

Фенотипические механизмы регуляции метаболизма мышечных белков у жвачных животных

**Докладчик – Еримбетов Кенес Тагаевич д.б.н.
Обвинцева О.В., к.б.н, м.н.с.**

ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста - 2020

Цель исследования

Изучение метаболизма белков мышц in vitro и in vivo и механизмов его регуляции у животных

Материал и методы

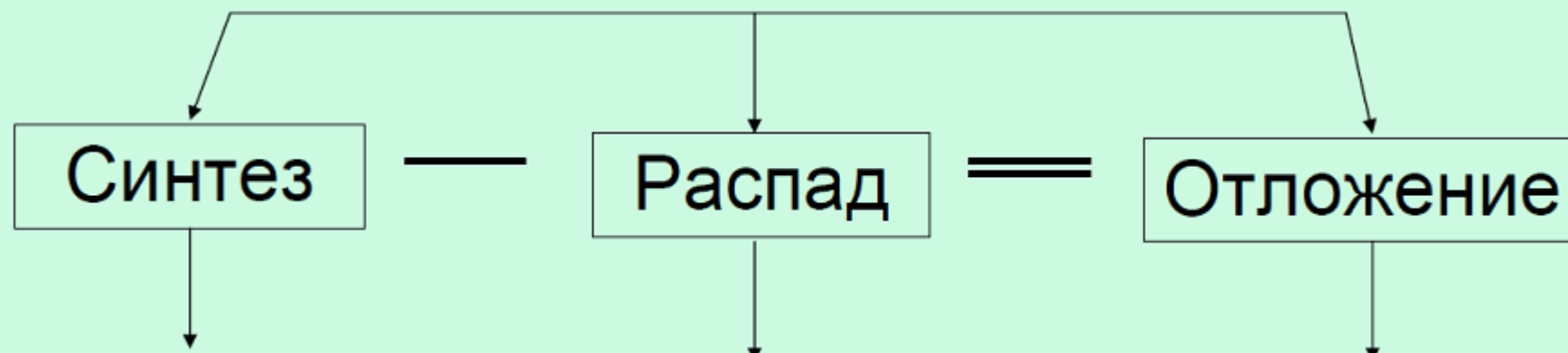
МАТЕРИАЛЫ

- - Стабильный изотоп ^{15}N – глицин;
- - Радиоактивный изотоп ^{14}C -лейцин;
- - Лизин, метионин, треонин;
- - 20-гидроксиэкдизон;
- - Моча, кал, кровь, мышцы.

МЕТОДЫ

- - Включение радиоактивного изотопа ^{14}C -лейцина [1 мКи L- / 2- 14 C/ лейцина] в белки длиннейшей мышцы спины *in vitro*. Удельную радиоактивность тотальных белков - на жидкостном сцинтилляционном счетчике РАК Бета фирмы «Бэкман».
- - Скорость синтеза и распада общих белков тела *in vivo* - с применением меченого по азоту аминокислоту ^{15}N -глицин. ^{15}N -глицин с обогащением 98 % атомного избытка вводили *per os* в количестве 3 мг ^{15}N на 1 кг массы тела поросят в течение 5 дней. Измерение содержания ^{15}N (в атомных процентах) - на изотопном масс-спектрометре.
- - Препаративное выделение фракции азота на приборе Къельтек по методу Къельдаля.
- - Концентрацию 3-метилгистидина в моче - методом ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе, содержание креатинина - химическим методом.
- - Разработанные модели оценки метаболизма белков белков *in vivo*.
- - Статистические методы.

Метаболизм (обмен) мышечных белков



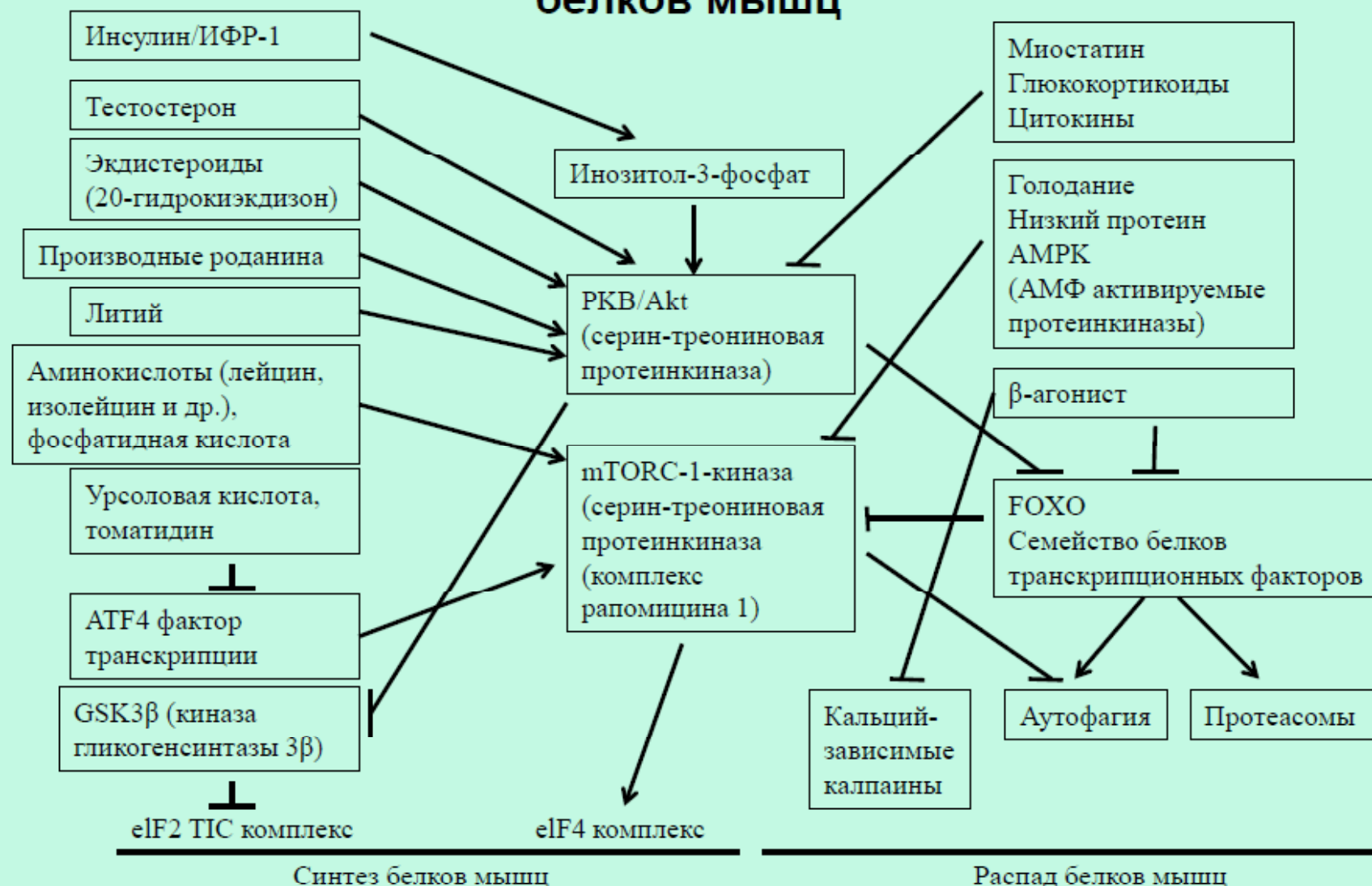
Белки являются крайне «дорогими» в энергетическом плане: для транспорта одной аминокислоты в клетку требуется 3 молекулы АТФ, а для синтеза одной пептидной связи необходимо уже около 15 молекул АТФ. Эмпирическая оценка затрат на белковый синтез приблизительно 5,4-7,2 МДж/кг синтезированного белка. Не менее 25% от затрат на белковый синтез связаны с процессом распада белков.

