

УДК 612.335.636.4

**СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В РУБЦЕ
И ВЛИЯНИЕ НА НИХ ФАКТОРОВ ПИТАНИЯ
(ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПИЩЕВАРЕНИЯ У ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ)**

**В. В. Малашко¹, Г. А. Тумилович¹, Али Омар Хуссейн Али¹,
В. Т. Бозер¹, И. В. Кулеш¹, А. М. Казыро¹, Н. К. Гойлик¹,
Д. В. Малашко¹, А. В. Башура¹, Аль-Малеки Ахмед Касем Али¹,
Я. Шенгаут²**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь
(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28
e-mail:ggau@ggau.by)

² – ЗАО «Jakovo veterinarijos centras»
г. Вильнюс (Литва)

***Ключевые слова:** ацидоз, рубец, летучие жирные кислоты, слизистая оболочка, микробы, энергия, морфология, патология.*

***Аннотация.** Изучено морфофункциональное состояние рубца крупного рогатого скота при алиментарных нарушениях кормления. Установлено, что*

при ацидозе происходят глубокие структурные перестройки, сопровождающиеся нарушением микробиологических и микроциркуляторных процессов, что позволяет токсическим продуктам проникать в кровь. Снижаются защитные механизмы рубца.

**STRUCTURAL AND METABOLIC PROCESSES IN RUMEN
AND INFLUENCE OF NUTRITIVE FACTORS
ON THE SE PROCESSES (THEORETICAL AND PRACTICAL
ASPECTS OF DIGESTION OF RUMINANT ANIMALS)**

**V. Malashko¹, G. Tumilovich¹, Ali Omar Hussein Ali¹, V. Bozer,
I. Kulesh¹, A. Kazyro¹, N. Hoilik¹, D. Malashko¹, A. Bashura¹,
Al-Maleki Ahmed Kasem¹, Y. Shengaut²**

¹ – EI «Grodno State Agrarian University»
(Belarus, Grodno, 230008, 28 Tereshkova st.)

² – ZAO «Jakovo veterinarijos centras», Vilnius (Lithuania)

***Key words:** acidosis, rumen, volatile fatty acids, mucous membrane, bacteria, energy, morphology, pathology.*

***Summary.** The morphofunctional state of rumen of cattle when there is alimentary disorder of feeding has been studied. It has been determined that deep structural changes come amid abnormality of microbiological and micro circulatory when there is acidosis and that makes it possible to percolate toxic products in blood. Defense mechanisms of rumen reduce.*

(Поступила в редакцию 20.06.2016 г.)

Введение. Центральной проблемой в питании жвачных животных является понимание физиологического механизма, регулирующего прием корма. Высокая продуктивность и хозяйственная ценность животного определяется в первую очередь уровнем поступления энергии (рис. 1).

Процесс всасывания в преджелудках был открыт в 1933 г. Долгое время считали эпителий рубца непроницаемым. При этом исходили из его морфологического сходства с эпидермисом, роговой слой которого даже по современным представлениям исключительно трудно проникаем для воды и растворенных в ней веществ [1, 2].

Слизистая оболочка рубца играет роль третьего компартмента между наполненным жидкостью просветом рубца, с одной стороны, и кровью – с другой. Благодаря слизистой оболочке обеспечивается и регулируется всасывание метаболитов из рубца и обмен веществ между просветом рубца и кровью. Движение веществ через эпителий рубца происходит как путем диффузии, интенсивность и направление которой определяются разницей химического или электрохимического

