

**К. С. Остренко¹, В. П. Галочкина¹, В. О. Лемешевский^{1, 2}, А. В. Агафонова¹,
А. Н. Овчарова¹, Н. В. Белова¹, И. В. Кутын¹**

¹*ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФНЦ животноводства –
ВИЖ им. ак. Л. К. Эрнста, Боровск, Калужская область, Россия*

²*Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова
Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь*

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЦИКЛА ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ С ЦИКЛОМ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ СВИНЕЙ

Аннотация: Статья является фундаментальным началом цикла работ, направленных на понимание процессов, связанных с высокой продуктивностью у высших животных. Цель работы – изучение взаимосвязи цикла дикарбоновых кислот с циклом трикарбоновых кислот с установлением активности и дислокации ферментов, подтверждение гипотезы о наличии и активном метаболическом участии пероксисом у высокопродуктивных животных. Исследования проводили на базе вивария ВНИИФБиП животных в 2019 г. на группе поросят породы ирландский ландрас ($n = 10$). После убоя в возрасте 210 дней изучены ядерная (с крупными частицами ткани), митохондриальная и постмитохондриальная фракции печени с оценкой сукцинатдегидрогеназы и активности других дегидрогенов цикла Кребса. Выявлено, что пероксисомы выступают в качестве универсальных агентов коммуникации и кооперации, а микротельцы способны генерировать различные химические сигналы, переносящие информацию, по контролю и управлению рядом механизмов в метаболических взаимоотношениях организма. Несмотря на то что дегидрогеназы цикла Кребса считаются митохондриальными ферментами, в эксперименте наблюдалось увеличение активности приурватдегидрогеназы ($P > 0,1$), изоцитратдегидрогеназы ($0,1 > P > 0,05$) и малатдегидрогеназы ($0,1 > P > 0,05$), что при сравнении между собой митохондриальной и постмитохондриальной фракций указывает на проявление более высокой активности пероксисомальных фракций. Место локализации пероксисом – постмитохондриальная фракция, в нижнем слое сосредоточены в большей степени крупные пероксисомы, а в верхнем слое – более мелкие. Установлено, что индикаторные ферменты глиоксилатного цикла изоцитратлиаза и малатсинтаза проявляют каталитическую активность в пероксисомальной фракции печени высокопродуктивных свиней. Полученные данные о функционировании у высокопродуктивных свиней ключевых ферментов глиоксилатного цикла и их внутриклеточной компартиментализации позволяют глубже познать специфику обмена веществ и процессов его регуляции. Применение этих знаний на практике открывает перспективы рационализации производства животноводческой продукции повышенного количества, улучшенного качества с меньшими затратами кормов, труда и финансовых средств на ее производство. **Благодарности.** Работа выполнена в рамках НИР в 2019 г. по теме государственного задания «Совершенствование систем кормления и кормопроизводства, норм потребностей животных в энергии и питательных веществах на основе изучения метаболических процессов в организме сельскохозяйственных животных, разработки способов физиолого-биохимического и микробиологического регулирования с целью повышения реализации генетического потенциала продуктивности, функции воспроизводства и эффективности ведения отраслей животноводства» (0445-2019-0023). Номер государственного учета НИОКТР: АААА-А18-118021590136-7.

Ключевые слова: свиньи, регуляция метаболизма, цикл Кребса, глиоксилтный цикл, пероксисомы, анаплеротические реакции, цитратлиаза, малатсинтаза, липогенез, продуктивность

Для цитирования: Взаимосвязь цикла дикарбоновых кислот с циклом трикарбоновых кислот у высокопродуктивных свиней / К. С. Остренко, В. П. Галочкина, В. О. Лемешевский, А. В. Агафонова, А. Н. Овчарова, Н. В. Белова, И. В. Кутын // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2020. – Т. 58, №2. – С. 215–225. <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2020-58-2-215-225>

**Konstantin S. Ostrenko¹, Valentine P. Galochkina¹, Viktor O. Lemiasheuski^{1, 2}, Anastasia V. Agafonova¹,
Anastasiya N. Ovcharova¹, Nadia V. Belova¹, Iva V. Kutin¹**

¹*All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, Branch of Ernst VIZh Federal Science
Center for Animal Husbandry, Federal State Budgetary Scientific Institution, Borovsk, Kaluga region, Russia*

²*International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Minsk, Belarus*

CORRELATION OF DICARBOXYLIC ACID CYCLE WITH TRICARBOXYLIC ACID CYCLE IN HIGHLY PRODUCTIVE PIGS

Abstract: The paper is the fundamental beginning of research series aimed at understanding the processes associated with high performance in higher animals. The research aim is to study correlation of dicarboxylic acid cycle with tricarboxylic acid cycle with establishment of activity and dislocation of enzymes, confirming the hypothesis of availability and active

metabolic participation of peroxisome in highly productive animals. Research was conducted on the basis of the VNIIFBiP animal vivarium in 2019 with a group of piglets of the Irish Landrace breed ($n = 10$). After slaughter at the age of 210 days, the nuclear (with large tissue particles), mitochondrial and postmitochondrial fractions of the liver were studied with assessment of succinate dehydrogenase and activity of other dehydrogenases of the Krebs cycle. It was found that peroxisomes act as universal agents of communication and cooperation, and microtelets are able to generate various chemical signals that carry information, to control and arrange a number of mechanisms in the metabolic processes in the body. Despite the fact that the Krebs cycle dehydrogenases are considered mitochondrial enzymes, the experiment showed an increase in activity of pyruvate dehydrogenase ($P > 0.1$), isocitrate dehydrogenase ($0.1 > P > 0.05$) and malate dehydrogenase ($0.1 > P > 0.05$), which, when comparing the mitochondrial and postmitochondrial fractions, indicates a higher activity of peroxisomal fractions. The peroxisome localization place is the postmitochondrial fraction, and the lower layer contains larger peroxisomes to a greater extent, while the upper layer contains smaller ones. It was found that indicator enzymes of glyoxylate cycle isocitratliase and malate synthase exhibit catalytic activity in the peroxisomal fraction of liver of highly productive pigs. The obtained data on functioning of key glyoxylate cycle enzymes and their intracellular compartmentalization in highly productive pigs allow learning more about the specifics of metabolism and its regulation processes. Application of this knowledge in practice opens up prospects for rationalizing the production of livestock products of increased quantity, improved quality with less feed, labor and financial resources spent. **Acknowledgments.** The research was carried out as part of the State Research and Development Work in 2019 on the subject of the state task “Improvement of feeding systems and feed production, standards of animals requirements for energy and nutrients based on the study of metabolic processes in body of farm animals, development of methods of physiological, biochemical and microbiological regulation in order to improve implementation of the genetic potential for performance, reproduction function and efficiency of animal breeding process” (0445-2019-0023). The number of R&D state accounting: AAAA-A18-118021 590 136-7.