≈ 500-700 г/сутки
Быки 10-15 мес.
возраста

≈ 400-550 г/сутки
Быки 10-15 мес.
возраста

≈ 100-150 г/сутки
Быки 10-15 мес.
возраста
Прирост мышечной
массы ≈ 500-700 г/сутки

Сигнальные пути, координирующие метаболизм белков мышц



Факторы регуляции метаболизма мышечных белков

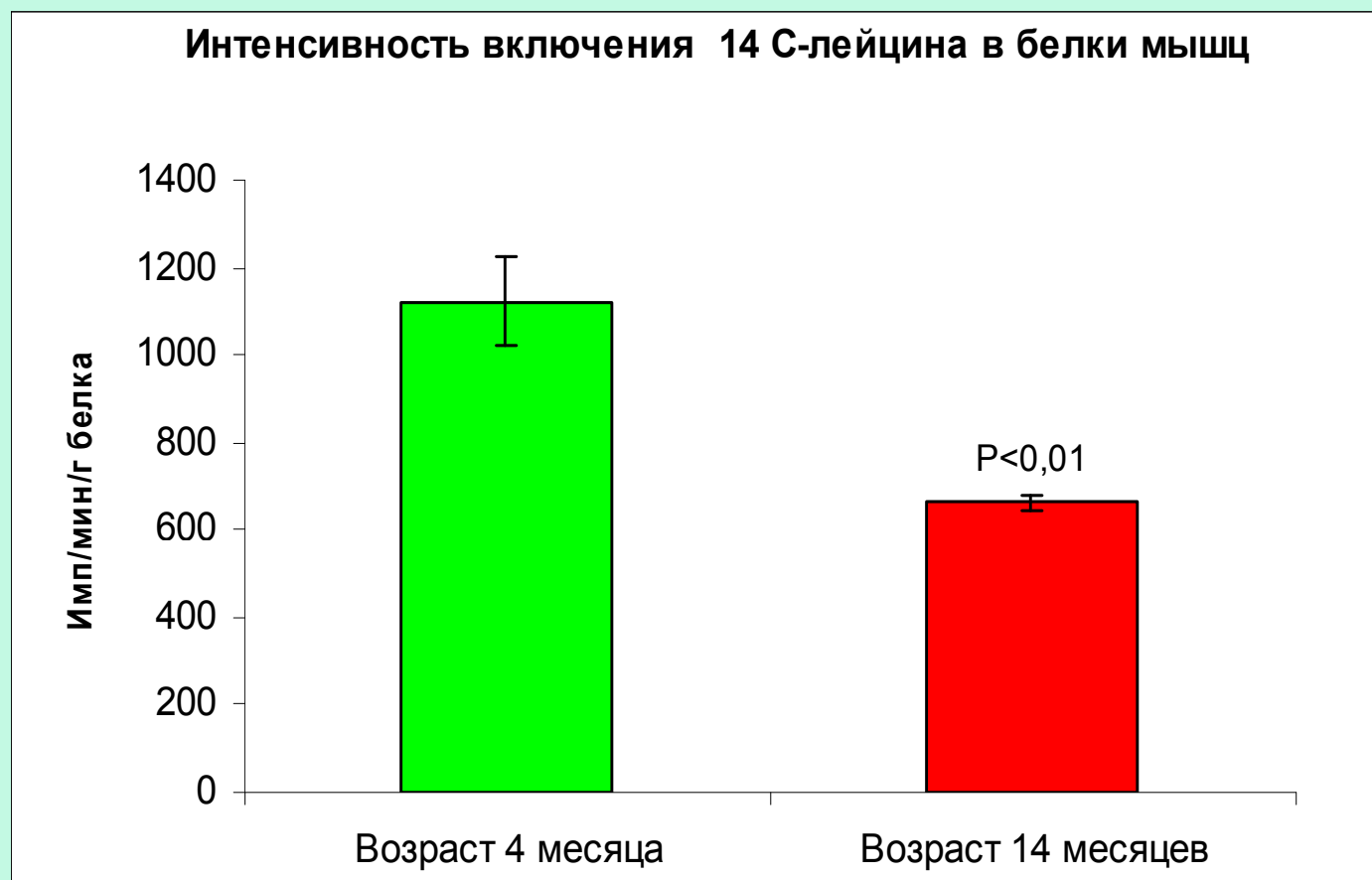
Анаболические и катаболические стимулы интегрируются посредством передачи сигналов в системах, контролирующих процессы синтеза и распада структурных белков скелетных мышц.