потенциалов, изменяющихся под влиянием обмена в ткани, так и путем

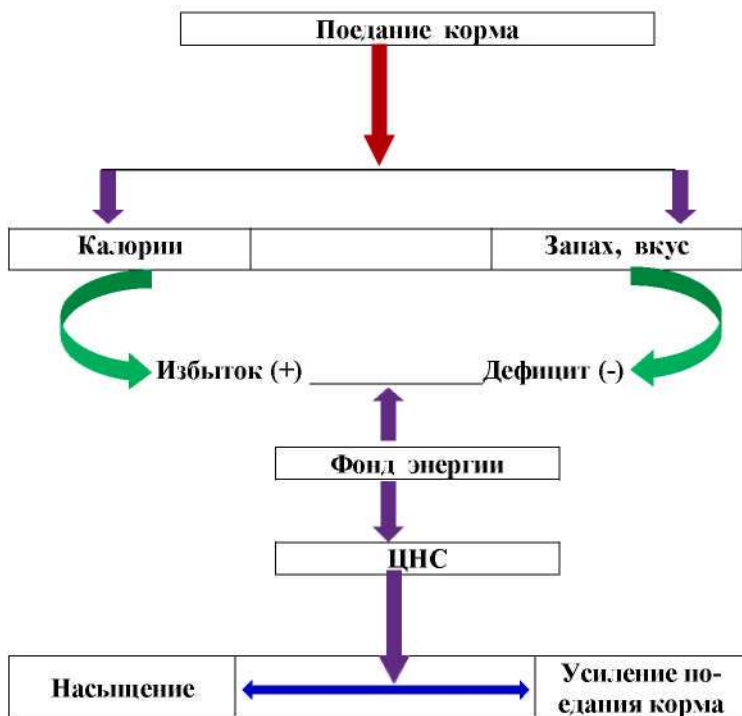


Рисунок 1 – Модель влияния дефицита энергии на регуляцию потребления корма (по: P. J. Morgane et al., 1969, с изменениями по: В. В. Малашко и др., 2016)

активного транспорта [3, 4].

Слизистая оболочка рубца является наряду с печенью центром образования кетоновых тел в организме жвачных животных. Считается, что ткань рубца может продуцировать больше кетоновых тел, чем ткань печени. В рубце быстрее утилизируются те метаболиты, превращение которых в кетоновые тела сопровождается образованием энергии [5, 6].

В зависимости от вида корма изменяется окраска слизистой оболочки рубца: бывает желтоватой при кормлении, например, соломой, сухим зеленым кормом – от светло- до темно-коричневой, силосом – коричневой, зерновыми продуктами – серой, свекольной ботвой – от темно- до черно-коричневой и мелассой – от черно-коричневой до чер-

ной. Установлена положительная корреляция между длиной сосочков (papillae ruminis) и потреблением корма ($r=0,74$), а также между длиной и толщиной сосочков и суточным приростом массы тела ($r=0,59$ и $r=0,40$) [7, 8].

Для мочевины эпителий рубца представляет собой своего рода «промежуточную станцию» в обоих направлениях движения (рис. 2).

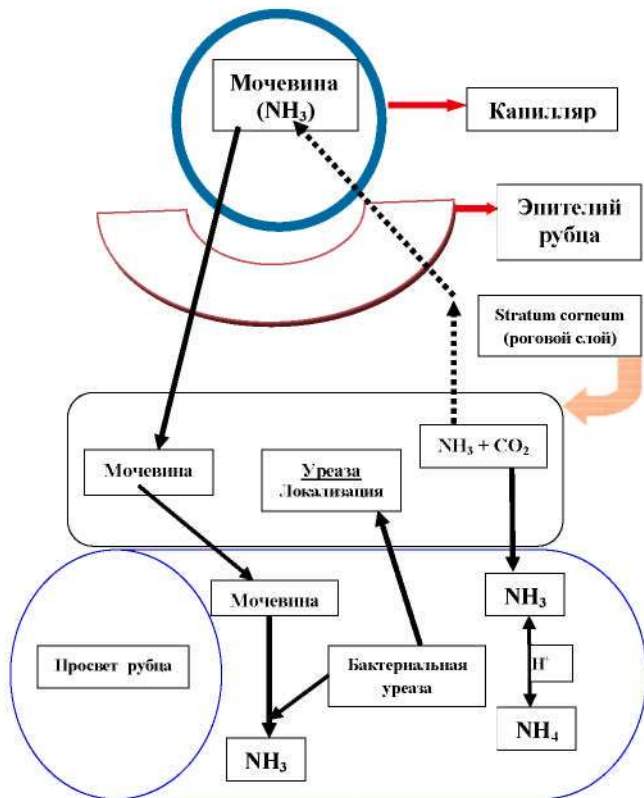


Рисунок 2 – Схема пассивного транспорта мочевины в рубце (по: Т. Р. Ноупт, 1970, с изменениями по: В. В. Малашко и др., 2016)

