

Г. В. БАРСЕГЯН

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛАМИНА НА АНАБОЛИЧЕСКИЕ
И КАТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЖИВОТНОМ ОРГАНИЗМЕ

Работами кафедры биохимии и лаборатории обмена веществ Ереванского зооветеринарного института установлено, что этаноламин является стимулятором биохимических процессов, роста и развития животных организмов [1, 2, 3]. Этот биогенный амин участвует в окислительных и ферментативных процессах, в обмене фосфора, оказывает положительное действие на пищеварение и другие жизненно-важные функции организма. На основании биохимических исследований этаноламин был испытан в качестве стимулятора роста цыплят. Исследования, проведенные как в лабораторных, так и в производственных условиях, показали, что вес цыплят, получающих этаноламин вместе с кормом, увеличивается в среднем на 15% по сравнению с контрольным. Решением Министерства сельского хозяйства СССР этаноламин в настоящее время применяется во многих хозяйствах республики и Союза в порядке широкой производственной апробации для внедрения в птицеводческую практику как ростовое вещество. Ввиду того, что без синтеза белка нет роста, мы поставили перед собой цель изучить действие этаноламина на процессы синтеза и распада белка, как чрезвычайно важных метаболических процессов.

Экспериментальная часть и методы исследования. Опыты ставились на белых крысах обоих полов. Животных подбирали таким образом, чтобы в контрольной и опытной группах находились пары аналогичных по весу и полу крыс. Крысы находились на обычной диете, содержащей комбикорм, крупы, молоко, мясо, морковь, а также минеральную смесь и комплекс витаминов. Опытная группа ежедневно получала этаноламин вместе с кормом из расчета 10 мг/кг в течение одного месяца. В конце этого срока учитывали рост животных, после чего обезглавливанием их умерщвляли для проведения биохимических анализов. Крыс брали на опыт парами. Определяли общий и остаточный азот в печени и мышцах методом Кьельдаля в параллельных пробах и по разности определяли белковый азот. Изучение синтеза белка из отдельных аминокислот проводили по следующей методике: из печени контрольных и опытных животных приготавливали отдельные гомогенаты в десятикратном объеме 0,25 М раствора сахарозы. Из этих гомогенатов брали по 0,5 мл в широкие центрифужные пробирки, в которых имелись следующие вещества: 0,3 М янтарная кислота 0,1 мл, 0,3 М KCl 0,25 мл, 0,198 М $MgCl_2$ 0,1 мл, цитохром C 0,1 мл (0,6 мг) и 1,0 мл смеси аминокислот в количестве 0,2 мг каждой аминокислоты из расчета на L-формы. Смесь содержала

следующие аминокислоты: аланин, гистидин, серин, пролин, цистеин, глицин, лейцин, изолейцин, лизин, треонин, аргинин, валин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, фенилаланин, метионин, триптофан, тирозин. Объем инкубационной среды довели до 4 мл фосфатным буфером $pH=7,4$. Параллельно с этими пробами ставили также пробы, содержащие, кроме всех вышеупомянутых веществ, еще 5 мг АТФ. Одновременно ставили контрольные пробы, в которых имелись только буфер и отдельные гомогенаты. Вся операция проводилась в холодных условиях. Приготовленные пробы насыщали смесью 95% O_2 и 5% CO_2 и инкубировали в водяной бане с механической качалкой при 39° . Через 60 мин. в пробирки добавляли по 0,5 мл 10% вольфрамвокислого натрия и 0,5 мл $2/3$ М H_2SO_4 , в контрольные пробы доливали остальные реактивы (с целью создания одинаковых условий в контрольных и опытных пробах) и через 10 минут центрифугировали при 3000 g 15 мин. Надосадочную жидкость сливали, осадок дважды промывали горячим 96° спиртом и растворяли в 4 мл 0,2 N NaOH. Количество белка определяли по биуретовой реакции с модифицированным реактивом Вейхсельбаума [4]. Разность между контрольной пробой и пробой без АТФ указывает на количество новообразованного белка; разность между пробой без АТФ и с АТФ показывает количество синтезированного белка при его участии.

Активность аминотрансфераз определялась путем инкубирования гомогенатов тканей в присутствии соответствующих субстратов (α -кетоглутаровая кислота + L-аспарагиновая кислота или α -кетоглутаровая кислота — + L-аланин) с последующим определением образовавшейся пировиноградной кислоты и выражали в единицах (количество пировиноградной кислоты в микрограммах на 1 г ткани).

Активность тканевых протеаз определялась по нарастанию небелкового азота после инкубации тканевых гомогенатов в ацетатном буфере ($pH=4,0$) в течение 2 часов.

Количество восстановленного глутатиона определялось методом Вудворда и Грея с поправкой на витамин С [5].

Результаты. Данные по весу крыс и печени, а также по процентному и абсолютному содержанию азотистых фракций приведены в табл. 1 и 2. Эти данные показывают, что исходный вес крыс контрольной и опытной групп почти одинаковый; через месяц вес крыс, получавших этаноламин, на 8,5% больше по сравнению с контрольной группой. Наблюдается также достоверное повышение веса печени этаноламиновых крыс. Процентное содержание общего и белкового азота чувствительно больше в печени и мышцах крыс, получавших этаноламин. Более заметное повышение наблюдается в абсолютном содержании этих веществ в печени (на 16,8 и 17,4%). Что касается остаточного азота, то его концентрация несколько повышается как в печени, так и в мышцах, но это повышение статистически недостоверно, а повышение его абсолютного количества в печени (на 9,4%) находится на границе приемлемой достоверности.

Таблица 1

Концентрация общего, остаточного и белкового азота в печени и мышцах белых крыс, получающих этаноламин (в мг % свежей ткани)
Средние данные 21 опыта

Условия опыта	Печень			Мышцы		
	общий N	остаточный N	белковый N	общий N	остаточный N	белковый N
Контроль М ± σ	3415 ± 199	252 ± 28,1	3163 ± 203	3519 ± 211	260 ± 27,4	3259 ± 206
Этаноламин М ± σ	3679 ± 225	256 ± 33,8	3423 ± 228	3796 ±	266 ± 36,6	3530 ± 203
Прирост в %	7,7	1,6	8,2	8,0	2,3	8,3
Достоверность	t=4,02 p<0,01	t=0,42 0,6<p<0,7	t=3,92 p<0,01	t=4,12 p<0,01	t=0,57 0,5<p<0,6	t=4,31 p<0,01

Таблица 2

Вес крыс и печени, абсолютное содержание общего, остаточного и белкового азота в печени крыс, получающих этаноламин (в мг на весь орган)
Средние данные 21 опыта

Условия опыта	Вес крыс в г		Вес печени в мг	Азот		
	начальный	конечный		общий	остаточный	белковый
Контроль М ± σ	142,0	201 ± 10	7588 ± 700	257,2 ± 31,6	19,0 ± 3,0	238,2 ± 30,5
Этаноламин М ± σ	141,7	218 ± 8	8155 ± 584	300,4 ± 25,5	20,8 ± 3,0	279,6 ± 24,9
Прирост в %	—	8,5	7,4	16,8	9,4	17,4
Достоверность	—	t=4,25 p<0,01	t=2,85 p<0,01	t=4,91 p<0,01	t=1,95 p<0,05	t=4,87 p<0,01

Для получения прямых доказательств усиления белкового синтеза мы поставили специальные опыты на синтез белка из отдельных аминокислот в присутствии гомогенатов печени контрольных крыс и получавших этаноламин крыс. Одновременно изучали способность этих гомогенатов использовать энергию АТФ для синтеза белка. Эти данные (табл. 3) показывают, что в присутствии гомогенатов печени этаноламиновых крыс из отдельных аминокислот синтезируется больше белка, чем у контрольных. Кроме того, у крыс, получавших этаноламин, белок-синтезирующая способность сильнее повышается в присутствии АТФ. В этих опытах обращает на себя внимание высокий уровень исходного количества белка в гомогенатах печени этаноламиновых крыс.

Так как в образовании новых молекул аминокислот определенную роль играют аминотрансферазы, нам представлялось интересным определение их активности. Определяли активность L-аспартат: 2-оксоглутарат аминотрансферазы, а также L-аланин 2-оксоглутарат ами-

Таблица 3

Синтез белка из отдельных аминокислот (в мг на пробу)
Средние данные 20 опытов

Условия опыта	Контроль			Этаноламин		
	$M \pm \sigma$	прирост в %	достовер- ность	$M \pm \sigma$	прирост в %	достовер- ность
Гомогенат печени	9,14 $\pm 0,32$	—	—	9,77 $\pm 0,39$	—	—
Гомогенат печени + аминокислоты	9,79 $\pm 0,27$	7,1	$t=7,33$ $p<0,01$	10,63 $\pm 0,35$	8,8	$t=8,81$ $p<0,01$
Гомогенат печени + аминокислоты + АТФ	10,61 $\pm 0,30$	8,3	$t=9,11$ $p<0,01$	11,76 $\pm 0,29$	10,6	$t=13,10$ $p<0,01$

Таблица 4

Активность аминотрансфераз под действием этаноламина (в единицах)
Средние данные 20 опытов

Условия опыта	L-аспартат: 2-оксо- глутарат аминотрансфе- раза		L-аланин: 2-оксоглу- тарат аминотрансфераза	
	печень	мышцы	печень	мышцы
Контроль M $\pm \sigma$	96400 ± 10340	93800 ± 9560	28200 ± 4060	17400 ± 2930
Этаноламин M $\pm \sigma$	127600 ± 9550	107200 ± 9850	32600 ± 3270	19000 ± 2160
Прирост в %	32,5	14,3	15,1	9,2
Достоверность	$t=9,87$ $p<0,01$	$t=4,33$ $p<0,01$	$t=3,73$ $p<0,01$	$t=2,02$ $0,02<p<0,05$

нотрансферазы как в печени, так и в мышцах. Приведенные в табл. 4 данные показывают, что под действием этаноламина заметно повышается активность этих ферментов в частности L-аспартат: 2-оксоглутарат аминотрансферазы. В литературе имеется указание о том, что фосфоэтанолламин может участвовать в процессе переаминирования [6].

Для изучения процесса распада белка мы определяли активности тканевых протеаз. Полученные нами данные (табл. 5) показывают, что активность этих ферментов повышается под действием этаноламина (на 11,7 в печени и 21,3% в мышцах).

Так как восстановленный глутатион является активатором тканевых протеаз, мы определяли также его количество. Установлено (табл. 5), что содержание восстановленного глутатиона увеличивается в печени (на 17,4%) и в мышцах (на 22,5%) крыс, получавших этаноламин, причем наблюдается известный параллелизм между количеством восстановленного глутатиона и активностью тканевых протеаз: в мышцах, где увеличение количества восстановленного глутатиона происходит сильнее,

нее, отмечается более заметное повышение активности протеаз по сравнению с печенью.

Повышение количества восстановленного глутатиона в крови собак под действием этаноламина наблюдали М. Г. Гаспарян и А. А. Акопян [7].

Т а б л и ц а 5

Активность тканевых протеаз и количество восстановленного глутатиона под действием этаноламина

Условия опыта	Протеазы (в мг % азота) средние данные 21 опыта		Восстановленный глутатион (в мг %) средние данные 25 опытов	
	печень	мышцы	печень	мышцы
Контроль М ±σ	603 ± 85	188 ± 46	188,0 ± 39	33,6 ± 1,8
Этаноламин М ±σ	674 ± 83	228 ± 56	221,8 ± 36	41,1 ± 1,9
Прирост в %	11,7	21,3	17,4	22,5
Достоверность	t=2,75 p<0,01	t=2,54 0,01<p<0,02	t=3,06 p<0,01	t=4,43 p<0,01

Обсуждение результатов. Полученные данные свидетельствуют о том, что этаноламин стимулирует рост крыс; под его действием увеличивается как вес крыс, так и печени, причем увеличение веса крыс несколько превалирует над увеличением веса печени. Интересно отметить, что аналогичный эффект наблюдается также под действием соматотропного гормона гипофиза [8]. Ускорение роста животных указывает на усиление анаболических процессов под действием этаноламина. У крыс, получающих этаноламин, бесспорно идет более интенсивный синтез белка, чем у контрольных. Известно, что сложный процесс синтеза белка из различных аминокислот и распад белка на отдельные аминокислоты происходят одновременно в животном организме; кажется, эти противоположные и взаимообусловленные процессы должны исключить друг друга, но интересно отметить, что при усилении синтеза белка под действием этаноламина количество небелкового азота не только не уменьшается, но даже несколько увеличивается. Работая с кортизоном на печени крыс Кларк получил аналогичные результаты и показал, что усиленный синтез белка (анаболизм) сопровождается увеличением небелкового азота тканей [9]. Увеличение под действием этаноламина количества общего азота в тканях указывает на возможное усиление поступления азота в организм с пищей.

Наряду с синтезом белка наблюдаемое повышение активности тканевых протеаз свидетельствует о том, что под действием этаноламина усиливается также распад белка (катаболизм).

Одновременное усиление синтеза и распада белка является косвенным признаком ускорения обновления белка. Для определения соотношения скоростей этих двух процессов (синтеза и распада белка) мы вы-

числили коэффициент протеосинтеза, который выражается следующим уравнением:

$$\text{коэффициент протеосинтеза} = \frac{\text{Белковый азот}}{\text{Небелковый азот}} \times 100$$

Таблица 6
Коэффициенты протеосинтеза под действием этаноламина

Показатели	Печень	Мышцы
Контроль	$\frac{3163}{252} \times 100 = 1255$	$\frac{3259}{260} \times 100 = 1253$
Этаноламин	$\frac{3423}{256} \times 100 = 1337$	$\frac{3530}{266} \times 100 = 1327$

Приведенные в табл. 6 данные показывают, что у крыс, получающих этаноламин, процесс синтеза белка превалирует над процессом его распада как в печени, так и в мышцах, чем обуславливается положительное действие этого стимулятора на анаболические процессы, на рост и развитие животных организмов.

Кроме того, усиление синтеза белка под действием этаноламина имеет большое значение для синтеза ферментов и для повышения общего метаболического уровня.

В ы в о д ы

1. При одномесечной даче крысам этаноламина в количестве 10 мг/кг наблюдается увеличение живого веса и печени.
2. Под действием этаноламина повышается концентрация общего и белкового азота в печени и мышцах белых крыс.
3. Синтез белка из отдельных аминокислот усиливается в присутствии гомогенатов печени крыс, получающих этаноламин. При этом повышается также способность использования энергии АТФ.
4. Под действием этаноламина повышается активность аминотрансфераз, в частности L-аспартат: 2-оксоглутарат аминотрансферазы.
5. У крыс, получающих этаноламин, повышается активность тканевых протеаз и увеличивается количество восстановленного глутатиона.
6. Под действием этаноламина одновременно усиливаются процессы синтеза и распада белка, но процесс синтеза превалирует над процессом распада.
7. Усиление синтеза белка под действием этаноламина может оказать важное влияние на обмен веществ через ускорение синтеза белковой группы ферментов.

Գ. Վ. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ

ԷԹԱՆՈԼԱՄԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԵՆԴԱՆԱԿԱՆ ՕՐԳԱՆԻԶՄԻ
ԱՆԱՐՈՒԿ ԵՎ ԿԱՏԱՐՈՒԿ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Նրանի անասնաբուժական-անասնաբուժական ինստիտուտի բիոքիմիայի ամբիոնի և նյութափոխանակության լաբորատորիայի աշխատանքները ցույց են տվել, որ էթանոլամինը հանդիսանում է բիոքիմիական պրոցեսների, ինչպես նաև կենդանական օրգանիզմի աճի ու զարգացման խթանիչ: Էթանոլամինը հաջողությամբ կիրառվում է ճտերի աճը խթանելու համար: ՍՍՌՄ գյուղատնտեսության մինիստրության որոշմամբ այս բիոգեն ամինը ներկայումս լայնորեն փորձարկվում է Միության առաջավոր տնտեսություններում՝ հետազոտ ներդրման նպատակով: Նկատի ունենալով, որ չկա աճ առանց սպիտակուցի սինթեզման, մենք մեր առջև խնդիր դրեցինք ուսումնասիրել սպիտակուցի սինթեզման ու քայքայման պրոցեսները էթանոլամինի ազդեցության տակ:

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների վրա, որոնց մի մասը կերի հետ ստացել է էթանոլամին:

Ստացված տվյալներից կարելի է անել հետևյալ եզրակացությունները՝

1. Սպիտակ առնետներին մեկ ամսվա ընթացքում կերի հետ միասին օրական 10 մգ/կգ քանակությամբ էթանոլամին տալու դեպքում ավելանում է նրանց քաշը և լյարդի կշիռը:

2. Էթանոլամինի ազդեցության տակ սպիտակ առնետների լյարդում ու մկաններում ավելանում է ընդհանուր և սպիտակուցային ազոտի քանակը:

3. Առանձին ամինոթթուներից սպիտակուցի սինթեզը արագանում է էթանոլամին ստացած առնետների լյարդի հոմոգենատների ներկայությամբ: Այս դեպքում բարձրանում է նաև ադենոզին-երեք ֆոսֆորական թթվի էներգիան օգտագործելու ունակությունը:

4. Էթանոլամինի ազդեցության տակ բարձրանում է ամինոտրանսֆերազաների և հատկապես L-ասպարտատ. 2-օքսոգլուտարատ ամինոտրանսֆերազայի ակտիվությունը:

5. Էթանոլամին ստացող առնետների մոտ բարձրանում է հյուսվածքային պրոտեազաների ակտիվությունը և շատանում է վերականգնված գլուտաթիոնի քանակությունը:

6. Էթանոլամինի ազդեցության տակ միաժամանակ արագանում են սպիտակուցի սինթեզման ու քայքայման պրոցեսները, սակայն սինթեզման պրոցեսը գերակշռում է քայքայման պրոցեսի նկատմամբ:

7. Էթանոլամինը կարող է դրական ազդեցություն թողնել նյութափոխանակության վրա՝ ֆերմենտների սպիտակուցային խմբի սինթեզն արագացնելու միջոցով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Камалян Г. В. и Барсегян Г. В. Тр. Ерев. зооветинститута, 23, 19, 1959.
2. Камалян Г. В. и Барсегян Г. В. Вестник с/х науки, 5, 85, 1962.

3. Камалян Г. В. и Аракелян Ф. Р. Изв. с/х наук Мин. произв. и заготовок с/х продуктов АрмССР, 2, 95, 1963.
4. Кирк П. Количественный ультрамикрoанализ, М., 315, 1952.
5. Glick D. Methods of biochem. analysis vol. II, 259, 1955.
6. Майстер А. Биохимия аминокислот. М., стр. 233, 1961.
7. Гаспарян М. Г. и Акопян А. А. Тр. Ерев. зооветинститута, 22, 33, 1957.
8. Тодоров И. Н. Биохимия, 24, 1010, 1959.
9. Clark I. J. Biol. Chem. 200, 69, 1953.