Генетические факторы (разные генотипы), тестостерон, аминокислоты, фитоэкдистероиды (20-гидроксиэкдизон), роданины (производное роданина), β -адренергические агонисты (кленбутерол), томатидин, урсоловая кислота влияют на метаболизм белка через сигнальные пути, изменяя эффективность роста мышц.

**Особенности обмена мышечных белков у бычков разного возраста,
и при введении кленбутерола г / сутки на кг общей массы мышц ^{0,75}**

Показатели	Группы	
	контроль	опыт
4- месячный возраст		
Синтез	18,45 ± 0,41	17,52 ± 0,38
Распад	12,83 ± 0,36	11,09 ± 0,47*
Отложение	5,62 ± 0,19	6,43 ± 0,25*
Отношение синтез/распад	1,44	1,58
Эффективность синтеза, %	30,5 ± 2,0	36,7 ± 1,6*
Интенсивность роста мышечной ткани, %	1,20 ± 0,06	1,38 ± 0,04*
14-месячный возраст		
Синтез	13,57 ± 0,25	12,89 ± 0,29
Распад	11,02 ± 0,21	9,78 ± 0,19*
Отложение	2,55 ± 0,18	3,11 ± 0,15*
Отношение синтез/распад	1,23	1,32
Эффективность синтеза, %	18,8 ± 1,9	24,1 ± 1,2*
Интенсивность роста мышечной ткани, %	0,41 ± 0,02	0,49 ± 0,02*

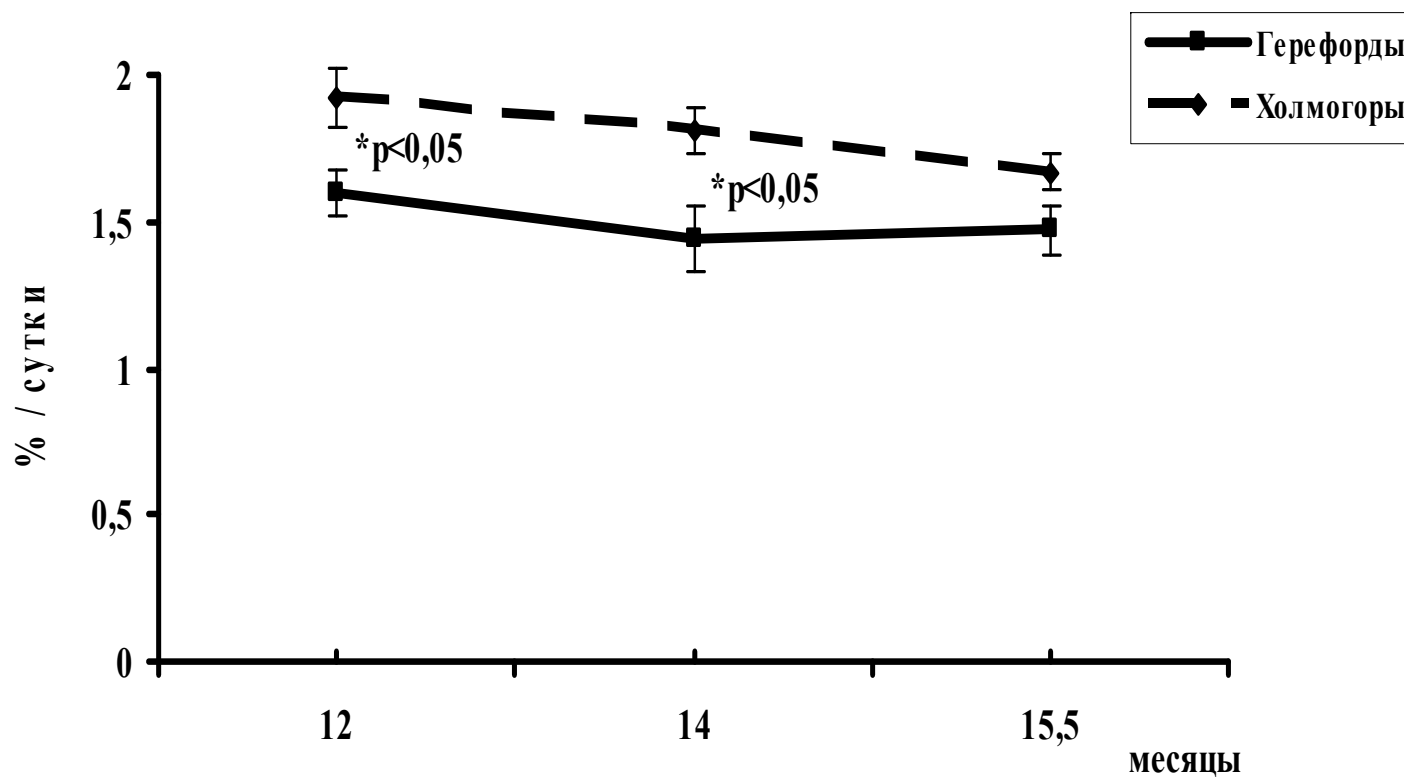
Исследования in vitro



Особенности обмена мышечных белков у бычков разного генотипа, г/кг метаболической массы/сутки (14 месяцев)

Показатели	Генотипы	
	герефорды	холмогоры
Синтез	6,28 ± 0,49	7,50 ±0,51
Распад	4,98 ± 0,46	6,45 ±0,35
Отложение	1,30 ± 0,17	1,05 ±0,13
Эффективность синтеза, %	20,7	14,0
Отношение синтез/распад	1,26	1,16

Относительная скорость деградации мышечных белков у бычков разного генотипа



Интенсивность липогенеза, нмоль ацетата на г ткани 2 ч., липолиза, нмоль НЭЖК на г ткани 2 ч. и диаметр адипоцитов, мкм*10 в жировой ткани бычков