В схеме пассивного транспорта мочевины отражены существующие представления о стимулирующем действии на него уреазы. В физиологических условиях имеет значение всасывание NH_3 из полости рубца и транспорт мочевины в обратном направлении. NH_3 очень быстро диффундирует через стенку рубца. Для азотистого баланса

жвачных животных существенное значение имеет обратный поток мочевины через слизистую оболочку рубца. Это имеет место при бедном азот-ном кормлении. При дефиците белков клиренс (очищение) рубца для мочевины превышает почечный клиренс. От 60% до 70% мочевины при обратном поступлении в рубец расщепляется уреазой слизистой оболочки рубца, вследствие чего в рубце появляется аммонийный азот. Предполагается, что транспорт мочевины ускоряется благодаря гидролизу, поскольку более мелкая и более липофильная молекула NH_3 может легче, чем мочевина, преодолеть диффузионный барьер эпителия рубца [9, 10, 11, 12].

Факторами, которые могут вызывать изменения слизистой оболочки, следует считать в первую очередь конечные продукты брожения в рубце. Наиболее важными факторами являются летучие жирные кислоты (ЛЖК), NH_3 , pH и осмолярность, что в значительной степени определяется их концентрацией. Повышение концентрации уксусной кислоты (13 ммоль ЛЖК на 100 мл, 79% ацетата) вызывает редукцию *Lamina propria* и уменьшение высоты эпителия, сосочки достигают толщины в пределах 185 мкм. В последующем наступает гиперкератоз и атрофические процессы. Напротив, увеличение концентрации масляной кислоты (10 ммоль ЛЖК на 100 мл; 25% масляной кислоты) вызывает утолщение сосочков до 280 мкм и эпителиальных слоев. Повышению содержания пропионовой кислоты (11 ммоль ЛЖК на 100 мл; 27% пропионовой кислоты) сопутствовало более мощное развитие *Lamina propria* и разрыхление *Stratum corneum* [13, 14].

Полученные результаты могут представлять интерес при составлении сбалансированных рационов. В стимуляции развития слизистой оболочки рубца у молодняка жвачных животных значение отдельных ЛЖК неодинаково: масляная кислота > пропионовая кислота > уксусная кислота. Для проникновения ЛЖК через эпителий слизистой оболочки рубца требуется короткое время. Спустя 5 мин, максимум 30 мин концентрация ЛЖК в крови яремной вены достигает своего «пика». Эпителий проницаем для ЛЖК в обоих направлениях. Скорость всасывания отдельных ЛЖК из рубца характеризуется следующей последовательностью: масляная кислота > пропионовая кислота > уксусная кислота (рис. 3). Эпителий слизистой оболочки рубца метаболически активен по отношению ко всем ЛЖК, но превращения уксусной кислоты происходят главным образом в других, сильно аэробных экстрагепатических тканях. Обмен пропионовой кислоты связан преимущественно с печенью. Обмен масляной кислоты главным образом осуществляется в эпителии рубца, а также в печени [15].

Относительно глюкозы можно отметить, что она активно транспортируется через эпителий рубца. При обычных условиях кормления концентрация глюкозы настолько мала, что процесс всасывания ее из рубца не имеет существенного значения. Лишь при высоком содержании в рационе крахмала концентрация глюкозы возрастает, например, до 27 мг на 100 мл, что приводит к тяжелым расстройствам пищеварения. Снижение рН с 6,5 до 5,5 вызывает специфические качественно распознаваемые признаки уплотнения кератина и способствует уменьшению объема клеточных ядер и поглощения кислорода. Низкие значения рН неблагоприятно влияют на слизистую оболочку рубца.