Keywords: pigs, regulation of metabolism, Krebs cycle, glyoxylate cycle, peroxisomes, anaplerotic reactions, citrate lyase, malatesynthase, lipogenesis, performance

For citation: Ostrenko K. S., Galochkina V. P., Lemiasheuski V. O., Agafonova A. V., Ovcharova A. N., Belova N. V., Kutin I. V. Correlation of dicarboxylic acid cycle with tricarboxylic acid cycle in highly productive pigs. *Vestsi Natsyyanal'nyay akademii navuk Belarusi. Seryya agrarnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian series*, 2020, vol. 58, no 2, pp. 215–225 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2020-58-2-215-225>

Введение. Классическим утверждением ученых-биохимиков является то, что глиоксилатный цикл работает только у микроорганизмов и высших растений [1]. С 70-х годов XX в. российские ученые в своих работах отмечали функционирование глиоксилатного цикла у новорожденных, голодающих и диабетических крыс, а также у особей, находящихся в экстремальных условиях (стресс) [2–5]. Данные результаты имеют принципиальную значимость, так как все четыре описанных состояния можно объединить общей для них закономерностью – метаболическим дефицитом глюкозы. Следует отметить, что данное метаболическое состояние необходимо для обеспечения высокой продуктивности и жвачных, и моногастричных сельскохозяйственных животных [6, 7].

Организм высокопродуктивных свиней в норме постоянно работает в условиях высокого адренергического состояния и биохимического стресса, т.е. именно в тех метаболических ситуациях, когда у лабораторных животных обнаруживали активность ферментов глиоксилатного цикла [8–10]. Следовательно, если не цикл полностью, то анаплеротические реакции, катализируемые его ключевыми и регуляторами ферментами (изоцитратлиазой и малатсинтазой), должны функционировать как неотъемлемые факторы, обеспечивающие поддержание высокой продуктивности свиней, гипертрофированно стимулируемой человеком.

Возникает необходимость рассмотреть вопрос о принципиальной биологической целесообразности функционирования специфического метаболического пути (укороченного цикла Кребса, глиоксилатного цикла). Этот цикл должен обеспечивать в организме высокопродуктивных свиней поставку четырехуглеродных соединений, необходимых для ускоренного синтеза жирных кислот, с меньшими затратами биологической энергии, а также дополнительный синтез глюкозы из уксусной кислоты и выработку энергии [11–14].

У высокопродуктивных свиней нами идентифицированы практически все процессы, потенциально способные индуцировать глиоксилатный цикл: 1) высокая интенсивность протеосинтеза и липогенеза сопровождается высоким адренергическим состоянием – постоянным инициатором метаболического стресса; 2) присутствие большого количества симбионтной микрофлоры в хорошо развитом толстом отделе кишечника свиней, продуцирующей низкомолекулярные жирные кислоты, особенно уксусную; 3) высокая концентрация уксусной кислоты при постоянно ощущаемом метаболическом дефиците глюкозы открывает дополнительные возможности

синтеза глюкозы из ацетата; 4) дефицит оксалоацетат (при возрастающей потребности в активизации цикла трикарбоновых кислот) вынуждает организм форсифицировать работу цикла Кребса иными путями. Его пропускная способность может быть повышена за счет направления части метаболического потока по сокращенному пути – циклу двууглеродных кислот, при котором устраняются самые напряженные стадии цикла Кребса – превращения изоцитрата, альфа-кетоглутарата и фосфорилирования. Это снижает метаболическое напряжение в митохондриях и активизирует окислительные процессы в пероксисомах – основных субклеточных компартментах локализации глиоксилатного цикла.

Главной спецификой обмена веществ свиней является способность накопления большого количества подкожного жира [15–17]. Лимитирующей стадией синтеза жирных кислот является карбоксилирование ацетил-КоА с образованием малонил-КоА, который участвует в синтезе жирных кислот. Однако гораздо активней синтез жирных кислот может идти из малонил-КоА, образующегося из сукцината. Потребность в сукцинате как источника быстрого обеспечения АТФ велика. Активный липогенез требует подключения реакций, восстанавливающих НАДФ, что может происходить наряду с глюкозо-6-фосфатным циклом в НАДФ-зависимых малати и изоцитратдегидрогеназных реакциях. Все это требует активизации превращения ацетата в сукцинат. Такая метаболическая ситуация может обеспечиваться функционированием глиоксилатного цикла [9, 18–20].

Метаболически целесообразное усовершенствование в виде появления дополнительного, укороченного цикла Кребса мы считаем возможным рассматривать как еще одно (не последнее) доказательство функционирования приспособительного механизма поддержания высокой продуктивности свиней в условиях повышенного притока активированной уксусной кислоты из толстого кишечника. Кроме того, значительная часть большого количества, постоянно образующегося в толстом кишечнике свиней аммиака, нейтрализуется с помощью альфа-кетоглутаровой кислоты. Потребность организма высокопродуктивных свиней в этой кислоте особенно высока. Ее постоянно необходимо высвобождать для цикла Кребса и реакций переаминирования и синтеза заменимых аминокислот, особенно интенсивно протекающих в организме высокопродуктивных свиней. Это очередные причины, по которым высокопродуктивным свиньям необходим данный «мини-цикл» лимонной кислоты [21–23].

Таким образом, ключевым моментом разрабатываемой авторской группой проектной теоретической концепции является гипотеза, согласно которой тесная координация и комплементарность работы цикла Кребса и глиоксилатного цикла у высокопродуктивных свиней абсолютно необходимы для создания и поддержания метаболической ситуации, обеспечивающей высокую продуктивность и хорошее здоровье животных. По мнению авторов, именно у высокопродуктивных животных, в отличие от животных с низкой продуктивностью, сформировалась метаболическая необходимость работы в пероксисомах глиоксилатного цикла. Только подключение глиоксилатного цикла способно оперативно интенсифицировать обмен веществ у свиней и поддерживать его в режиме, обеспечивающем достижение высокого продуктивного потенциала.

У современных культурных пород животных человек искусственно гипертрофировал продуктивность до размеров не только совершенно не нужных самому животному, но и приносящих его здоровью серьезный вред. Это явилось следствием глубоких изменений обменных процессов в организме высокопродуктивных животных. Избыточно высокая продуктивность животных ставит работу их организма в условия хронического метаболического стресса. Кроме того, по современным промышленным технологиям производства животноводческой продукции зачастую животные находятся в антибиологических условиях существования, что также является причиной возникновения у них технологических стрессов. Все это заставляет работать животный организм в избыточно напряженном метаболическом режиме [24, 25].

Одним из действенных механизмов, включаемых организмом высокопродуктивного животного в качестве ответной реакции на созданные условия перманентно форсируемого стресса, служит активизация у них работы ряда пероксисомальных ферментов [26]. К одним из первых кандидатов индуцируемого адаптивного процесса можно отнести малатсинтазу и изоцитратлиазу, активизация которых реально способна интенсифицировать поток метаболитов по центральному метаболическому пути – циклу трикарбоновых кислот. По нашим предположениям,

данный механизм позволит обеспечить достижение свиньями более высокую интенсивность роста (среднесуточный прирост живой массы около 1000 г) при условии начала функционирования у них глиоксилатного цикла.