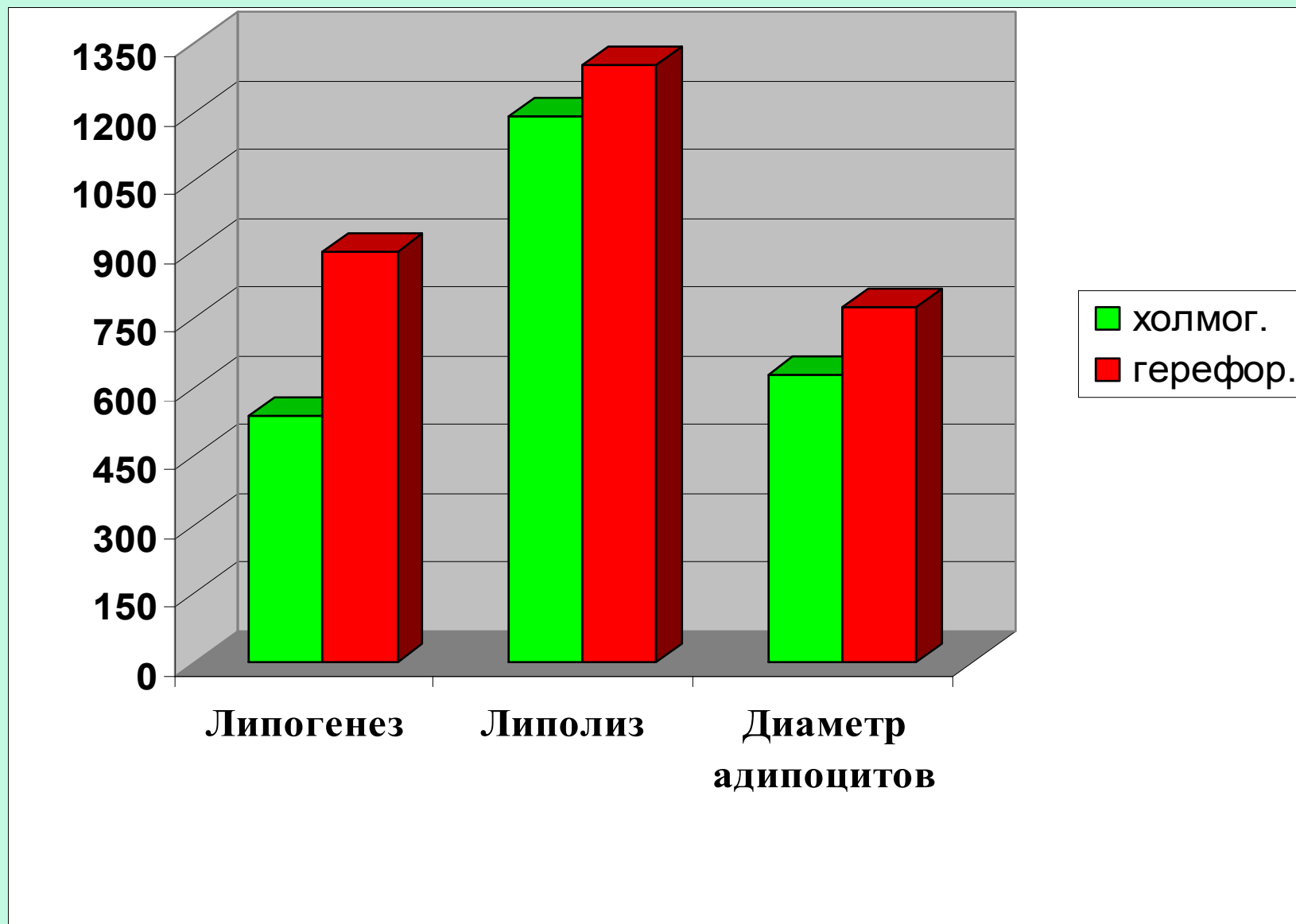


Таблица 1
Относительная деградация мышечных белков у бычков разных пород в различные возрастные периоды

Опыт	Группы	Количество животных	Относительная деградация мышечных белков, % в сутки
1	I (черно-пестрая порода)	3	$2,6 \pm 0,13$
	II (черно-пестрая порода)	4	$1,98 \pm 0,10$
	% к I		76,1 (p < 0,05)
2	I (холмогорская порода)	3	$2,87 \pm 0,05$
	II (холмогорская порода)	4	$2,41 \pm 0,04$
	% к I		84,0 (p < 0,01)
3	I (холмогорская порода)	4	$3,46 \pm 0,16$
	II (холмогорская порода)	4	$2,49 \pm 0,18$
	% к I		72,0 (p < 0,01)
4	I (холмогорская порода)	14	$2,95 \pm 0,11$
	II (холмогорская порода)	12	$2,31 \pm 0,14$
	% к I		78,3 (p < 0,01)
5	I (холмогорская порода)	3	$2,55 \pm 0,13$
	II (герефордская порода)	4	$1,70 \pm 0,17$
	% к I		66,4 (p < 0,01)

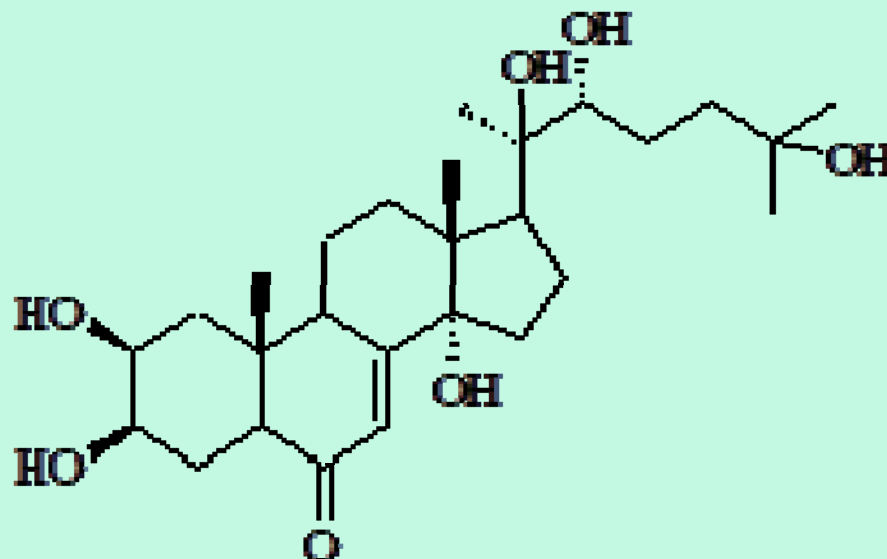
Характеристика 20-гидроксиэкдизона

20-гидроксиэкдистерон, отличается дополнительной гидроксильной группой в 20-м положении, стероид растительного происхождения, содержится в корнях Левзеи сафроловидной и других растений, имеет следующее структурную и эмпирическую формулу и молекулярную массу:

Эмпирическая формула: $C_{27}H_{44}O_7$

Молекулярная масса: 480,64

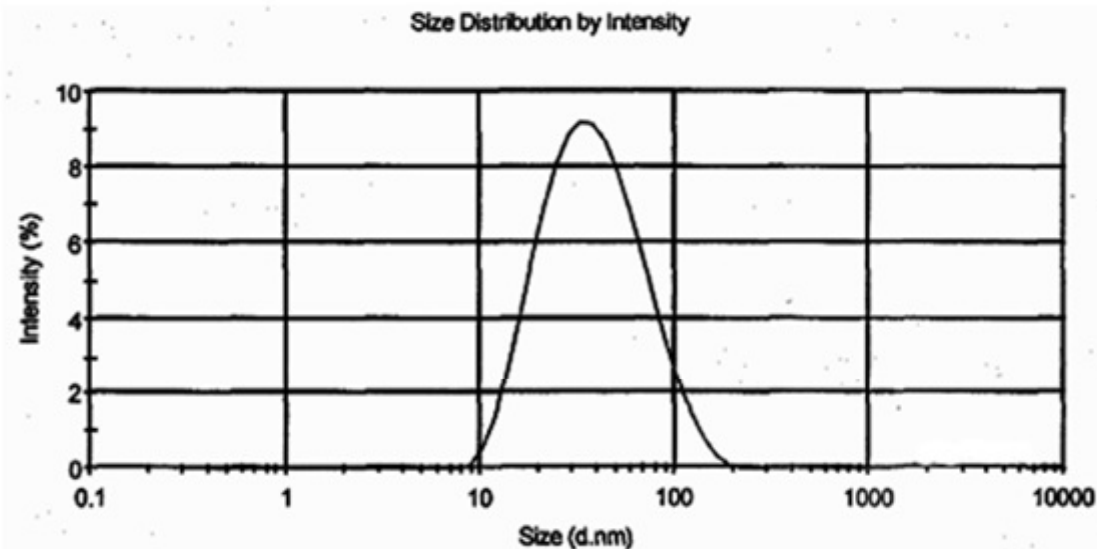
Содержит не менее 98,58 % 20-гидроксиэкдистерона



Результаты исследований

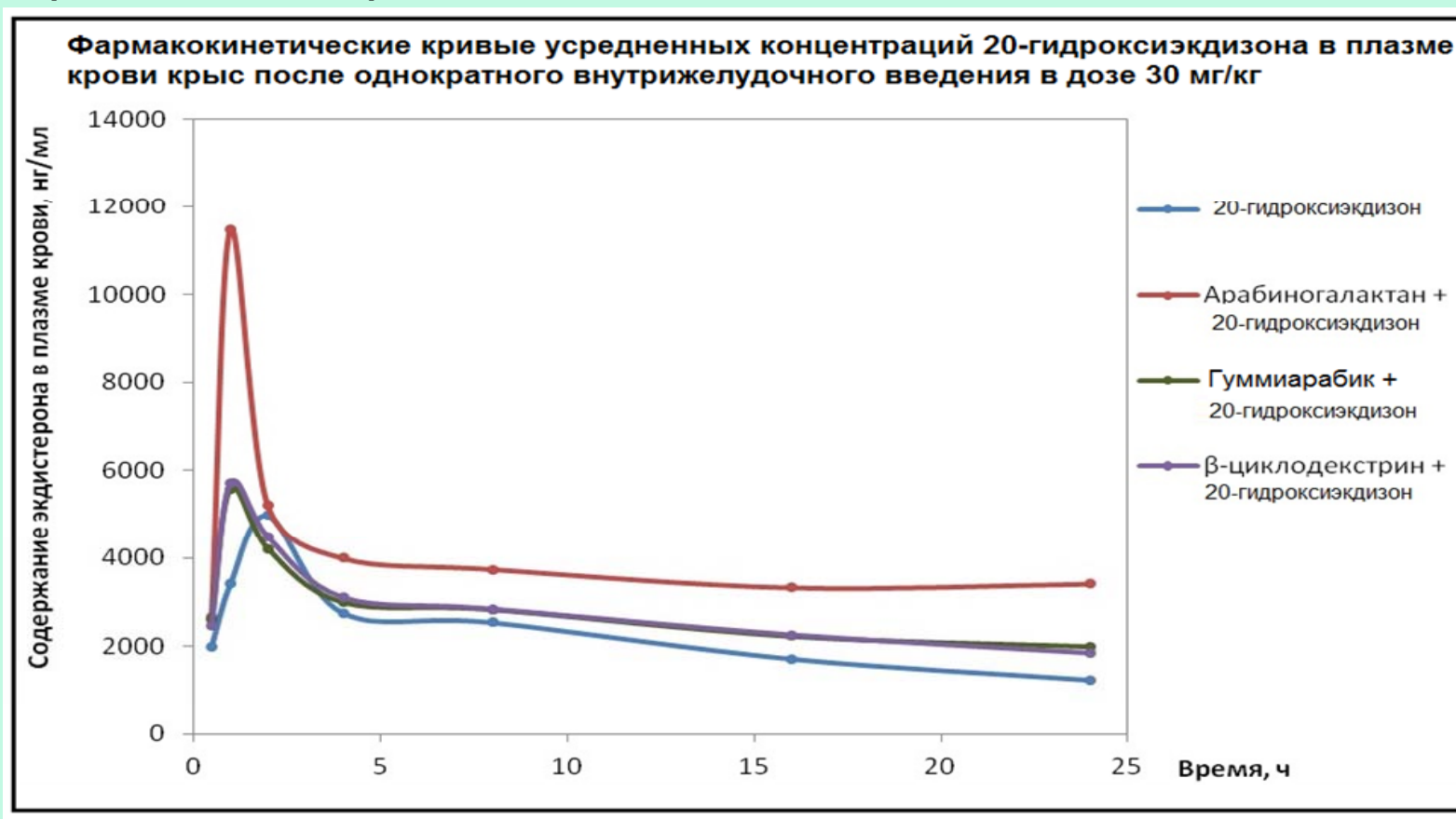
Полученные клатратные комплексы имели кристаллическую форму в виде наночастиц размером менее 100 нм. Например, комплексы 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном, при оптимальном массовом соотношении 1:10 были выделены в виде мелкодисперсного подвижного порошка светло жёлтого цвета со средним размером частиц 35,3 нм

