мы наблюдали в наших опытах с большими дозами инсулина (0,5—1 ед. на кг веса). Наступающая длительная гипогликемия также вызывает нарушение питания мозга с усилением тормозных процессов, как это показали В. Г. Баранов, С. П. Пышина, Е. Н. Сперанская [21], Э. Гелльгорн [22], что, видимо, и является причиной неудач при выработке условного рефлекса на инсулин некоторыми авторами. Изменения реактивности мозга к различным влияниям при сильной инсулиновой гипогликемии может нарушить также

Таблица 4

Динамика изменений количества SH-глутатиона (в мг %) в крови при различных дозах инсулина, введенного внутривенно (собака Пугливый)

Инсулин в ед. на жив. вес	Время	SH-глутатион	Доза
0,2	0'	30,7	под порог
	20'	28,1	
	40'	27,6	
0,45	0'	32,8	порог
	20'	28,7	
	40'	29,3	
1,0	0'	28,8	порог × 2
	20'	35,5	
	40'	31,2	
1,0	0'	28,0	порог × 2
	20'	32,0	
	40'	28,2	

регуляцию взаимодействия эндокринных желез и, вообще, динамическое равновесие организма со средой, которое может выражаться изменением качества и количества включаемых в приспособительный процесс различных звеньев ответной реакции организма.

Недавними нашими исследованиями (которые будут изложены в отдельной статье) был установлен также факт о разной „чувствительности“ отдельных звеньев дыхательной деятельности организма к действию инсулина. При одновременном исследовании карбоангидразной, каталазной активности и SH-глутатиона в крови, с одной стороны, и глюкозы, количества эритроцитов, дыхательной функции легких, с другой, мы наблюдали, что от весьма малых доз инсулина уже происходит значительное изменение активности каталазы и карбоангидразы, уменьшение SH-глутатиона, когда изменения в других исследуемых компонентах не проявляются. При введении же больших доз инсулина активность карбоангидразы резко падала.

Поэтому можно считать, что введение больших „сверхпороговых“ доз инсулина в кровь для выяснения механизма его действия может внести патологический элемент в эксперимент и скорее служить раскрытию фармакодинамики действия такой дозы, чем физиологических механизмов.

Учитывая влияние инсулина также на работу желудочно-кишечного тракта, кровообращение, деятельность почек, необходимо обратить внимание на применение доз инсулина, вызывающих разнокачественную ответную реакцию. Этот вопрос, особенно в клинике, нуждается в серьезном изучении.

Приведенные в настоящей статье экспериментальные данные о зависимости действия инсулина на организм от его количества, может быть, смогут служить причиной для дальнейших исследований по практическому использованию инсулина. Быть может, станет возможным, применяя различные количества инсулина, избирательно воздействовать на те или иные звенья обмена веществ, на отдельные компоненты физиологических функций, нарушенных при различных заболеваниях.

В ы в о д ы

1. Гипогликемическое действие инсулина не растет параллельно его дозе. Для отдельных собак существует определенная пороговая доза инсулина, ниже которой он не вызывает гипогликемии. Это количество инсулина в десятки раз меньше тех, которые применялись и применяются многочисленными авторами для изучения его действия на организм.

2. Разные функциональные системы организма и отдельные звенья обмена веществ проявляют неодинаковую реактивность к инсулину.

Ս. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՑԱՆ

ԻՆՍՈՒՐԻՆԻ ՏԱՐԲԵՐ ՔԱՆԱԿՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

Մինչև այժմ բազմաթիվ հեղինակներ, ենթատամոքսային գեղձի հորմոն՝ ինսուլինի ազդեցություն ճանապարհները ուսումնասիրելիս, օգտագործում են 1—2 միավոր ինսուլին կենդանու մեկ կիլոգրամ քաշի նկատմամբ: Ինչպես ցույց են տվել մեր փորձերը, ինսուլինի այդպիսի քանակները արյան շաքարի հանդեպ ունենում են նույնպիսի ազդեցություն, ինչպես նրա տասնյակ անգամ փոքր քանակները (0,05—0,2 միավոր):