Свиньи представляют собой уникальный биологический объект по большому перечню критериев. Один из них – исключительно высокая интенсивность процессов обмена веществ вообще и липидов с преобладанием липогенеза в частности. Активное бета-окисление жирных кислот в митохондриях до ацетил-КоА, который, окисляясь и метаболизируясь в цикле Кребса с подключением терминального окисления образовавшихся восстановленных никотиновых нуклеотидов, приводит к повышенному образованию и накоплению активных свободных радикалов. Для снятия напряжения в митохондриях у свиней в большей степени могут функционировать ферменты пероксисомального бета-окисления, что, в свою очередь, приведет к активации других пероксисомальных реакций, например, образованию четырехуглеродных компонентов из двухуглеродных [27]. При этом усиленный синтез липидов может проходить не из ацетил-КоА, а из малонил-КоА, источником которого послужит образовавшийся сукцинат [28, 29]. Это направление предпочтительнее, поскольку оно метаболически более выгодно, чем из ацетил-КоА. Описанная метаболическая ситуация может быть индуктором синтеза и активации ключевых и регуляторных ферментов футильного глиоксилатного цикла, представляющего собой, как уже указывалось, укороченный цикл Кребса.

Таким образом, возникает необходимость принципиальной биологической целесообразности функционирования специфического метаболического пути (укороченного цикла Кребса, глиоксилатного цикла). Данный цикл, по мнению авторов, должен обеспечивать в организме высокопродуктивных свиней поставку четырехуглеродных соединений, необходимых для ускоренного синтеза жирных кислот с меньшими затратами биологической энергии, а также дополнительный синтез глюкозы из уксусной кислоты и выработку энергии. Полученный материал позволит осуществить необходимую корректировку отдельных положений авторской концепции, а также поможет наметить новые подходы к направленной регуляции обмена веществ, следовательно, здоровья и продуктивности животных.

Цель исследования – изучение взаимосвязи цикла дикарбоновых кислот с циклом трикарбоновых кислот с установлением активности и дислокации ферментов, подтверждение гипотезы о наличии и активном метаболическом участии пероксисом у высокопродуктивных животных.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на базе вивария ВНИИФБиП животных в 2019 г. Была сформирована группа поросят породы ирландский ландрас из 10 гол. По достижению 210-дневного возраста был проведен убой. У освежеванных туш были отбораны образцы печени. В условиях лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии ВНИИФБиП животных и кафедры экологической химии и биохимии МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ проведено дифференциальное центрифугирование в плотности сахарозы и разделение гомогенатов печени на ядерную (с крупными частицами ткани), митохондриальную и постмитохондриальную фракции. Для определения чистоты фракций в них определяли: пероксисомальный маркерный фермент каталазу – по методу Королюка, основанному на способности перекиси водорода давать с молибдатом аммония желтую окраску; сукцинатдегидрогеназу (СДГ, сукцинат: флавопротеин-оксидоредуктаза, КФ 1.3.99.1), обусловленной ее жесткой фиксацией на внутренней мембране митохондрий, считающейся митохондриальным маркерным ферментом. В гомогенатах и его фракциях наряду с сукцинатдегидрогеназой определены активности других дегидрогеназ цикла Кребса пируватдегидрогеназы (ПДГ, пируват: липоат-оксидоредуктаза, КФ 1.2.4.1), изоцитратдегидрогеназы (ИДГ, изоцитрат: НАД-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.41), альфа-кетоглутаратдегидрогеназы (КГДГ, 2-оксиглутарат: липоат-оксидоредуктаза, КФ 1.2.4.2) и малатдегидрогеназы (МДГ, малат: НАД-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.37). Активность дегидрогеназ цикла Кребса: определена с использованием феназинметасульфата и тетразолия синего по методу Нордмана в модификации Ф. Е. Путиловой и Н. Д. Ещенко и выражена в нмолях тетразолия, восстановленного за минуту инкубации при 30 °С на 1 г ткани. Определены каталитические активности изоцитратлиазы (ИЦЛ, трео-D-изоцитрат глиоксилат лиаза, К.Ф. 4.1.3.1) и малатсинтазы (МС, L- малат глиоксилатлиаза, К.Ф. 4.1.3.2) с использованием метода, разработанного В. Н. Попова с соавт. (1996), выражены в нмоль/г ткани/мин [30].

Статистическую обработку данных проводили методом непараметрической статистики с использованием Kruskal-Wallis H-теста, который является аналогом метода Mann-Whitney U-тест, но с возможностью сравнения между собой одновременно более двух групп. Расчет производили при помощи программы STATISTICA.10.

Результаты и их обсуждение. Для исследования активности ферментов проводили гомогенизацию ткани печени поросят породы ирландский ландрас. Соотношение ткань : среда гомогенизации составило 3 г ткани, 12 мл среды гомогенизации. Для сохранения целостности клеточных структур гомогенизацию печени выполняли в гомогенизаторе Поттера-Эльвейема со стеклянным стаканом и тефлоновым пестиком при вращении пестика со скоростью 1000 об/мин с 50 подниманием и опусканием стакана. Среда гомогенизации была идентична среде выделения. Рабочий буфер (среда выделения) с содержанием 0,33 моля сахарозы, 50 ммоль трис-буфера, 1 ммоль ЭДТА и 1 ммоль дитиотриэтола, рН 7,5.

Осаждение крупных частиц ткани и ядер проводили на центрифуге ОС–6М при 3000 об/мин (938 г) в течение 10 мин (супернатант 1 и осадок 1). На этой же центрифуге из супернатанта 1 осаждали тяжелые митохондрии (осадок 2) при 5000 об/мин (2605 г) в течение 20 мин.

Супернатант 2, полученный после осаждения тяжелых митохондрий, использовали для выделения постмитохондриальной фракции, содержащей пероксисомы. На центрифуге Bekman J2-2/М/Е при 10 000 g в течение 35 мин проводили осаждение легких митохондрий (осадок 3). Над осадком 3 сформировался менее плотный (рыхлый) слой, который отдельно выделили как «рыхлый слой».

Постмитохондриальная фракция (супернатант 3) была представлена пероксисомами с небольшим загрязнением легкими митохондриями. Пероксисомы как клеточные субъединицы по размеру неоднородны. Частицы, диаметром приблизительно 0,3–1,5 мкм, относятся к пероксисомам, а диаметром 0,05–0,25 мкм – к микропероксисомам. По-видимому, в связи с этим постмитохондриальная (пероксисомальная) фракция была без четкой границы и разделялась на два слоя (нижний и верхний). Осадок этой фракции (осадок 3) – митохондриальная фракция, представленная легкими митохондриями. Осадок 2 ресуспендировали в буфере (1:4), он использовался для гомогенизирования и фракционирования гомогената. Осадок 3 также ресуспендировали в этом же буфере (1:2). Ресуспендированные осадки 2 и 3 объединили в общую митохондриальную фракцию.