Размер частиц комплекса арабиногалактана с 20 - гидроксiekдизоном
при масс. соотношении 10:1



Результаты исследований

1. В процессе исследования биодоступности 20-гидроксиэкдизона и его наноразмерных форм была разработана методика количественного анализа методом ВЭЖХ в плазме крови. Для 20-гидроксиэкдистерона калибровочная кривая была линейна в диапазоне 1- 4000 нг/мл, коэффициент достоверности аппроксимации составил 0,999. Нижний предел количественного обнаружения - до 10 нг/мл
2. Установлено, что наилучшей биодоступностью обладает композиция 20-гидроксиэкдизона с арабиногалактаном в соотношении 1:10



Влияние наноразмерной формы 20-гидроксиэкдизона на рост мышечной ткани и уровень и качества белка

Показатели	Группы		
	1-я (контроль)	2-я (опытная)	3-я (опытная)
Мышечная масса, г	367±18,3	439±15,2****	450±15,3***
Белок, г/100 г	21,6 ± 0,09	22,2± 0,24*	22,1± 0,21*
Саркоплазматические белки, г%	7,6±0,13	8,0±0,12*	8,1±0,18*
Миофибриллярные белки, г%	9,7±0,14	10,3±0,23	10,2±0,17
Стромальные белки, г%	4,3±0,13	3,9±0,15	3,8±0,18*

Характеристика 3-(2 –фенилэтил)-2-тиоксо-1,3 тиазолидин-4-она

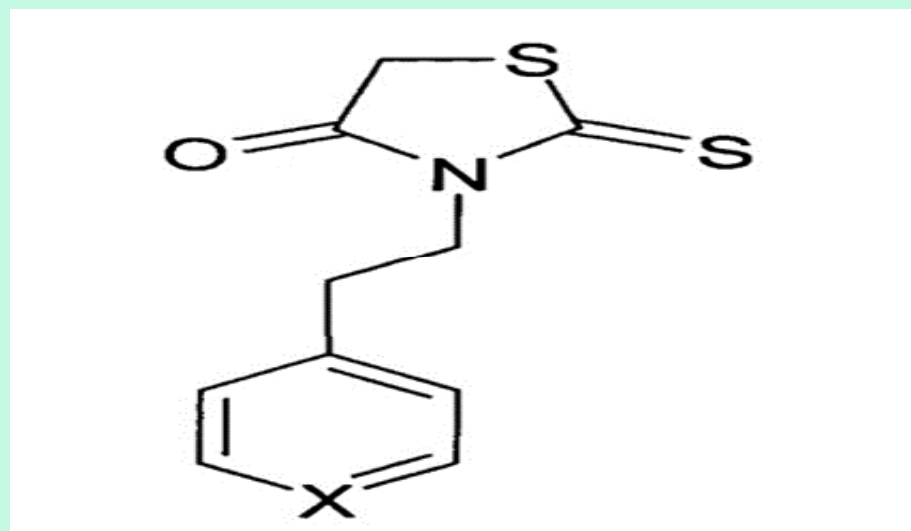
Соединение представляет собой кристаллический порошок желтого цвета, без запаха или со слабым характерным запахом хрена.

имеет следующее структурную и эмпирическую формулу и молекулярную массу:

Эмпирическая формула: $C_{11}H_{11}NOS_2$

Молекулярная масса: 237,3

Структурная формула:

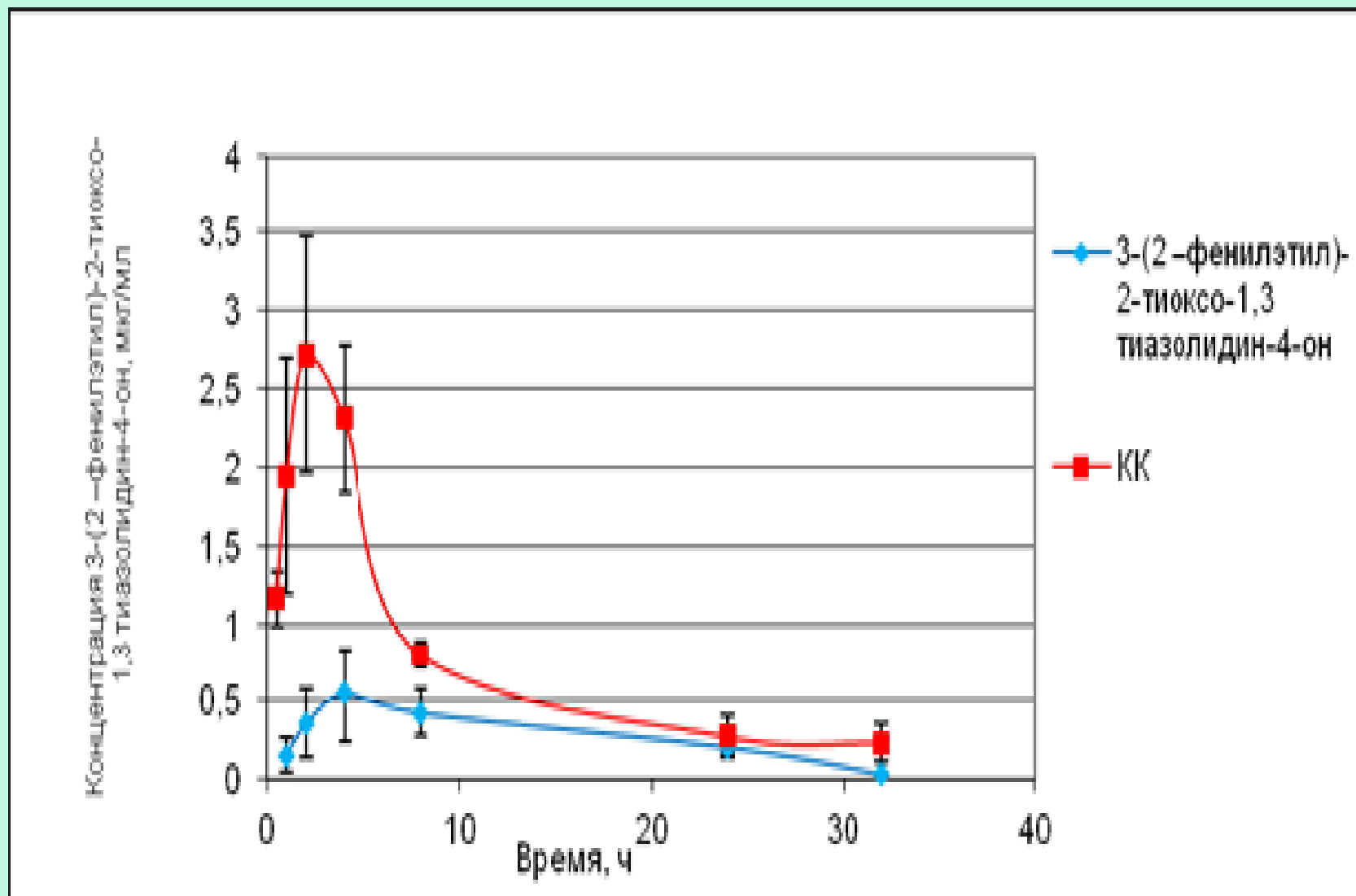


Результаты исследований

Получены новые клатратные комплексы 3-(2 –фенилэтил)-2-тиоксо-1,3 тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином при масс. соотношении от 1:5 до 1:10. Полученные клатратные комплексы имели кристаллическую форму в виде наночастиц со средним размером частиц 40,5 нм



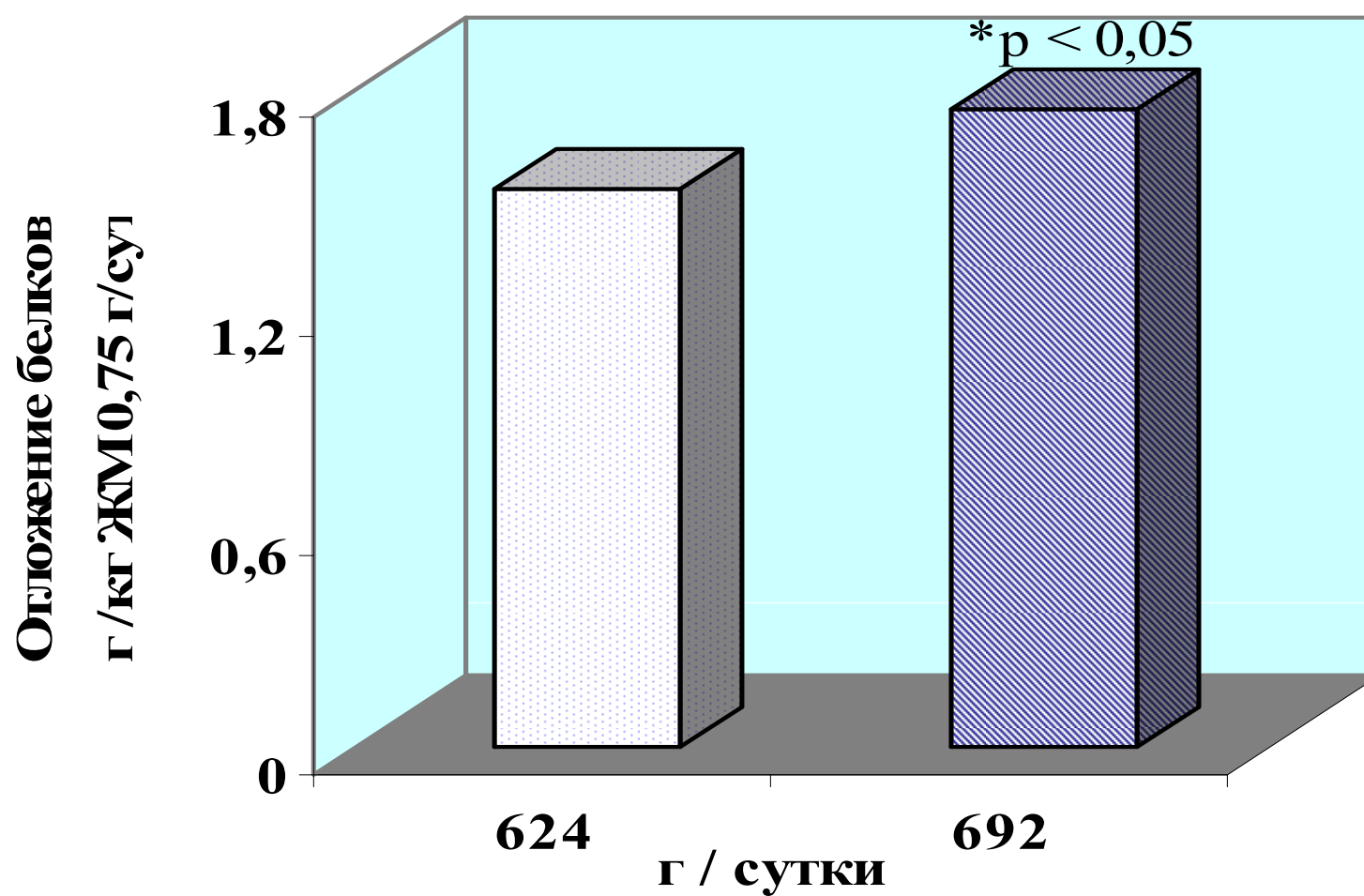
Фармакокинетические кривые усредненных концентраций 3-(2 – фенилэтил)-2-тиоксо-1,3 тиазолидин-4-она в плазме крови собак после введения исходного соединения и КК в дозах 100 мг/кг



