

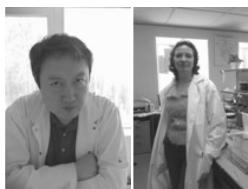
УДК 577.122.5
DOI: 10.17238/issn2072-2419.2020.3.158

МЕТАБОЛИЗМ БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ РАСТУЩИХ БОРОВКОВ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ В РАЦИОН 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА

Обвинцева О.В.1 – к.б.н. м.н.с. (ORCID 0000-0002-4829-084X), Еримбетов К.Т.1, 2 – д.б.н., научный руководитель (ORCID 0000-0003-4314-658X), Соловьева А.Г.1 – аспирант, Михайлов В.В.2 – д.б.н., профессор кафедры 1 ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных - филиал ФГБНУ ФНЦ животноводства - ВИЖ им. Л.К. Эрнста 2 ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина»

Ключевые слова: 20-гидроксиэкдизон, боровки, 15N-глицин, эндогенные потери и баланс азота, синтез, распад и отложение белков, протеинкиназа В

Keywords: 20-hydroxyecdysone, borrows, 15N-glycine, endogenous losses and nitrogen balance, synthesis, protein breakdown and deposition, protein kinase B



РЕФЕРАТ

Одним из подходов к созданию биологически активных добавок в питании свиней может быть применение фитопрепаратов, в частности, 20-гидроксиэкдизона (20-ГЭ), регулирующего белковый обмен у поросят. Цель работы - оценка влияния 20-ГЭ на метаболизм белков в организме и измерение их оборота у растущих боровков. Эксперимент проводился на боровках (♂ датский йоркшир \times ♀ датский ландрас) с 60- до 120 суточный возраст. В возрасте 60 дней боровки были разделены на 2 группы: контрольная и экспериментальная, получавшие корм с содержанием (г/кг) сырого протеина 158,7, лизина 7,7, треонина 4,8, метионина 4,6, обменная энергия (ОЭ) 12,7 МДж/кг. Соотношение первой лимитирующей аминокислоты лизина к ОЭ составило 61 %. Боровкам опытной группы вводили 20-ГЭ в дозе 1,6 мг/кг массы тела. У боровков опытной группы, по сравнению с контролем, отмечено снижение экскреции азота с мочой (на 26,8%, $P \leq 0,05$). Ретенция азота было выше у боровков опытной группы на 19,0% ($P \leq 0,001$) по сравнению с контролем. Результаты исследований по обороту белков, полученные с применением стабильного изотопа свидетельствуют о том, что анаболический эффект 20-ГЭ определяется повышением скорости синтеза белков при одинаковых значениях скорости их деградации, потока азота на фоне снижения его эндогенных потерь. 20-ГЭ путем активации сигнала через протеинкиназу В обеспечивает повышение биосинтетических процессов на этапе трансляции. Заключили, что применение 20-ГЭ при выращивании боровков повышает эффективность использования аминокислот для синтеза и отложения белков в организме.

ВВЕДЕНИЕ

Выращивание поросят нового поколения с высоким потенциалом продуктивности требует обеспечение их организма пищевыми ингредиентами, в первую очередь незаменимыми аминокислотами и энергией в точном соответствии с потреб-

ностями животных. В значительной мере, рост и развитие поросят определяется уровнем белоксинтезирующей системы организма. Проблема исследования белоксинтезирующей системы свиней остается до сих пор актуальной темой. Для проявления генетического потенциала

поросят бывает недостаточным обеспечение лишь требуемыми ингредиентами пищи. В большинстве случаев для более полной реализации продуктивного потенциала определяющее значение имеет обеспечение средствами, стимулирующими этап трансляции в процессе синтеза белка из аминокислот на матрице матричной РНК. Одним из таких стимулирующих биосинтез белка средств могут быть фитоэкстериоиды (Ф-Э). К наиболее активно изучаемым соединениям из этого класса является 20-ГЭ, который входит в состав лекарственных растений [3, 4, 7, 10].

20-ГЭ относится к безопасным соединениям и его фармакодинамические эффекты не вызывают вопросов. В частности, его эффекты при различных патологических состояниях и свойства изменять соотношение синтеза и распада белков в организме млекопитающих [1, 8, 12]. Имеются сведения [5], что 20-ГЭ, взаимодействуя с протеинкиназой В (РКВ/АКТ) запускает каскад сигналов, приводящих к увеличению синтеза белка в организме животных.