Для выявления распределения по полученным фракциям из гомогенатов печени поросят митохондриальных и пероксисомальных ферментов в них была определена активность сукцинатдегидрогеназы, изоцитратлиазы и малатсинтазы (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Активность во фракциях гомогената печени поросят сукцинатдегидрогеназы, изоцитратлиазы и малатсинтазы, нмоль/мин/г ткани ($M \pm m$, $n = 10$)

Table 1. Activity of succinate dehydrogenase, isocitrate lyase and malate synthase in fractions of liver homogenate of piglets, nmol/min/g of tissue ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатель	Фракция гомогената				
	гомогенат	митохондриальная	постмитохондриальная		рыхлый слой
			верхний слой	нижний слой	
ИЦЛ	95,78 ± 21,98	Не выявлено	80,29 ± 37,96	182,93 ± 40,76	Не выявлено
МС	654,23 ± 257,0	Не выявлено	54,94 ± 13,73	444,52 ± 40,42	Не выявлено
СДГ	14,81 ± 1,85	31,30 ± 3,60	2,9 ± 0,5	6,36 ± 1,34	181,41 ± 36,91

П р и м е ч а н и е. ИЦЛ – изоцитратлиаза, МС – малатсинтаза, СДГ – сукцинатдегидрогеназа. Активности всех ферментов между полученными фракциями гомогената различаются с вероятностью в 98 % ($H = 9,68$, $P = 0,02$).

По данным А. А. Покровского и В. А. Тутельяна (1976), рыхлый слой почти всегда образуется при седиментационном фракционировании (за исключением микросомальной фракции) вследствие конвенции и диффузии частиц с близкими молекулярными массами [31]. В зависимости от целей работы, если для дальнейших исследований необходим осадок, то рыхлый слой удаляют вместе с надосадочной жидкостью, однако если для исследования необходим супернатант, то

рыхлый слой приравнивается к осадку. Описываемый рыхлый слой нами был взят для анализов на определение активности сукцинатдегидрогеназы, которая составила 1224,9 % относительно ее величины в гомогенате. Из этого следует, что при выбранном нами режиме фракционирования в данный слой опустились легкие митохондрии. Объединенные ресуспендированные осадки 2 и 3 представляли митохондриальную фракцию, состоящую из тяжелых и легких митохондрий, в которой была определена сукцинатдегидрогеназа активностью 31,30 нмоль/мин/г ткани (211,3 % от активности в гомогенате (см. табл. 1).

Полученный супернатант 3 не был однородным. В процессе центрифугирования образовались два слоя без четкого разграничения. Для определения загрязнения митохондриями в этих слоях была определена активность сукцинатдегидрогеназы. Активность ее в нижнем слое составила относительно активности в гомогенате 42,9 %, в верхнем – 19,6 %. Отдельно нижний и верхний слои супернатанта 3 использовали для определения активности изоцитратлиазы и малатсинтазы. В нижнем, более плотном, слое активность изоцитратлиазы составила 191,0 %, малатсинтазы – 84,0 %, относительно активности в гомогенате, в верхнем более прозрачном слое – 83,8 и 68,8 % соответственно.

Из этих данных следует, что место локализации пероксисом – постмитохондриальная фракция и в нижнем слое сосредоточены в большей степени крупные пероксисомы, а в верхнем слое – более мелкие.

Так как в рыхлом слое наивысшую активность проявила сукцинатдегидрогеназа, а активности маркерных ферментов глиоксилатного цикла не были выявлены, данный слой приравнивался нами к митохондриальной фракции. В дальнейших экспериментах мы объединяли осадки 2 и 3 и рыхлого слоя, формирующегося над осадком 3 в одну митохондриальную фракцию.

Знания особенностей обмена веществ у сельскохозяйственных животных и птицы послужили основанием для проведения исследования по определению ключевых ферментов глиоксилатного цикла изоцитратлиазы и малатсинтазы в печени свиней [32]. В связи с тем что изоцитратлиаза и малатсинтаза в метаболических процессах организма должны быть тесно связаны с ферментами цитратного цикла, в полученных фракциях гомогената печени свиней наряду с изоцитратлиазой и малатсинтазой были определены активности дегидрогеназ цикла Кребса (табл. 2). Чистоту фракций тестировали по наличию в них активности каталазы (табл. 3) и сукцинатдегидрогеназы (табл. 2). После проведения фракционирования гомогената печени по описанной выше методике при сравнении активности определяемых нами ферментов в нижней и верхней части постмитохондриальной фракции не было выявлено достоверных различий (в среднем доверительная вероятность различий составляла менее 50 %). Итак, для удобства изложения материала было решено объединить их в одну постмитохондриальную фракцию, полностью соответствующую 3-му супернатанту.

Из табл. 2 следует, что активность сукцинатдегидрогеназы у свиней достоверно различалась между фракциями ($P < 0,05$), имея наивысшее значение в митохондриальной фракции. Незначительная ее активность в постмитохондриальной фракции, по всей вероятности, является следствием остаточного наличия в них легких митохондрий.

Т а б л и ц а 2. Активность дегидрогеназ цикла Кребса в гомогенате и его фракциях печени свиней, нмоль/мин/г ткани ($M \pm m$)

T a b l e 2. Activity of dehydrogenases of the Krebs cycle in homogenate and its fractions of liver of pigs, nmol/min/g of tissue ($M \pm m$)

Фракция	Активность ферментов у свиней, $n=10$				
	ПДГ	ИДГ	КГДГ	СДГ	МДГ
Общий гомогенат	7,66±0,32	0,42±0,01	1,35±0,11*	247,13±24,13*	1,31±0,03*
Митохондриальная	2,47±0,03	0,30±0,01	1,09±0,04*	891,18±124,10*	0,83±0,01
Постмитохондриальная	3,50±0,08	0,23±0,01	0,63±0,01*	6,59±0,82*	0,81±0,01

* Доверительная вероятность различий активности ферментов между фракциями: $0,95 < P < 0,99$.

П р и м е ч а н и е. ПДГ – пируватдегидрогеназа, ИДГ – изоцитратдегидрогеназа, КГДГ – альфа-кетоглутаратдегидрогеназа, СДГ – сукцинатдегидрогеназа, МДГ – малатдегидрогеназа.

Несмотря на то что дегидрогеназы цикла Кребса считаются митохондриальными ферментами, в эксперименте наблюдалось отсутствие различий или же слабые различия в активности пируватдегидрогеназы ($P > 0,1$), изоцитратдегидрогеназы ($0,1 > P > 0,05$) и малатдегидрогеназы ($0,1 > P > 0,05$) при сравнении между собой митохондриальной и постмитохондриальной фракций. У свиней высокая активность пируватдегидрогеназы наблюдалась в постмитохондриальной фракции, но разница между этими фракциями была недостоверна ($P = 0,155$). Активность α -кетоглутаратдегидрогеназы различалась по всем фракциям с достоверной вероятностью различий в 98–95 %.

Существуют три изоформы малатдегидрогеназы: митохондриальная, пероксисомальная и цитоплазматическая. В большей степени наличие пероксисомальной изоформы малатдегидрогеназы подтверждается у свиней ($P = 1$), что свидетельствует об отсутствии различий между этими фракциями.

Таблица 3. Активность изоцитратлиазы, малатсинтазы (нмоль/мин/г ткани) и каталазы (моль/мин/г ткани) в гомогенате печени свиней и его фракциях ($M \pm m$)

Table 3. Activity of isocitratliase, malatesynthase (nmol/min/g of tissue) and catalase (mol/min/g of tissue) in homogenate of liver of pigs and its fractions ($M \pm m$)

Фракция	ИЦЛ	МС	КАТ
Общий гомогенат	0,000	4,27 ± 1,18*	141,31 ± 19,64*
Митохондриальная	0,000	0,000	17,80 ± 23,69*
Постмитохондриальная	257,95 ± 68,08	13,25 ± 2,23*	123,23 ± 24,51*

* Достоверная вероятность различий активности ферментов между фракциями $0,95 < P < 0,99$.