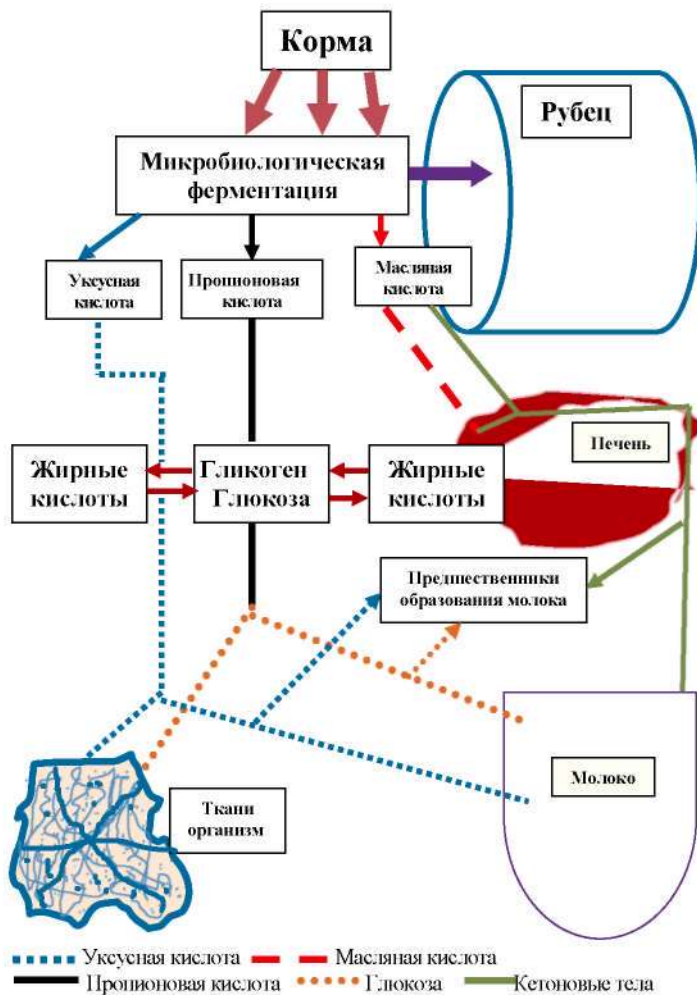


Рисунок 3 – Схема использования ЛЖК в обмене веществ лактирующей коровы (по: Н. В. Курилова и др., 1971, с изменениями по В. В. Малашко и др., 2016)

Известно, что ацидоз вызывается избытком легкопереваримых углеводов. Первичные поражения слизистой оболочки при ацидозе вызываются химическими факторами, накапливающимися во внутренней среде рубца. В качестве таковых можно назвать низкую величину pH, высокую концентрацию лактата (максимум 3,0 г в 100 мл) и повышен-

ную осмолярность (до 651 мОсмоль на 1 л). Первичные поражения выражаются в появлении вакуолей и отслаивании (десквамации) эпителия [16, 17]. Таким образом, исследования в этом направлении имеют фундаментальное значение для оценки способности системы рубца выдерживать алиментарные нагрузки, как и дальнейшее выяснение процессов изменения слизистой оболочки, вызванных условиями кормления.

Цель работы: исследовать морфофункциональное состояние рубца крупного рогатого скота при алиментарных нарушениях процессов кормления.