В связи с корrigирующем действием 20-ГЭ в отношении обмена веществ, в частности метаболизма белков, целесообразно было оценить его механизм действия на основе измерения их обмена у растущих свиней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В соответствии с целью работы опыт был выполнен на гетерозисных боровках (δ датский йоркшир \times φ датский ландрас). Согласно данным массы тела в 2-месячном возрасте поросыта были разделены на 2 группы. Кормление нормированное. Продолжительность эксперимента составила 2 месяца.

Боровкам обеих групп скармливали комбикорм в течение всего эксперимента. В 1 кг корма содержалось сырого протеина 158,7 г, лизина 7,7 г, треонина 4,8 г, метионина 4,6 г, обменной энергии (ОЭ) 12,7 МДж. Соотношение первой лимитирующей аминокислоты лизина к (ОЭ) составило 61 % (г / МДж). Ф-Э 20-ГЭ (порошок) вводили в комбикорм из расче-

та 30 мг/кг. Доза 20-ГЭ на единицу массы тела составляла 1,6 мг/кг. На протяжении всего эксперимента регистрировали потребление комбикорма, его химический состав и потребление на единицу роста. Боровков взвешивали в начале и конце эксперимента. В конце эксперимента проведен балансовый опыт на 7 боровках (3 в контрольной группе и 4 в опытной группе).

В большинстве исследований используется модель метаболизма азота для измерения оборота белка во всем организме [9]. Для измерения скорости синтеза белка с использованием этой модели должны быть известны общий поток предшественника, скорость образования конечных продуктов метаболизма азота и скорость секреции предшественника из общего фонда в желудочно-кишечный тракт. Методологические аспекты измерения скорости синтеза и деградации белка во всем организме с использованием 15N-аминокислот подробно рассмотрены в работах Pahle T. et al. [11].

Интенсивность метаболизма общих белков тела определяли у боровков по методике Krawielitzki [9] с применением меченого по азоту аминокислоту 15N-глицин. 15N-глицин с обогащением 98 % атомного избытка вводили per os в количестве 3 мг 15N на 1 кг массы тела боровков в течение 5 дней. Кал, собранный во время балансового опыта, объединяли, сушили и хранили при 4 ° С для определения азота. Собранный мочу хранили при -20 ° С до анализа на содержание азота. Образцы потребляемого корма, мочи и кала анализировали на содержание азота методом Кельдаля. Ретенцию азота рассчитывали путем вычитания азота потребленного от выведенного азота (через кал и мочу). Для изотопных исследований кала, мочи, взятой на 5-й день балансового опыта, выделяли фракции азота на приборе Кельтекс с промывкой системы спиртом этиловым каждой пробы. Измерение содержания 15N (в атомных процентах) проводили на изотопном масс-спектрометре DELTA V Plus.

Статистический анализ результатов эксперимента проводили с применением U-критерия. Различия между группами считались статистически значимыми при $P \leq 0,05$ [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты проведенных исследований показали, что скармливание боровкам 20-ГЭ обеспечивает эффективное использование аминокислот в биосинтетических процессах по сравнению с животными контрольной группы. У боровков опытной группы по сравнению с контролем наблюдалось снижение эндогенной потери азота (на 26,8%, $P \leq 0,05$) при отсутствии различий по перевариваемости азотистых веществ рациона (таблица 1). В этой ситуации ретенция азота была на 19,0% выше ($P \leq 0,001$) у боровков опытной группы по сравнению со сравниваемой группой. При этом эффективность использование азота на отложение в организме было выше у боровков опытной группы.

Под влиянием 20-ГЭ у боровков выявлено повышение скорости синтеза белка,

что приводило к увеличению уровня его отложения в организме животных. Интенсификация синтеза белка у боровков опытной группы сопровождалась увеличением потока азота на фоне снижения его эндогенных потерь (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как указывалось выше, 20-ГЭ путем взаимодействия с протеинкиназой В запускает сигнальные пути, приводящих к усилению биосинтетических процессов аналогично инсулиноподобному фактору роста (IGF-I) на модели культивируемых миоцитах [5]. Считается, что анаболический адаптогенный эффект их, в частности 20-ГЭ, может быть использован в питании спортсменов [1]. В наших исследованиях на поросятах было выявлено увеличение синтеза и отложения белков при введении 20-ГЭ в их рацион (табл. 2). Применение 20-ГЭ и других Ф-Э приводит к снижению ожирения у мышей [8]. Тем не менее, недавние исследования по питанию не