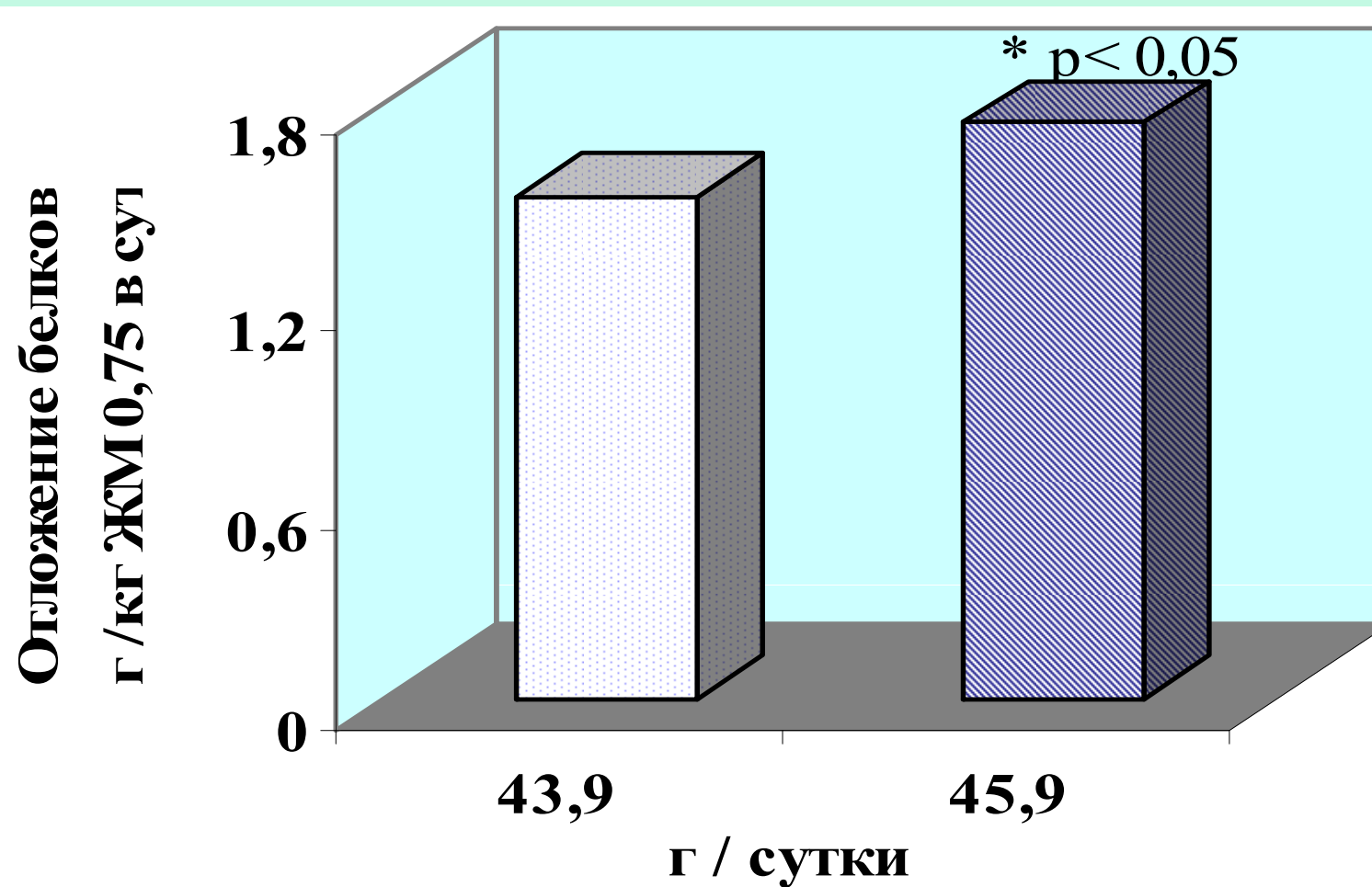
Влияние наноразмерной формы производного роданина на рост мышечной ткани и уровень и качества белка

Показатели	Группы		
	I (контроль)	II	III
Мышечная масса, г	422±19	475±12*	474±13
Белок, г/100 г	21,7 ± 0,13	22,5± 0,16*	22,4± 0,11*
Саркоплазматические белки, г%	7,5±0,16	8,1±0,14*	8,0±0,11*
Миофибриллярные белки, г%	9,8±0,12	10,4±0,17	10,5±0,15
Стромальные белки, г%	4,4±0,14	4,0±0,13	3,9±0,16

Влияние уровня доступного для обмена белка на отложение мышечных белков у бычков с живой массой 300 кг



Влияние уровня доступного для обмена лизина и лейцина на отложение мышечных белков у бычков с живой массой 300 кг



Заключение

- **Поддержание баланса между синтезом** и распадом белков в скелетных мышцах является необходимым условием для нормального роста и здоровья животных.
- **В области биологии продуктивных животных исследовательские усилия должны быть направлены** на понимание механизмов отложения белка в продуктивных тканях. Для конститутивных белков, включая мышечные белки, чистое отложение в ткани отражает баланс между синтезом и распадом, поэтому изменения в одном или в обоих составляющих процессах могут увеличить (или уменьшить) скорость роста. Анаболический ответ в периферических тканях детерминирован не только величиной всасывания аминокислот в кишечнике и транспорта их в клетки, но и многочисленными факторами регуляции, влияющими на соотношение между синтезом белка и его распадом.
- **Учёт этих факторов даёт определённые ориентиры** для выработки рекомендаций по повышению эффективности конверсии корма и повышения качества продукции.

Благодарю за внимание!