Материал и методика исследований. Материалом для исследований служил рубец (rumen) взрослого крупного рогатого скота. Материал был получен на ОАО «Гродненский мясокомбинат». Всего было исследовано 18 образцов из разных участков рубца. Для исследования использовали биоматериал вентрального рубцового полумешка (*saccus ruminis ventralis*) и дорсального рубцового полумешка (*saccus ruminis dorsalis*). Проводили фотографирование рельефа слизистой оболочки рубца, а также гистологическое исследование. Для проведения гистологического исследования вырезали кусочки рубца размером 1,5 x 1,5 см и фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине, жидкости Карнуа, ФСУ и хранили при $t+4^{\circ}\text{C}$ – -20°C . Для получения обзорной информации структурных компонентов рубца гистосрезы окрашивали гематоксилин-эозином по П. Эрлиху, прочным зеленым по И. Ван Гизону, эозином-метиленовым синим по Лейшману, альтициновым синим с докраской ядер гематоксилином.

Результаты исследований и их обсуждение. Слизистая оболочка рубца безжелезистая, покрыта многослойным плоским эпителием. У животных с явлениями ацидоза толщина стенки рубца достигала $2453,12 \pm 45,09$ мкм, при физиологической норме – $3622,85 \pm 39,38$ мкм ($P < 0,05$). Уменьшение толщины стенки рубца мы связываем с разрушением слизистой оболочки, в частности эпителиального слоя. Как компенсаторная реакция наблюдалось увеличение толщины мышечной пластинки дл $47,23 \pm 2,46$ мкм, при норме – $35,67 \pm 3,11$ мкм. Толщина стенки рубца при ацидозе в целом уменьшается на 35-40% ($P < 0,05$) по отношению к физиологической норме.

Рельеф слизистой оболочки рубца при ацидозе макроскопически отличается от физиологической нормы. Слизистая оболочка теряет «бархатистый» вид, увеличивается расстояние между складками. Концентрация сосочков на 1 мм^2 слизистой оболочки уменьшается на 25-33% по отношению к норме. Сосочки довольно гетерогенны по морфометрическим параметрам, от гипертрофированных до дистрофически измененных. Из 100 подсчитанных сосочков на гипертрофирован-

ные формы приходилось 12,7%, деформированные формы – 23,4%, с десквамированным эпителием – 40,8%, на «карликовые» формы – 11,2%, с разрывами латеральных стенок – 8,4% и с вакуолизацией по всему периметру сосочков – 3,5% (рис. 4). Одним из диагностических признаков ацидотического состояния рубца является обильный соскоб со слизистой оболочки.

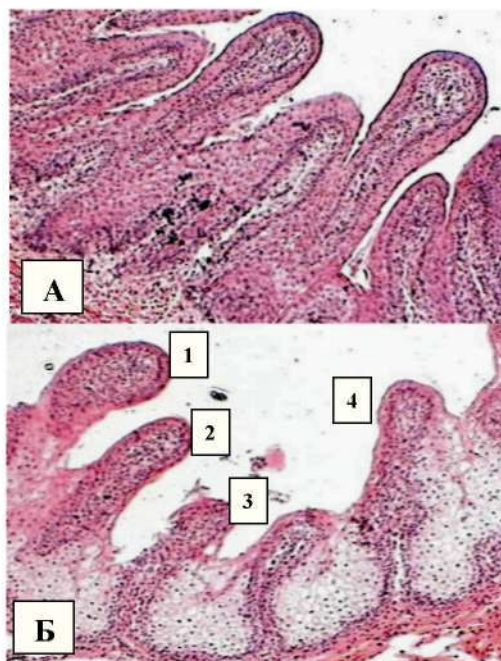


Рисунок 4 – Морфология сосочков рубца (*papillae ruminis*) при физиологической норме (А) и при ацидозе (Б).

Гематоксилин-эозин. Микрофото. Биоскан. Ув.: 280.

1, 2, 3, 4 – разновидности морфологической структуры сосочков слизистой оболочки рубца. Препарат Г. А. Тумиловича

При пальпации стенки рубца ощущается тестообразная консистенция, очевидно, за счет отека и задержания интерстициальной жидкости. Этому явлению способствуют развивающиеся ишемические (гипоксические) процессы в слизистой оболочки за счет нарушения микроциркуляции.