Примечание. ИЦЛ – изоцитратлиаза, МС – малатсинтаза, КАТ – каталаза.

Каталаза является маркерным ферментом пероксисомальной фракции. Анализ данных табл. 3 показал, что активность каталазы значительно отличается между фракциями (достоверная вероятность различий составляет 98 %). Общеизвестно, что каталаза отсутствует в митохондриях, и идентификация ее активности в митохондриальной фракции объясняется наличием в ней цитоплазматических фрагментов.

Малатсинтаза не проявила активность в митохондриальной фракции, а в постмитохондриальной она равна активности в гомогенате в пределах ошибки ($P = 0,96$), что можно трактовать как локализацию данного фермента в пероксисомах. Изоцитратлиаза показала недостаточно четкую картину. В митохондриальной фракции она проявила нулевую активность, но в постмитохондриальной фракции ее активность резко снизилась по сравнению с гомогенатом ($P < 0,001$). В литературе изоцитратлиазу считают более нестабильным ферментом, чем малатсинтазу, поскольку она в большей степени подвержена инактивации под действием факторов окружающей среды. Нестабильность данного фермента может служить объяснением такой низкой активности изоцитратлиазы в постмитохондриальной фракции у свиней.

Несмотря на неоднократное повторение определения активности изоцитратлиазы в гомогенате печени свиньи с изменением условий инкубации, ее активность не была выявлена. Возможно, у свиней в результате меняющихся условий кормления в большей степени подвержен изменению и обмен веществ. Поступающие метаболиты из желудочно-кишечного тракта создают различные метаболические ситуации, в результате чего по-разному происходит индукция этих ферментов. В постмитохондриальной фракции изоцитратлиаза проявила стабильную активность наравне с активностью ее у бычков. Возможно, повышенное содержание липидов в печени свиньи при использовании кинетического метода затрудняют определение активности ферментов, что требует повторных исследований и дальнейшей оптимизации метода определения изоцитратлиазы и малатсинтазы у высокопродуктивных моногастрических животных.

Особенности обмена веществ у свиней предполагают высокую активность сукцинатдегидрогеназы. Несмотря на это у свиней в гомогенатах печени определилась ее активность (достоверная вероятность различия между группами составила 99 %), что возможно только благодаря поступлению сукцината из пероксисом.

Заключение. Принципиальная биологическая целесообразность функционирования специфического метаболического пути (укороченный цикл Кребса, глиоксилатный цикл) представляет собой действенный механизм, включаемый организмом высокопродуктивного животного в качестве ответной реакции на созданные условия перманентно форсируемого стресса, проявляющегося в активизации ряда пероксисомальных ферментов. Активизация малатсинтазы и изоцитратлиаза в компартменте способствует интенсификации потока субстратов по центральному метаболическому пути – циклу трикарбоновых кислот. Данный механизм позволит обеспечить в организме высокопродуктивных свиней поставку четырехуглеродных соединений, необходимых для ускоренного синтеза жирных кислот с меньшими затратами биологической энергии, и будет направлен на дополнительный синтез глюкозы из уксусной кислоты и выработку энергии. Это даст возможность повысить интенсивность роста свиней (среднесуточный прирост живой массы около 1000 г) при условии начала функционирования у них глиоксилатного цикла.

1. Несмотря на то что дегидрогеназы цикла Кребса считаются митохондриальными ферментами, в эксперименте наблюдалось увеличение активности приурватдегидрогеназы ($P > 0,1$), изоцитратдегидрогеназы ($0,1 > P > 0,05$) и малатдегидрогеназы ($0,1 > P > 0,05$), что при сравнении между собой митохондриальной и постмитохондриальной фракций указывает на проявление более высокой активности пероксисомальных фракций. Место локализации пероксисом – постмитохондриальная фракция, в нижнем слое сосредоточены в большей степени крупные пероксисомы, а в верхнем слое – более мелкие. Установлено, что индикаторные ферменты глиоксилатного цикла изоцитратлиаза и малатсинтаза проявляют каталитическую активность в пероксисомальной фракции печени высокопродуктивных свиней.

2. Направленность метаболических процессов и их интенсивность зависят не от наличия во внутриклеточном пространстве тотального количества ферментов, катализирующих биохимические процессы активаторов, ингибиторов, субстратов и конечных продуктов реакций, а от распределения их по субклеточным компартментам и состояния биохимической коммуникации между ними. Известно, что значительная часть ферментов глиоксилатного цикла у простейших локализована в пероксисомах. В настоящее время пероксисома рассматривается как ключевая органелла, призванная осуществлять внутриклеточные, межклеточные и межорганные информационные потоки, обеспечивая кооперацию и регуляцию биохимических процессов. К хорошо известным и общепризнанным свойствам пероксисом в последнее время добавилась принципиально новая, исключительно интересная и значимая функция – «сигнальная трансдукция».

В результате подобранной оптимальной схемы фракционирования субклеточных органелл было впервые определено, что индикаторные ферменты глиоксилатного цикла изоцитратлиаза и малатсинтаза проявляют каталитическую активность в пероксисомальной фракции печени высокопродуктивных свиней. Экспериментально определено, что пероксисомы выступают в качестве универсальных агентов коммуникации и кооперации, а микротельцы способны генерировать различные химические сигналы, переносящие информацию, по контролю и управлению рядом механизмов в метаболических взаимоотношениях организма. Благодаря выявлению таких универсальных способностей стала развиваться концепция о «пероксисомальном организменном транскриптоне».

Полученные данные о функционировании у высокопродуктивных свиней ключевых ферментов глиоксилатного цикла и их внутриклеточной компартментализации позволяют глубже познать специфику обмена веществ и процессов его регуляции. Применение этих знаний на практике открывает перспективы рационализации производства животноводческой продукции повышенного количества, улучшенного качества с меньшими затратами кормов, труда и финансовых средств на ее производство.

Благодарности. Работа выполнена в рамках НИР в 2019 г. по теме государственного задания «Совершенствование систем кормления и кормопроизводства, норм потребностей животных в энергии и питательных веществах на основе изучения метаболических процессов в организме сельскохозяйственных животных, разработки способов физиолого-биохимического и микробиологического регулирования с целью повышения реализации генетического потенциала продуктивности, функции воспроизводства и эффективности ведения отраслей животноводства» (0445-2019-0023). Номер государственного учета НИОКТР: АААА-А18-118 021 590 136-7.