Таблица 1
Потребление и использование азотистых веществ у боровков ($M \pm m$, $n = 3$, $n = 4$)

Показатели	20-ГЭ, мг/кг	
	0	1,6
Потребление азота, (г/сутки)	42,8±0,41	42,4±0,14
Экскреция азота с калом, (г/сутки)	11,1±0,38	11,0±0,23
Экскреция азота с мочой, (г/сутки)	13,8±0,64	10,1±0,32*
Ретенция азота, (г/сутки)	17,9±0,11	21,3±0,18***
Каждущаяся переваримость азота, (%)	74,1±1,13	74,0±0,94
Эффективность ретенции азота, (%)	41,8±0,17	50,2±0,67***
Эффективность использования переваренного азота, (%)	56,4±1,11	67,8±1,17**

Примечание. Каждущаяся переваримость азота = $100\% \times (\text{экскреция азота в кале}) / \text{потребление азота}$. Эффективность ретенции азота = $100\% \times \text{ретенция азота} / \text{потребление азота}$. Эффективность использования переваренного азота = $100\% \times \text{ретенция азота} / \text{переваренный азот}$. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$ *** $P \leq 0,001$ по критерию U при сравнении с контролем.

Таблица 2

Оборот белков в организме растущих боровков ($M \pm m$, $n = 3$, $n = 4$)

Показатели	20-ГЭ, мг/кг	
	0	1,6
Скорость синтеза белков, (г азота/кг $W^{0.75}$ /сутки)	2,54±0,04	2,77±0,06*
Скорость деградации белков, (г азота/кг $W^{0.75}$ /сутки)	1,62±0,04	1,74±0,04
Скорость отложения белков, (г азота/кг $W^{0.75}$ /сутки)	0,92±0,03	1,03±0,02**
Поток азота (г азота/кг $W^{0.75}$ /сутки)	3,45±0,08	4,00±0,09**
Эндогенный азот мочи (г азота/кг $W^{0.75}$ /сутки)	0,71±0,05	0,48±0,06**

Примечание. $W^{0.75} - 0.75$ метаболическая масса тела поросят; * $P < 0,05$; ** $P < 0,02$ по U -критерию при сравнении с контролем.

выявили явного влияния 20-ГЭ на передачу сигналов РКВ/АКТ или mTORC1 в скелетных мышцах [6]. Авторы приходят к заключению, что Ф-Э могут участвовать в регуляции долгосрочных транскрипционных изменений при распаде мышечного белка, в отличие от сигнальных механизмов, которые регулируют биосинтетические процессы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Добавление в комбикорм поросят 20-ГЭ увеличивает ретенцию азота за счет уменьшения его эндогенных потерь и тем самым позволяет улучшить показатели их роста и развития. Результаты исследований по обороту белков, полученные с применением стабильного изотопа свидетельствуют о том, что анаболический эффект 20-ГЭ определяется повышением скорости синтеза белков, потока азота при одинаковых значениях скорости их деградации.

Protein metabolism in the organism of growing boars at the addition of 20-hydroxyecdysone to the diet. Obvintseva O.V. 1, Ph.D., Erimbetov K.T.1, Doctor of Biological Sciences, Solovyova A.G.1, postgraduate student, Mikhailov V.V.2, Doctor of Biological Sciences. 1L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry - All-Russian Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and

Nutrition, 2Tambov State University named after G.R. Derzhavina.

ABSTRACT

One of the approaches to the creation of biologically active additives in pig nutrition can be the use of phytopreparations, in particular, 20-hydroxyecdysone (20-GE), which regulates protein metabolism in piglets. The aim of this work is to assess the effect of 20-GE on the metabolism of proteins in the body and to measure their turnover in growing boars. The experiment was carried out on boars (δ Danish Yorkshire \times ♀ Danish Landrace) from 60 to 120 days of age. At the age of 60 days, boars were divided into 2 groups: control and experimental, fed with feed with a content (g / kg) of crude protein 158.7, lysine 7.7, threonine 4.8, methionine 4.6, exchange energy (EE) 12.7 MJ / kg. The ratio of the first limiting amino acid lysine to EE was 61%. The boars of the experimental group were injected with 20-GE at a dose of 1.6 mg / kg of body weight. In boars of the experimental group, compared with the control, there was a decrease in urinary nitrogen excretion (by 26.8%, $P \leq 0.05$). Nitrogen retention was higher in boars of the experimental group by 19.0% ($P \leq 0.001$) compared to the control. The results of studies on protein turnover obtained using a stable isotope indicate that the anabolic effect of 20-GE is