В клетках ишемизированной ткани происходит ряд взаимосвязанных событий. Основное следствие гипоксии – торможение цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и нарушение процесса переноса электро-

нов в системе цитохромов. Ингибирование ЦТК при недостатке кислорода обусловлено тем, что накопление восстановленного НАДН, водород которого не переносится в дыхательную цепь, сопровождается резким снижением содержания НАД, необходимого для функционирования основных звеньев ЦТК и прежде всего для осуществления пироват- и изоцитратдегидрогеназой реакции.

Энергетический обмен переключается на гликолитический путь. Однако поступление энергии за счет гликолиза не может восполнить ее потери при торможении ЦТК. Кроме того, накапливающейся в результате гликолиза лактат тормозит активность фосфофруктокиназы, что, в конечном счете, приводит к снижению активности гликолиза. В сочетании с активацией гликолиза прекращение ЦТК приводит к накоплению основного его субстрата – ацетилКоА, который образуется из пировата и может быть использован для синтеза жирных кислот.

Противоположный процесс – окисление жирных кислот – протекает с использованием энергии АТФ, причем в условиях гипоксии дефицит АТФ приводит к его торможению. В итоге при активации синтеза и торможения распада жирных кислот происходит накопление этих кислот в гипоксически измененных клетках. Важное значение в патогенезе гипоксии имеет накопление цАМФ, опосредованное выбросом адреналина, норадреналина и других биогенных аминов, что показано в ряде исследований.

В условиях редуцированного рубцового кровообращения наряду с деструктивными изменениями слизистой оболочки наблюдается избыточное накопление в ее тканях гистамина и серотонина. При гипоксии происходит накопление свободных жирных кислот, которые, во-первых, являются разобщителями окислительного фосфорилирования и способствуют накоплению Ca^{+} в митохондриях, во-вторых, обладают детергентными свойствами и могут повреждать плазматические мембраны, в-третьих, выступают как основной субстрат перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Таким образом, при тканевой гипоксии развивается комплекс патобиохимических событий: замедление тканевого дыхания, разобщение окисления и фосфорилирования, увеличение восстановления редокс-систем, накопление недоокисленных продуктов, свободных жирных кислот, ионов кальция. Нарушается течение аэробных процессов, а также наблюдается сдвиг соотношений аэробных и анаэробных процессов в сторону преобладания последних, что сопровождается нарушением синтеза макроэнергетических соединений и обмена нуклеиновых кислот. Дефицит кислорода обуславливает активацию гликолиза, повышение уровня лактата, ионов H^{+} и восстановленных эквивалентов,

что увеличивает вероятность образования O_2^- , H_2O_2 , а также OH^- , особенно при нарастающем снижении pH среды. Активация ПОЛ в условиях гипоксии, как и во всех других случаях, ведет к нарушению структуры митохондриальных мембран, модификации их фосфолипидного состава и проницаемости, ингибированию митохондриальных ферментов, разобщению окисления и фосфорилирования.

Следует отметить процессы, отягощающие состояние клеток. Во-первых, в присутствии ионов Fe^{2+} перекисному окислению подвергаются мембраны лизосом, что сопровождается освобождением лизосомальных ферментов. Во-вторых, вследствие дезорганизации внутриклеточных структур происходит выход из мест своего функционирования железосодержащих белков и ферментов, которые способны катализировать перекисное окисление.