Список использованных источников

1. *Xu, Y.* Studies on the regulatory mechanism of isocitrate dehydrogenase 2 using acetylation mimics / Y. Xu [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – Art. 9785. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10337-7>.
2. *Волвенкин, С.В.* Субклеточная локализация и свойства ферментов глиоксилатного цикла в печени крыс с аллоксановым диабетом / С.В. Волвенкин, В.Н. Попов, А.Т. Епринцев // *Биохимия.* – 1999. – Т. 64, №9. – С. 1185–1191.
3. *Епринцев, А.Т.* Индукция аконитатгидратазы в гепатоцитах голодающих крыс / А.Т. Епринцев, Е.В. Семенова, В.Н. Попов // *Биохимия.* – 2002. – Т. 67, №7. – С. 959–966.
4. *Ещенко, Н.Д.* Роль цикла трикарбоновых кислот в метаболизме головного мозга / Н.Д. Ещенко, Ф.Е. Путилина // *Нервная система: сб. ст. / Ленингр. гос. ун-т. – Ленинград, 1973. – Вып. 13. – С. 23–40.*
5. Индукция пероксисомальной изоформы малатдегидрогеназы в печени крыс при пищевой депривации / В.Н. Попов [и др.] // *Биохимия.* – 2001. – Т. 66, №5. – С. 617–623.
6. *Кондрашова, М.Н.* Реализация глиоксилевого цикла в митохондриях ткани животных / М.Н. Кондрашова, М.А. Родионова // *Докл. Акад. наук СССР.* – 1971. – Т. 196, №5. – С. 1225–1227.
7. *Галочкина, В.П.* Возможная роль пероксисом и глиоксилатного цикла в регуляции обмена веществ в организме жвачных животных / В.П. Галочкина, В.А. Галочкин // *Успехи физиол. наук.* – 2009. – Т. 40, №1. – С. 66–76.
8. Pyruvate modifies metabolic flux and nutrient sensing during extracorporeal membrane oxygenation in an immature swine model / D.R. Ledee [et al.] // *Amer. J. of Physiology. Heart a. Circulatory Physiology.* – 2015. – Vol. 309, N 1. – P. H137–H146. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00011.2015>
9. Deoxynivalenol affects cell metabolism and increases protein biosynthesis in intestinal porcine epithelial cells (IPEC-J2): DON increases protein biosynthesis / C. Nossol [et al.] // *Toxins (Basel).* – 2018. – Vol. 10, N 11. – Art. 464. <https://doi.org/10.3390/toxins10110464>
10. *Volvenkin, S.V.* Subcellular localization and properties of glyoxylate cycle enzymes in the liver of rats with alloxan diabetes / S.V. Volvenkin, V.N. Popov, A.T. Eprintsev // *Biochemistry (Moscow).* – 1999. – Vol. 64, N 9. – P. 994–999.
11. α -Ketoglutarate prevents skeletal muscle protein degradation and muscle atrophy through PHD3/ADRB2 pathway / X. Cai [et al.] // *Faseb J.* – 2018. – Vol. 32, N 1. – P. 488–499. <https://doi.org/10.1096/fj.201700670r>
12. *Chen, J.* Alpha-ketoglutarate in low-protein diets for growing pigs: effects on cecal microbial communities and parameters of microbial metabolism / J. Chen [et al.] // *Frontiers in Microbiology.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 1057. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01057>
13. Supplementation with α -ketoglutarate to a low-protein diet enhances amino acid synthesis in tissues and improves protein metabolism in the skeletal muscle of growing pigs / J. Chen [et al.] // *Amino Acids.* – 2018. – Vol. 50, N 11. – P. 1525–1537. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2618-3>
14. Valproic acid induces prosurvival transcriptomic changes in swine subjected to traumatic injury and hemorrhagic shock / P.E. Georgoff [et al.] // *J. of Trauma a. Acute Care Surgery.* – 2018. – Vol. 84, N 4. – P. 642–649. <https://doi.org/10.1097/ta.0000000000001763>
15. Acetyl-CoA from inflammation-induced fatty acids oxidation promotes hepatic malate-aspartate shuttle activity and glycolysis / T. Wang [et al.] // *Amer. J. of Physiology. Endocrinology a. Metabolism.* – 2018. – Vol. 315, N 4. – P. E496–E510. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00061.2018>
16. *He, W.* Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors / W. He [et al.] // *Nature.* – 2004. – Vol. 429, N 6988. – P. 188–193. <https://doi.org/10.1038/nature02488>
17. Alpha-ketoglutarate enhances milk protein synthesis by porcine mammary epithelial cells / Q. Jiang [et al.] // *Amino Acids.* – 2016. – Vol. 48, N 9. – P. 2179–2188. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2249-5>
18. Citric acid cycle metabolites predict the severity of myocardial stunning and mortality in newborn pigs / J.A. Hyldebrandt [et al.] // *Pediatric Crit. Care Medicine.* – 2016. – Vol. 17, N 12. – P. e567–e574.
19. Induction of a peroxisomal malate dehydrogenase isoform in liver of starved rats / V.N. Popov [et al.] // *Biochemistry (Moscow).* – 2001. – Vol. 66, N 5. – P. 496–501.
20. Индукция ферментов глиоксилатного цикла в различных тканях голодающих крыс / В.Н. Попов [и др.] // *Изв. Рос. акад. наук. Сер. биол.* – 2000. – №6. – P. 672–678.
21. *Tomiya, A.J.* Stress and obesity / A.J. Tomiyama // *Annu. Rev. of Psychology.* – 2019. – Vol. 70, N 1. – P. 703–718. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010418-102936>
22. Glucose metabolism in pigs expressing human genes under an insulin promoter / M. Wijkstrom [et al.] // *Xenotransplantation.* – 2015. – Vol. 22, N 1. – P. 70–79. <https://doi.org/10.1111/xen.12145>
23. 5-Hydroxymethylcytosine localizes to enhancer elements and is associated with survival in glioblastoma patients / K.C. Johnson [et al.] // *Nature Communications.* – 2016. – N 7. – Art. 13177. <https://doi.org/10.1038/ncomms13177>
24. Succinate modulates intestinal barrier function and inflammation response in pigs / X. Li [et al.] // *Biomolecules.* – 2019. – Vol. 9, N 9. – Art. 486. <https://doi.org/10.3390/biom9090486>
25. L-Glutamate deficiency can trigger proliferation inhibition via down regulation of the mTOR/S6K1 pathway in pig intestinal epithelial cells / X.-G. Li [et al.] // *J. of Animal Science.* – 2016. – Vol. 94, N 4. – P. 1541–1549. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9432>
26. Hyperpolarized [13 C] pyruvate as a possible diagnostic tool in liver disease / U. Kjaergaard [et al.] // *Physiol. Rep.* – 2018. – Vol. 6, N 23. – P. e13943. <https://doi.org/10.14814/phy2.13943>
27. Succinate induces skeletal muscle fiber remodeling via SUNCR1 signaling / T. Wang [et al.] // *EMBO Rep.* – 2019. – Vol. 20, N 9. – Art. e47892. <https://doi.org/10.15252/embr.201947892>
28. Mitochondrial networks in cardiac myocytes reveal dynamic coupling behavior / F.T. Kurz [et al.] // *Biophys. J.* – 2015. – Vol. 108, N 8. – P. 1922–1933. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.01.040>
29. *Lyubarev, A.E.* Supramolecular organization of tricarboxylic acid cycle enzymes / A.E. Lyubarev, B.I. Kurganov // *Biosystems.* – 1989. – Vol. 22, N 2. – P. 91–102. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(89\)90038-5](https://doi.org/10.1016/0303-2647(89)90038-5)

30. Попов, В. Н. Очистка и свойства изоцитратлиазы и малатсинтазы из печени голодающих крыс / В. Н. Попов, А. У. Игамбердиев, С. В. Волвенкин // Биохимия. – 1996. – Т. 61, № 10. – С. 1898–1903.
31. Покровский, А. А. Лизосомы / А. А. Покровский, В. А. Тутельян. – М.: Наука, 1976. – 378 с.
32. Метаболические и регуляторные функции пероксисом (обзор) / В. А. Галочкин [и др.] // Проблемы биологии продуктив. животных. – 2015. – № 1. – С. 5–24.