determined by an increase in the rate of protein synthesis at the same rates of their degradation, nitrogen flow against the background of a decrease in its endogenous losses. 20-GE by activating a signal through protein kinase B provides an increase in biosynthetic processes at the stage of translation. It was concluded that the use of 20-GE in boars cultivation increases the efficiency of using amino acids for the synthesis and deposition of proteins in the body.

Работа выполнена в соответствии с утвержденным Государственным заданием ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных - филиал ФГБНУ ФНЦ животноводства - ВИЖ им. Л.К. Эрнста без привлечения дополнительных источников финансирования. Регистрационный номер НИОКР 0626-2016-0003. Авторы данной публикации подтверждают отсутствие каких-либо конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Володин В.А., Сидорова Ю. С., Мазо В.К. 20-гидроксиэcdизон – растительный адаптоген: анаболическое действие, возможное использование в спортивном питании // Вопросы питания – 2013 – Т. 82 – № 6 – С. 24-30.
2. Жаворонков Л.П. Основы прикладной медико-биологической статистики. Методическое пособие. Обнинск: ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России, 2012. 60 с.
3. Еримбетов К.Т., Обвинцева О.В., Михайлов В.В. Особенности метаболизма и формирования мясной продуктивности у свиней разных генотипов // Проблемы биологии продуктивных животных – 2018 – № 1 – С. 51-63.
4. Соловьева А.Г., Еримбетов К.Т., Обвинцева О.В. Разработка оригинальной добавки к корму поросят в период выращивания // Сборник трудов Краснодарского Научного Центра по зоотехнике и ветеринарии. – 2019. – Т. 8. – № 2. – С. 225-230. DOI:10.34617/em2b-ex15.
5. Anthony T.G., Mirek E.T., Bargoud A.R., Phillipson-Weiner L, DeOliveira C.M., Wetstein B., Graf B.L., Kuhn P.E., Raskin I. Evaluating the effect of 20-hydroxyecdysone (20HE) on mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling in the skeletal muscle and liver of rats // Appl. Physiol. Nutr. Metabol. – 2015. – Vol. 40. – P.1324-1328.
6. Anthony T.G. Mechanisms of protein balance in skeletal muscle // Domest. Anim. Endocrinol. – 2016. – 56(Suppl). – P. 23-32. DOI:10.1016/j.domeind.2016.02.012.
7. Ayuso M., Fernández A., Núñez Y. et al. Comparative analysis of muscle transcriptome between pig genotypes identifies genes and regulatory mechanisms associated to growth, fatness and metabolism // PLOS ONE. – 2015, December 22. DOI:10.1371/journal.pone.0145162.
8. Erimbetov K.T. Phenotypic regulation of animal skeletal muscle protein metabolism / Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A., Solovieva A.G. // Ukrainian Journal of Ecology. – 2019. - Т. 9. - № 4. – С. 651-656.
9. Krawielitzki K., Kreienbring F., Kowalczyk J., Zebrowska T., Schadereit R. Protein metabolism in farm animals. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr., 1996, 76: 57-65.
10. Li Y.H., Li F.N., Duan Y.H., Guo Q.P., Wen C.Y., Wang W.L., Huang X.G., Yin Y.L. Low-protein diet improves meat quality of growing and finishing pigs through changing lipid metabolism, fiber characteristics, and free amino acid profile of the muscle // J. Anim. Sci. – 2018. – Vol. 96. – No. 8. – P. 3221-3232.
11. Pahle T., Kohler R., Gebhardt G. Methodische Aspekte zur Bestimmung von N-Umsatzparametern aus 15N-Tracerversuchen an Schweinen auf der Grundlage von Modellen des N-Stoffwechsels. 3. Arch. Anim. Nutr. 1987: 737-743.
12. Zhang Q., Liu R., Xichao X. Effects of 20-hydroxyecdysone on improving memory deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rat // Eur. J. Pharmacol. – 2014. – Vol. 740. – P. 45–52.