Обращает на себя внимание реакция макрофагов в структурах слизистой оболочки рубца. Очевидно, оказавшись в данных структурах, макрофаги начинают работать как движущая сила. Это связано с выделением из них массы разнообразных флогогенных факторов, к числу которых прежде всего мы относим лизосомальные гидролазы, продукты окисления арахидоновой кислоты, которые теперь все чаще именуют эйкозаноидами, активные формы кислорода, тромбогенные начала. Часть макрофагов оказывает цитопатогенное действие или разрушает компоненты матрикса соединительной ткани, тем самым поддерживая высокую концентрацию токсинов в слизистой оболочке. Как адаптационный процесс можно считать наличие значительного количества зрелых дифференцированных форм фибробластов с активной коллагенпродуцирующей функцией, в том числе и коллагена I типа. Общее накопление фуксинофильных волокон с беспорядочным переплетением или гомогенными «наплывами» свидетельствуют о зрелости ткани. Однако имеются признаки дефектного фибриллогенеза («збровидные тельца» и очень широкие «лентовидные» фибриллы диаметром до 2000 нм и шириной 400-700 нм). Появляются межклеточные контакты фибробластов с макрофагами, что свидетельствует об активации межклеточных взаимодействий, определяющих рост соединительной ткани. Среди макрофагов увеличивается на 15-19% ($P < 0,05$) количество активно фагоцитирующих клеток. Встречаются признаки повышенной проницаемости стенок кровеносных сосудов, меньше дистрофия эндотелия и агрегация форменных элементов крови. В отдельных венах в 8-12% ($P < 0,05$) случаев возникает выраженный склероз стенок, гиперэластоз и сужение просвета. Изменение морфологии сосудистого русла рубца может быть одной из причин, приводящих к нарушению обменных процессов.

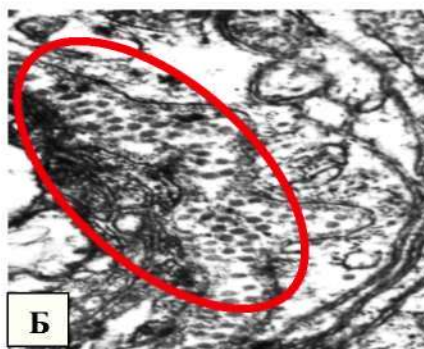
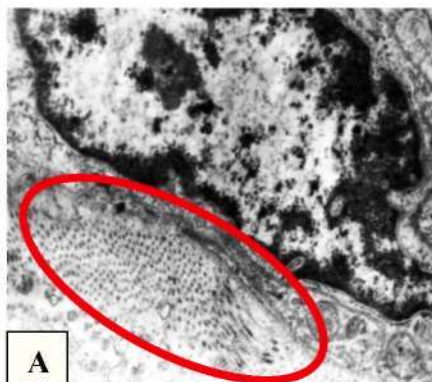


Рисунок 5 – Фибриллы, напоминающие «збровидные тельца» (А, Б) различных размеров и плотностью расположения (круги) в слизистой оболочке рубца. Электронограмма. Ув.: 20000

Зак.печение. Морфомикробиологические процессы в рубце при ацидозе проявляются адаптационно-компенсаторными процессами с доминированием ацидофильной микрофлоры, продуцирующей токсины. Для нормального течения жизненных процессов большое значение имеет достаточное постоянство концентрации водородных ионов (рН), состояние кислотно-щелочного равновесия в крови и тканях. Это состояние зависит от буферных систем крови и тканей и может при различных патологических процессах изменяться или в кислую (ацидоз) или щелочную (алкалоз) сторону. Одним из факторов, нарушающим микробиологические процессы в рубце, является сосудистый фактор. Нарушение микроциркуляции при ацидозе вызывает спазм гладкой мускулатуры, что сказывается на руминации. Слизистая оболочка руб-

