

А. С. ОГАНЕСЯН, А. А. ДЕМИРЧЯН и Е. К. КАЗАРОВА

О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ИНСУЛИНА И СТРОФАНТИНА В ПРОЦЕССЕ ТРАНСПОРТА ГЛЮКОЗЫ

Наши прежние исследования показали, что система АТФ—АТФ-аза играет важную роль в процессе транспорта глюкозы и ионов натрия в почках и в мышечной ткани*. Установлено, что инсулин, ускоряющий транспорт глюкозы в почках (*in vivo*) и в мышечной ткани (*in vivo* и *in vitro*), вызывает также повышение активности системы АТФ—АТФ-азы. С другой стороны, сердечный глюкозид-строфантин, под действием которого наблюдается подавление реабсорбции глюкозы в почках, вызывает также ингибирование мембранной АТФ-азы (срезы) в мышечной и почечной тканях.

Результаты этих исследований показали, что как инсулин, так и строфантин свой эффект на трансмембранный перенос глюкозы и ионов натрия в указанных тканях осуществляют путем изменения активности системы АТФ—АТФ-аза. В литературе имеются данные относительно связывания инсулина с тканями, что является необходимым звеном для проявления его эффекта в отношении ускорения транспорта глюкозы.

В развитие наших исследований мы приводили ряд опытов по изучению взаимоотношений между инсулином и строфантином в процессе их действия на транспорт глюкозы в тканях. С этой целью были проведены опыты на тканевых препаратах (*in vitro*). Определялось поглощение глюкозы диафрагмой и жировой тканью (эпидимальной) белых крыс в присутствии инсулина, строфантина в отдельности и при добавлении их вместе к инкубируемой среде.

Опыты проводились в Крепс-рингер-бикарбонатной среде, рН=7,4, инкубация в ультратермостате при 37 С° в течение 1 час. (диафрагма) и 3 час. (жировая ткань) в атмосфере смеси газа—О₂—95% и СО₂—5%.

Серия опытов проводилась также после предварительной преинкубации тканей в следующем порядке:

1. В растворе буфера, содержащего строфантин, ткани преинкубировались в течение 3—5 мин. (табл. 3), затем два раза промывались по 5 мин. тем же буфером (не содержащим глюкозы и строфантина), после чего были помещены в термостат на инкубацию.

2. В растворе буфера, содержащего инсулин, ткани преинкубировались в течение 2 мин., затем два раза промывались по одной минуте тем же раствором буфера (не содержащим глюкозы), после чего ткани были помещены в термостат на инкубацию.

* Бунягян Г. Х. и Оганесян А. С. ДАН СССР, 149, 442, 1963 г.

3. Ткани сначала были преинкубированы в среде буфера, содержащего строфантин, после промывания преинкубация этих же тканей продолжалась в среде, содержащей инсулин, в таком порядке как было указано выше и, после этого ткани были помещены в термостат на инкубацию. В некоторых опытах преинкубация тканей вначале проводилась в среде инсулина, а затем в среде строфантина.

Контрольные пробы были преинкубированы так же, как и опытные без добавления строфантина и инсулина.

Таблица 1

Влияние инсулина и строфантина на поглощение глюкозы мышечной тканью (диафрагма)

Поглощение глюкозы в мг/г ткани/час			
Контроль	Инсулин (0,5 ед/мл)	Строфан- тин 1 м.М	Инсулин + строфантин
4,6± (20)	6,9± (12)	2,9± (20)	4,5± (12)

Примечание: в скобках указывается число опытов.

Таблица 2

Влияние инсулина и строфантина на поглощение глюкозы жировой тканью

Поглощение глюкозы в мг/г ткани/час

Кон- троль	Инсу- лин	Строфан- тин	Инсулин + строфантин
5,2± (12)	9,6± (11)	3,3± (12)	6,9± (12)

Результаты опытов приводятся в табл. 1—4. Как показывают данные исследований (табл. 1), в контрольном опыте количество глюкозы, поглощенной мышечной тканью, составляет 4,6 мг, в присутствии инсулина—6,9 мг, а в присутствии строфантина—2,9, а когда инсулин и строфантин добавляются вместе—4,5 мг.

Данные табл. 2 показывают, что в контрольном опыте поглощение глюкозы жировой тканью составляет 5,2 мг, в присутствии инсулина 9,6 мг, а под действием строфантина отмечается понижение—3,3 мг; при добавлении инсулина и строфантина вместе—6,9 мг.

Таким образом, результаты опытов показывают, что инсулин стимулирует поглощение глюкозы как мышечной, так и жировой тканями, между тем как строфантин, наоборот, подавляет транспорт глюкозы в эти ткани. С другой стороны, при добавлении строфантина и инсулина вместе отмечается устранение эффекта строфантина инсулином.