Տարրեր շների մոտ ստացվել են ինսուլինի առանձին, այսպես կոչված, «շեմ քային» քանակներ, որոնք առաջացնում են ցայտուն հիպոգլիկեմիա: Համաձայն մեր փորձերի, ինսուլինի հիպոգլիկեմիկ էֆեկտը չի աճում նրա քանակին զուգահեռ «շեմ քային» դոզան և նրա կրկնապատկված կամ քառապատկված քանակը առաջացնում են նույնանման հիպոգլիկեմիա:

Ինսուլինի «ենթաշեմ քային» քանակները, չնայած չեն փոփոխում շաքարի քանակը արյան մեջ, բայց բավական մեծ ազդեցություն ունեն օրգանիզմում կատարվող մյուս երևույթների վրա: Արյան մեջ գտնվող C-փրամինի և վերականգնված գլուտատիոնի քանակը բավական փոփոխվում է աննշան չափերով ինսուլին ներարկելուց: Պետք է ենթադրել ներվային ճանապարհի զգալի դերը ինսուլինի ազդեցությունը իրագործելու մեջ:

Մեր փորձերը թույլ են տալիս կզրակացնելու, որ օրգանիզմում կան ափելի սեակաթիվ, «զգայուն» օղակներ, որոնք ամենից առաջ և շուտ են պատասխանում ինսուլինին, քան շաքարի քանակը արյան մեջ: Այդ իսկ պատճառով կարելի է ենթադրել, որ հետագա աշխատանքները հնարավորություն կտան բացահայտելու ինսուլինի դանազան քանակների օգտագործելու հետևանքները բժշկական պրակտիկայում օրգանիզմի առանձին երևույթների վրա անջատ-անջատ ազդելու համար:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Gray a. Bartnes. Endocrinology 19, 549, 1935 (цит. по Камерону).
2. Beker D. G. a. Sellers E. A Amer. Journ. physiol. 174, 3, 1953.
3. Suomalainen P. Acta physiol. Scand. 16, 53, 1948. VI Scand. physiol. Congress.
4. Камерон А. Т. Достижения современной эндокринологии, Москва, 1949.
5. Лейбсон А. Г. Автореферат докт. дисс. 1953.
6. Дюмазер. Цит. по В. С. Асатнани, Биохимический анализ, II, Тбилиси, 1949.
7. Эйдельман М. М. и Гордон Ф. Л. В, ач. дело, 7, 566, 1948.
8. Woodward J. E. a. Gray E. G Journ. Biol. chem. 97, 465, 1932.
9. Захаров С. В. Бюлл. эксп. биол. и мед. II, 6, 1941.
10. Яковлев Н. Н. Бюлл. эксп. биол. и мед. II, 4, 1941.
11. Binkly F. Journ Biol. chem. 192, 1, 1951.
12. Казимирова З. И. Учен. записки ЛГУ, серия биол. наук, вып. 24, 138, 1952.
13. Best J. a. Taylor N. B. The physiological Basis of Medical practice. Baltimore, 1950.

14. Лейтис С. М., Павлов Г. Г., Якушева Т. С. Бюлл. эксп. биол. и мед., 9, 1953.
15. Stady W. K., Hogard N. a. Hills A. J. Journ. Biol. chem. 184, 617, 1950.
16. Stady W. K., Hogard N. a. Weigand M. Journ. Biol. chem. 199, 729, 1952.
17. Duner G. Acta physiol. Scand. 32, 1, 1954.
18. Anderson B. a. Long J. Endocrinol. № 2, 92, 1947.
19. Pasquinelli F. a. Calzolari G. Enzymol. 16, 2, 1953.
20. Оганесян С. С. и Егиян В. Б. XVI совещ. по проблеме ВНД, Москва. Тезисы докладов, 1952.
21. Баранов В. Г., Пышина С. П., Сперанская Е. Н. Физиол. жур. СССР. 34, 6, 1948.
22. Гелльгорн Э. Регуляция функций автономной нервной системы, 1950 г. Amer. J. Physiol. 146, 376 1946.