References

- Xu Y., Liu L., Nakamura A., Someya S., Miyakawa T., Tanokura M. Studies on the regulatory mechanism of isocitrate dehydrogenase 2 using acetylation mimics. *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, no. 1, art. 9785. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10337-7>
- Volvenkin S. V., Popov V. N., Eprintsev A. T. Subcellular localization and properties of glyoxylate cycle enzymes in the liver of rats with alloxan diabetes. *Biochemistry (Moscow)*, 1999, vol. 64, no. 9, pp. 994-999.
- Eprintsev A. T., Semenova E. V., Popov V. N. Induction of aconitate hydratase in hepatocytes of starving rats. *Biochemistry (Moscow)*, 2002, vol. 67, no. 7, pp. 795-801.
- Eshchenko N. D., Putilina F. E. The role of tricarboxylic acid cycle as an important regulator of brain metabolism. *Nervnaya sistema = The nervous system*. Leningrad, 1973, iss. 13, pp. 23–40 (in Russian).
- Popov V. N., Volvenkin S. V., Kosmatykh T. A., Suad A., Shnarrenberger S., Eprintsev A. T. Induction of a peroxisomal malate dehydrogenase isoform in liver of starved rats. *Biochemistry (Moscow)*, 2001, vol. 66, no. 5, pp. 496-501.
- Kondrashova M. N., Rodionova M. A. Realization of glyoxylic cycle in tissue mitochondria of animals. *Doklady Akademii nauk SSSR [The Proceedings of the USSR Academy of Sciences]*, 1971, vol. 196, no. 5, pp. 1225-1227 (in Russian).
- Galochkina V. P., Galochkin V. A. Possible role of peroxisomes and glyoxylate cycle in regulation of ruminants metabolism. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk [Advances in Physiological Sciences]*, 2009, vol. 40, no. 1, pp. 66-76 (in Russian).
- Ledee D. R., Masaki K., Priddy C. M., O'Kelly, Olson A. K., Isern N., Robillard-Frayne I., Des Rosiers C., Portman M. A. Pyruvate modifies metabolic flux and nutrient sensing during extracorporeal membrane oxygenation in an immature swine model. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 2015, vol. 309, no. 1, pp. H137-H146. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00011.2015>
- Nossol C., Landgraf P., Kahlert S., Oster M., Isermann B., Dieterich D., Wimmers K., Dänicke S., Rothkötter H.-J. Deoxynivalenol affects cell metabolism and increases protein biosynthesis in intestinal porcine epithelial cells (IPEC-J2): DON increases protein biosynthesis. *Toxins (Basel)*, 2018, vol. 10, no. 11, art. 464. <https://doi.org/10.3390/toxins10110464>
- Volvenkin S. V., Popov V. N., Eprintsev A. T. Subcellular localization and properties of glyoxylate cycle enzymes in the liver of rats with alloxan diabetes. *Biochemistry (Moscow)*, 1999, vol. 64, no. 9, pp. 994-999.
- Cai X., Yuan Y., Liao Z., Xing K., Zhu C., Xu Y., Yu L., Wang L., Wang S., Zhu X. α -Ketoglutarate prevents skeletal muscle protein degradation and muscle atrophy through PHD3/ADRB2 pathway. *FASEB Journal*, 2018, vol. 32, no. 1, pp. 488-499. <https://doi.org/10.1096/fj.201700670r>
- Chen J., Kang B., Jiang Q., Han M., Zhao Y., Long L., Fu C., Yao K. Alpha-ketoglutarate in low-protein diets for growing pigs: effects on cecal microbial communities and parameters of microbial metabolism. *Frontiers in Microbiology*, 2018, vol. 9, art. 1057. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01057>
- Chen J., Su W., Kang B., Jiang Q., Zhao Y., Fu C., Yao K. Supplementation with α -ketoglutarate to a low-protein diet enhances amino acid synthesis in tissues and improves protein metabolism in the skeletal muscle of growing pigs. *Amino Acids*, 2018, vol. 50, no. 11, pp. 1525–1537. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2618-3>
- Georgoff P. E., Nikolian V. C., Higgins G., Chtraklin K., Eidy H., Ghandour M. H., Williams A., Athey B., Alam H. B. Valproic acid induces prosurvival transcriptional changes in swine subjected to traumatic injury and hemorrhagic shock. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 2018, vol. 84, no. 4, pp. 642-649. <https://doi.org/10.1097/ta.0000000000001763>
- Wang T., Yao W., Li J., He Q., Shao Y., Huang F. Acetyl-CoA from inflammation-induced fatty acids oxidation promotes hepatic malate-aspartate shuttle activity and glycolysis. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 2018, vol. 315, no. 4, pp. E496-E510. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00061.2018>
- He W., Miao F. J., Lin D. C., Schwandner R. T., Wang Z., Gao J., Chen J. L., Tian H., Ling L. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. *Nature*, 2004, vol. 429, no. 6988, pp. 188–193. <https://doi.org/10.1038/nature02488>
- Jiang Q., He, L., Hou Y., Chen J., Duan Y., Deng D., Wu G., Yin Y., Yao K. Alpha-ketoglutarate enhances milk protein synthesis by porcine mammary epithelial cells. *Amino Acids*, 2016, vol. 48, no. 9, pp. 2179-2188. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2249-5>
- Hyldebrandt J. A., Støttrup N. B., Frederiksen C. A., Heiberg J., Dupont B., Rune I., Johannsen M., Schmidt M. R., Ravn H. B. Citric acid cycle metabolites predict the severity of myocardial stunning and mortality in newborn pigs. *Pediatric Critical Care Medicine*, 2016, vol. 17, no. 12, pp. e567-e574. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000000982>
- Popov V. N., Volvenkin S. V., Kosmatykh T. A., Suad A., Schnarrenberger C., Eprintsev A. T. Induction of a peroxisomal malate dehydrogenase isoform in liver of starved rats. *Biochemistry (Moscow)*, 2001, vol. 66, no. 5, pp. 496-501.
- Popov V. N., Volvenkin S. V., Eprintsev A. T., Igamberdiev A. U. The induction of glyoxylate cycle enzymes in tissues of starving rats. *Biology Bulletin*, 2000, vol. 27, no. 6, pp. 565-570.
- Tomiyama A. J. Stress and obesity. *Annual Review of Psychology*, 2019, vol. 70, no. 1, pp. 703-718. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010418-102936>
- Wijkstrom M., Bottino R., Iwase H., Hara H., Ekser B., van der Windt D. J., Long C., Toledo F., Phelps C., Trucco M., Coope D. K. C., Ayares D. Glucose metabolism in pigs expressing human genes under an insulin promoter. *Xenotransplantation*, 2015, vol. 22, no. 1, pp. 70–79. <https://doi.org/10.1111/xen.12145>
- Johnson K. C., Houseman E. A., King J. E., von Herrmann K. M., Fadul C. E., Christensen B. C. 5-Hydroxymethylcytosine localizes to enhancer elements and is associated with survival in glioblastoma patients. *Nature Communications*, 2016, vol. 7, art. 13177. <https://doi.org/10.1038/ncomms13177>
- Li X., Mao M., Zhang Y., Yu K., Zhu W. Succinate modulates intestinal barrier function and inflammation response in pigs. *Biomolecules*, 2019, vol. 9, no. 9, art. 486. <https://doi.org/10.3390/biom9090486>