ца не справляется со своей защитной функцией, и вредная микрофлора с кровотоком попадает в паренхиматозные органы, в первую очередь в печень. При снижении уровня pH начинает активно развиваться бактерия *Allisonella histaminiformans*, которая синтезирует гистамин. Именно гистамин вызывает застой крови в капиллярах и увеличение проницаемости их стенок, инициирует отек тканей и их некроз.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ НАН Беларуси, проект №МС 15-020.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баталова, О. В. Содержание кетонových тел и тиреоидных гормонов в крови коров при кетозе / О. В. Баталова // Ветеринария. – 2008. - № 2. – С. 43-45.
2. Гальперин, Ю. М. Пищеварение и гомеостаз / Ю. М. Гальперин, П. И. Лазарев. – М.: Наука, 1986. – 303 с.
3. Джамбулатов, М. М. Роль кетонových тел в этиологии диспепсии телят в хозяйствах Дагестана / М. М. Джамбулатов, Г. И. Зубанлов. – Кировобад, 1980. – 29 с.
4. Жаров, А. В. Кетоз высокопродуктивных коров / А. В. Жаров, И. П. Кондрахин. – М.: Россельхозиздат, 1983. -103 с.
5. Курилов, Н. В. Физиология и биохимия пищеварения жвачных / Н. В. Курилов, А. П. Короткова. – М.: Колос, 1971. – 432 с.
6. Луцкий, Д. Я. Кетоз молочных коров / Д. Я. Луцкий // Патология обмена веществ у высоко продуктивного крупного рогатого скота. – М.: Колос, 1978. – С. 7-128.
7. Петровский, С. В. Кетоз животных / С. В. Петровский, А. П. Курдеко. – Витебск: ВГАВМ, 2009. – 30 с.
8. Пиатковский, Б. Использование питательных веществ жвачными животными / Б. Пиатковский, Л. Гоффманн, П. Кауффольд. – М.: Колос, 1978. – 423 с.
9. Харитонов, Е. Л. Физиология и биохимия питания молочного скота / Е. Л. Харитонов. – Боровск: Оптима Пресс, 2011. – 371 с.
10. Эннисон, Е. Ф. Обмен веществ в рубце / Е. Ф. Эннисон, Д. Льюис. - М.: Сельхозиздат, 1962. – 172 с.
11. Cerneae, P. In situ starch degradation of different feeds in the rumen / P. Cerneae, B. Michalet-Doreau // Repord. Nutr. Dev. – 1991. – Vol. 31. – P. 65-72.
12. Ganev, G. The effect of roughage or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen / G. Ganev, E.R. Orskow, R. Smart // J. Agr. Sci. – Camb. – 1979. – Vol. 93. – P. 651-656.
13. Huber, J. T. Development of the digestive and metabolic apparatus of the calf / J. T. Huber // J. Dairy Sci. – 2009. – Vol. 52. – P. 1303-1311.
14. Mc Bride, B. W. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver / B. W. Mc Bride, J. M. Kelly // J. Anim. Sci. – 1990. - Vol. 68. – P. 2997-3010.
15. Moughan, P. J. Physiological approaches to determining gut endogenous amino acid flows in the mammal / P. J. Moughan, W.B. Souffrant, S.M. Hodginson // Arch. Anim. Nutr. -1998. – Vol. 51, N 2-3. – P. 237-252.
16. Newbold, C.J. Invited commentary: The need for nitrogen / C.J. Newbold // British J. Nut. – 1999. – Vol. 82.– P. 81-82.
17. Plaizier, J.C. Effect of subacute ruminal acidosis on in situ digestion of mixed hay in lactating dairy cows / J. C. Plaizier, J. E. Keunen, J-P. Walton // Can. J. Anim. Sci. – 2001. – Vol. 81. – P. 421-423.
18. Seal, C.J. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminates / C. J. Seal, C. K. Reynolds // Nutr. Res. Rev. – 1993. – Vol. 6. – P. 185-208.

19. Van't Klooster, A. T. Protein digestion in the stomachs and intestines of the cows / A. T. Van't Klooster, H. A. Backholt // *J. Agric. Sci.* – 1972. – Vol. 20. – P. 272-284.
20. Wu, Z. Adequacy of amino acids fed to lactating dairy cows / Z. Wu, C.E. Polan, R.J. Fisher // *J. Dairy Sci.* – 1997. – Vol. 80. – P. 1713-1721.
21. Zinn, R. A. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis / R. A. Zinn, F. N. Owens // *Can. J. Sci.* – 1986. – Vol. 66. – P. 152-166.