После того, как было установлено, что инсулин снимает подавляющий эффект строфантина в отношении поглощения глюкозы мышечной и жировой тканями, а строфантин подавляет стимулирующий эффект инсулина, мы проводили серию опытов для выяснения взаимоотношений между инсулином и строфантином на транспорт глюкозы в упомянутых тканях. Ткани были преинкубированы в средах, содержащих инсулин или строфантин в различной последовательности. Результаты опытов приведены в табл. 3 и 4.

Из данных, приведенных в табл. 3, видно, что поглощение глюкозы диафрагмой, преинкубированной в среде, содержащей 0,5 ед/мл инсулина, больше по сравнению с контрольными. Преинкубирование со строфантином вызывает значительное подавление поглощения глюкозы

диафрагмой. В отдельных пробах ткани сначала преинкубировались в среде, содержащей строфантин (строфантиновая среда), а затем инсулин (инсулиновая среда). В некоторых опытах порядок преинкубирования тканей в указанных средах был обратным.

Таблица 3

Поглощение глюкозы мышечной тканью (диафрагма) в присутствии инсулина и строфантина при различной последовательности преинкубации

Условия опыта	Поглощение глюкозы в мг г ткани час				
	кон-троль	инсулин (0,5 ед/мл)	строфантин (1 мМ)	инсулин + строфантин	строфантин + инсулин
Строфантиновая среда — 3 мин. + + инсулиновая среда — 2 мин.	6,0	9,7	5,6		5,5
	5,3	8,1	5,0		6,6
	5,3	6,6	3,4		3,0
	4,6	5,8	0,6		0,6
	4,5	7,5	0,5		1,0
	5,6	7,5	1,0		0,7
	4,2	5,6	3,0		4,5
Инсулиновая среда — 2 мин. + стро- фантиновая среда — 3 мин.	3,6	4,2	0,6		—
	5,6	6,6	2,0		2,3
	5,8	7,0	2,4		2,1
	6,7	7,0	5,6	6,7	
	6,5	9,4	4,8	6,0	
	6,0	7,5	4,6	5,6	
	5,3	9,0	4,1	7,2	
Инсулиновая среда — 2 мин. + стро- фантиновая среда — 5 мин.	5,0	5,6	3,2	4,6	
	4,6	6,1	1,6	2,6	
	6,0	7,4	3,0	5,6	
	6,0	6,0	3,4	6,3	
	3,0	4,0	4,0	2,2	
	4,0	3,5	2,5	2,2	
	6,0	7,8	4,1	0,5	
6,5	7,4	3,8	0,8		

Таблица 4

Поглощение глюкозы жировой тканью в присутствии инсулина и строфантина при различной последовательности преинкубации

Условия опыта	Поглощение глюкозы в мг г ткани час				
	кон-троль	инсулин (0,3 ед/мл)	строфантин (1 мМ)	инсулин + строфантин	строфантин + инсулин
Строфантиновая среда — 3 мин + + инсулиновая среда — 2 мин.	6,7	8,3	2,7		2,7
	6,0	19,3	4,0		6,0
	8,0	10,0	5,3		6,8
	5,3	9,3	0,7		4,0
	5,7	9,5	3,7		4,2
	7,3	24,7	6,6	14,0	
Инсулиновая среда — 2 мин. + + строфантиновая среда — 3 мин.	10,0	14,0	4,6	14,0	
	6,7	15,1	6,0	8,7	
	2,7	9,3	0	8,0	
	3,3	10,0	0,7	8,7	

При проведении преинкубации сначала в среде строфантина (в течение 3 мин.), а затем в среде инсулина (в течение 2 мин.) в большинстве случаев наблюдается подавление поглощения глюкозы по сравнению с контролем.

Другие результаты получаются, когда преинкубация проводилась в обратной последовательности, т. е. когда ткани преинкубировались сначала в среде, содержащей инсулин, а затем—в среде строфантина. В этих опытах инсулин в основном снимает подавляющий эффект строфантина на поглощение глюкозы. Однако при продолжительном преинкубировании диафрагмы в среде строфантина (больше 3 мин.) независимо от последовательности получается строфантинный эффект.

Данные табл. 4 показывают, что подобные взаимоотношения между инсулином и строфантином в процессе транспорта глюкозы наблюдаются и в отношении жировой ткани.

Неоднократные промывания жировой ткани, после предварительной преинкубации в среде, содержащей инсулин, не снимают эффекты инсулина и строфантина на поглощение глюкозы. При этом ткани, преинкубированные в среде инсулина, поглощают значительно больше глюкозы, чем контрольные и, наоборот, ткани, преинкубированные в среде строфантина, поглощают меньше глюкозы. Когда жировая ткань преинкубируется сначала в среде строфантина, а затем в среде, содержащей инсулин, наблюдается строфантинный эффект, т. е. поглощение глюкозы подавляется по сравнению с контролем. Другая картина наблюдается при преинкубировании тканей в обратной последовательности, т. е. когда сперва ткани преинкубируются в среде, содержащей инсулин, и затем в среде строфантина отмечается инсулиновый эффект—усиление поглощения глюкозы.