25. Li X.-G., Sui W.-G., Gao C.-Q., Yan H.-C., Yin Y.-L., Li H.-C., Wang X.-Q. L-Glutamate deficiency can trigger proliferation inhibition via down regulation of the mTOR/S6K1 pathway in pig intestinal epithelial cells. *Journal of Animal Science*, 2016, vol. 94, no. 4, pp. 1541–1549. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9432>
26. Kjaergaard U., Laustsen C., Nørlinger T., Tougaard R. S., Mikkelsen E., Qi H., Bertelsen L. B., Jessen N., Stødkilde-Jørgensen H. Hyperpolarized [^{13}C] pyruvate as a possible diagnostic tool in liver disease. *Physiological Reports*, vol. 6, no. 23, p. e13943. <https://doi.org/10.14814/phy2.13943>
27. Wang T., Xu Y. Q., Yuan Y. X., Xu P. W., Zhang C., Li F. (et al.). Succinate induces skeletal muscle fiber remodeling via SUNCRI signaling. *EMBO Reports*, 2019, vol. 20, no. 9, art. e47892. <https://doi.org/10.15252/embr.201947892>
28. Kurz F. T., Derungs T., Aon M. A., O'Rourke B., Armoundas A. A. Mitochondrial networks in cardiac myocytes reveal dynamic coupling behavior *Biophysical Journal*, 2015, vol. 108, no. 8, pp. 1922–1933. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.01.040>
29. Lyubarev A. E., Kurganov B. I. Supramolecular organization of tricarboxylic acid cycle enzymes. *Biosystems*, 1989, vol. 22, no. 2, pp. 91–102. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(89\)90038-5](https://doi.org/10.1016/0303-2647(89)90038-5)
30. Popov V. N., Igamberdiev A. U., Volvenkin S. V. Purification and properties of isocitrate lyase and malate synthase from liver of starving rats. *Biochemistry (Moscow)*, 1996, vol. 61, no. 10, pp. 1346–1349.
31. Pokrovskii A. A., Tutel'yan V. A. *Lysosomes*. Moscow, Nauka Publ., 1976. 378 p. (in Russian).
32. Galochkin V. A., Agafonova A. V., Galochkina V. P., Cherepanov G. G. Metabolic and regulatory functions of peroxisomes. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh = Problems of Productive Animal Biology*, 2015, no. 1, pp. 5–24 (in Russian).

Информация об авторах

Остренко Константин Сергеевич – доктор биологических наук, заведующий лабораторией иммунобиотехнологии и микробиологии, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФНЦ животноводства – ВИЖ им. ак. Л.К. Эрнста (пос. Институт, 249013 Боровск, Калужская область, Российская Федерация). E-mail: Ostrenkoks@gmail.com

Галочкина Валентина Петровна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФНЦ животноводства – ВИЖ им. ак. Л.К. Эрнста (пос. Институт, 249013 Боровск, Калужская область, Российская Федерация). E-mail: galochkina1940@mail.ru

Лемешевский Виктор Олегович – кандидат с.-х. наук, доцент, доцент кафедры экологической химии и биохимии, Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ (ул. Долгобродская 23/1, 220070 Минск, Республика Беларусь). E-mail: Lemeshonak@yahoo.com

Агафонова Анастасия Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФНЦ животноводства – ВИЖ им. ак. Л.К. Эрнста (пос. Институт, 249013 Боровск, Калужская область, Российская Федерация). E-mail: serna-sun@mail.ru

Овчарова Анастасия Никитовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФНЦ животноводства – ВИЖ им. ак. Л.К. Эрнста (пос. Институт, 249013 Боровск, Калужская область, Российская Федерация). E-mail: naka7@yandex.ru

Белова Надежда Викторовна – аспирант лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФНЦ животноводства – ВИЖ им. ак. Л.К. Эрнста (пос. Институт, 249013 Боровск, Калужская область, Российская Федерация). E-mail: navikbel@mail.ru

Кутын Иван Владимирович – аспирант лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФНЦ животноводства – ВИЖ им. ак. Л.К. Эрнста (пос. Институт, 249013 Боровск, Калужская область, Российская Федерация). E-mail: Kurookami@mail.ru

Information about the authors

Konstantin S. Ostrenko - D.Sc. (Biology). All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, Branch of Ernst VIZh Federal Science Center for Animal Husbandry, Federal State Budgetary Scientific Institution (VNIIFBiP, 249013 Borovsk, Kaluga region, Russian Federation). E-mail: Ostrenkoks@gmail.com

Valentine P. Galochkina – D.Sc. (Biology). All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, Branch of Ernst VIZh Federal Science Center for Animal Husbandry, Federal State Budgetary Scientific Institution (VNIIFBiP, 249013 Borovsk, Kaluga region, Russian Federation). E-mail: galochkina1940@mail.ru

Viktar O. Lemiasheuski - Ph.D. (Agriculture), Associate Professor. International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University (23 Dolgobrodskaya Str., 220070 Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Lemeshonak@yahoo.com

Anastasia V. Agafonova - Ph.D. (Biology). All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, Branch of Ernst VIZh Federal Science Center for Animal Husbandry, Federal State Budgetary Scientific Institution (VNIIFBiP, 249013 Borovsk, Kaluga region, Russian Federation). E-mail: serna-sun@mail.ru

Anastasiya N. Ovcharova - Ph.D. (Biology). All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, Branch of Ernst VIZh Federal Science Center for Animal Husbandry, Federal State Budgetary Scientific Institution (VNIIFBiP, 249013 Borovsk, Kaluga region, Russian Federation). E-mail: naka7@yandex.ru

Nadia V. Belova - Postgraduate Student. All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, Branch of Ernst VIZh Federal Science Center for Animal Husbandry, Federal State Budgetary Scientific Institution (VNIIFBiP, 249013 Borovsk, Kaluga region, Russian Federation). E-mail: navikbel@mail.ru

Ivan V. Kutin - Postgraduate Student. All-Russia Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, Branch of Ernst VIZh Federal Science Center for Animal Husbandry, Federal State Budgetary Scientific Institution (VNIIFBiP, 249013 Borovsk, Kaluga region, Russian Federation). E-mail: Kurookami@mail.ru