Результаты приведенных опытов показывают, что как инсулин, так и строфантин при инкубации связываются с тканями.

Исследованиями других авторов также установлено, что инсулин связывается с тканями и, что это является необходимым условием для проявления его стимулирующего действия на транспорт глюкозы в ткани.

Рядом исследователей установлено, что строфантин подавляет активность мембранной АТФ-азы эритроцитов и нервной ткани.

Наши исследования показали, что строфантин подавляет также активность мембранной АТФ-азы (срезы) мышечной и почечной тканей, а как показывают вышеприведенные данные, он подавляет также поглощение глюкозы мышечной и жировой тканями (подобные результаты были получены в опытах с почечной тканью).

Клейнцеллер и Котик* показали, что строфантин подавляет транспорт галактозы в мышечную ткань.

Приведенные данные показывают, что связывание строфантина с тканями необходимо для проявления его подавляющего эффекта на транспорт глюкозы в мышечную ткань. Промывание диафрагмы в тече-

* Kleinzeiler A. a. Kotyk, Biochem. Biophys. Acta, 54, 367, 1961 г.

ние 10 мин. не снимает эффект строфантина, что указывает на довольно крепкую связь этого глюкозида с тканями. В отдельных опытах, при более продолжительном промывании диафрагмы, эффект строфантина значительно уменьшается. Между инсулином и строфантином наблюдаются конкурентные взаимоотношения за связывание с тканями. Если ткани сначала преинкубируются в среде строфантина, то в результате получается подавление поглощения глюкозы и, наоборот, если преинкубация сначала проводится в среде инсулина, то подавляющий эффект строфантина снимается. Установлено, что инсулин не проникает во внутрь клетки. Предполагается, что он реагирует с мембранными компонентами клетки. Надо полагать, что строфантин тоже реагирует с клеточной мембраной. Результаты наших опытов показывают, что инсулин и строфантин взаимно подавляют эффект друг друга в отношении поглощения глюкозы тканями. Сравнительно большие дозы инсулина полностью снимают эффект строфантина и, наоборот, большие дозы строфантина подавляют эффект инсулина. Это говорит в пользу того, что эти вещества конкурируют за один и тот же компонент клеточной мембраны, принимающий участие в процессе транспорта глюкозы.

Наши прежние исследования показали, что мембранная АТФ-аза принимает активное участие в трансмембранном переносе глюкозы. Инсулин повышает активность АТФ-азы (срезы) и ускоряет транспорт глюкозы, а строфантин, наоборот, подавляет активность этого фермента и транспорт глюкозы в мышечной ткани. Эти данные дают нам основание предположить, что как инсулин, так и строфантин при связывании с тканями реагируют с мембранной АТФ-азой. Исследования в этом направлении продолжаются.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 9.V 1964 г.

Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ա. Հ. ԴԵՄԻՐՉՅԱՆ, Ե. Կ. ԿԱԶԱՐՈՎԱ

ԻՆՍՈՒԼԻՆԻ ԵՎ ՍՏՐՈՖԱՆՏԻՆԻ ՓՈԽՀԱՐԱՔԵՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԳԼՅՈՒԿՈՋԱՅԻ ՓՈԽԱԴԻՐՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների մկանային (դիաֆրագմա) և ճարպային հյուսվածքների վրա: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ինսուլինի ազդեցության տակ ուժեղանում է գլյուկոզայի կլանումը մկանային և ճարպային հյուսվածքների կողմից, իսկ ստրոֆանտինի ներկայությամբ, ընդհակառակը, արգելակվում է այդ պրոցեսը: Ինսուլինի ներկայությամբ վերանում է ստրոֆանտինի արգելակող ազդեցությունը, իսկ ստրոֆանտինի ներկայությամբ ընկճվում է ինսուլինի ազդեցությունը:

Ինչպես ինսուլինը, այնպես էլ ստրոֆանտինը կապվում են հյուսվածքների հետ: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ինսուլինի և ստրոֆանտինի

միջև գոյութիւն ունի մրցակցական փոխհարաբերութիւն հյուսիւածքների կողմից շաքարի կլանման նկատմամբ:

Նկատի ունենալով, որ ինսուլինը բարձրացնում է ադենոզինտրիֆոսֆատազայի (ԱՏՖ-ազա) ակտիվութիւնը, իսկ ստրոֆանտինը, ընդհակառակը ճնշում է այդ ֆերմենտի ակտիվութիւնը, որը կարևոր դեր ունի գլյուկոզա տրանսմեմբրանային փոխադրման պրոցեսում, ենթադրվում է, որ մեմբրանային ԱՏՖ-ազան հանդիսանում է այն սուբստանցիան, որի հետ կապվում են ինսուլինը և ստրոֆանտինը: