

**ПРОЦЕССЫ РУБЦОВОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ И ОБМЕН
ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ
У КОРОВ С РАЗНОЙ ЖИРНОСТЬЮ МОЛОКА**

Галочкина В.П., Харитонов Е.Л., Агафонова А.В.,
Обвинцева О.В., Остренко К.С., Галочкин В.А.

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных,
Боровск Калужской обл., Российская Федерация*

В опыте, проведенном на двух группах коров по 5 голов в каждой при одинаковых условиях кормления, с одинаковым суточном удоем 40 кг, но с разной жирностью молока (1-я группа – 4,1, 2-я – 2,8%) в период 3 ч после кормления исследовали показатели рубцовой ферментации и активность пируваткарбоксилазы (ПК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в плазме крови яремной и молочной вен. Величины показателей содержимого рубца в 1-й и 2-й группах соответственно: рН – 6,95 и 6,61, буферная ёмкость 12,5±0,8 и 8,5±1,2 мл/ед. рН, ацетат – 65,7 и 63,6%, пропионат – 18,8 и 23,9%, ЛЖК – 9,24 и 10,26 ммоль/дл, ацетат/пропионат – 3,48 и 2,90. При анализе объединённых данных выявлены обратные зависимости жирности молока от соотношения пропионат/ацетат (молярные проценты) и содержания пропионата (молярный процент от суммы ЛЖК) в рубце от рН содержимого. Процессы рубцовой ферментации у коров с низкой жирностью молока были сдвинуты в сторону закисления, что сопровождалось сдвигами в метаболизме пировиноградной кислоты. Соответственно изменениям процессов ферментации в рубце изменялась активность ПК и ЛДГ в крови яремной и молочных вен. В обеих группах отмечена низкая активность ПК, при этом активность ЛДГ в крови молочной вены в обеих группах была выше, чем в системной крови (в яремной вене), а в группе с пониженной жирностью молока активность ПК и ЛДГ была выше ($P < 0,001$) при сравнении с 1-й группой. Выявленные сдвиги в ферментативной активности могли быть следствием скрытой субклинической лактацидемии, о чём свидетельствуют более низкие величины рН и буферной ёмкости содержимого рубца у коров 2-й группы. Заключение: проявлению жир депрессирующего действия пропионата у коров 2-й группы способствовало более низкое всасывание ацетата и усиление липогенеза в жировой ткани после приема корма.

Ключевые слова: лактирующие коровы, рубцовая ферментация, ацетат, пропионат, пируваткарбоксилаза, лактатдегидрогеназа, жир молока

Проблемы биологии продуктивных животных, 2018. 2: 39-47

Введение

Продуктивность животных и качество продукции зависят от состава конечных продуктов переваривания корма в желудочно-кишечном тракте, которые, поступая в ткани организма, используются в качестве субстратов тканевых ферментов, формирующих определенную направленность метаболических процессов. Изменение структуры рациона в сторону снижения в нем грубых кормов, их измельчения и повышения уровня концентратов приводит к сдвигам в содержании летучих жирных кислот, увеличению доли в них пропионата, снижению рН и к изменениям в составе микроорганизмов. Особое значение для процессов, протекающих в рубце, имеет объем слюны, секретируемой в процессе пережевывания грубой пищи. Бикарбонаты и фосфаты слюны имеют рК (значение рН, при котором соль является на $\frac{1}{2}$ диссоциированной) 6,2 и 7,4 соответственно, что поддерживает рН содержимого рубца в стационарном состоянии на уровне выше 6. При равномерном потреблении грубого корма, в процессе его пережевывания происходит кратковременное

прерывистое поступление слюны в рубец, и в качестве буферной системы она способствует поддержанию в нем рН в пределах 6 при использовании высоко концентратных рационов.

Большинство ЛЖК всасываются эпителием рубца в кислотной форме и в крови, до их метаболизации в тканях они нейтрализуются буферной системой. Хотя соли большинства ЛЖК, имея значение рК приблизительно 4,8 (ниже нормального рН содержимого рубца), значительное их количество всасывается и в кислой среде. Вполне вероятно, что большое количество ЛЖК буферная система крови не в состоянии нейтрализовать полностью, что может приводить в закислению внутренней среды органов и тканей, а при повышенном поступлении в кровь пропионата и лактата закисление может происходить в большей степени. Повышенное потребление клетчатки способствует не только оптимизации соотношения ацетат/пропионат, но и поглощению простейшими крахмала и растворимых углеводов, ограничивая образование пропионата, лактата, препятствуя снижению рН содержимого рубца и нормализуя состав микроорганизмов, повышая поступление крахмала и растворимых углеводов в кишечник, а также доступность аминокислот полноценного микробиального белка для тканевого метаболизма.

Было показано, что содержание молочного жира снижается при инфузии смеси ЛЖК с высокой долей пропионата (Ørskov et al., 1969), при этом теплопродукция не изменялась, но происходило перераспределение энергии между её использованием на синтез компонентов молока и отложение в тканях тела, причём этот эффект более выражен у молочных коров при двухразовой раздаче концентрированных кормов в сравнении с шестьюразовой (Sutton, 1980). Поэтому при современной технологии кормления с постоянным доступом коров к корму может не наблюдаться резко выраженных изменений в содержимом рубца, характерных для ацетозов и кетозов, но в итоге эти изменения могут приводить к значительным изменениям в других показателях здоровья животных (в том числе репродуктивных).

Лактирующая корова приспосабливается к увеличению потребности в глюкозе для синтеза лактозы посредством мобилизации эндогенных глюкогенных субстратов и увеличения экспрессии печеночной пируваткарбоксилазы и фосфоэнолпируваткарбоксикиназы. Если данные адаптационные процессы недостаточно активны, то изменение метаболизма липидов может приводить к жировому перерождению печени и кетозам. Для предотвращения этих нарушений важно увеличить поступление с кормом глюкогенных предшественников. Углубление знаний об особенностях метаболизма углеводов у жвачных может расширить наши возможности по нормализации отклонений в обмене веществ у коров в ранний послеотельный период и при раздое (Aschenbach et al., 2010).

Пируваткарбоксилаза (ПК) катализирует превращение пирувата в оксалоацетат, способствующий обеспечению анаболических процессов в тканях. Её дефицит вызывает у коров множественный метаболический дисбаланс, в основном, связанный с лактатацидемией (Marín-Valencia et al., 2008). Пируват при воздействии ПК превращается в оксалоацетат, который может включаться в глюконеогенез или использоваться как интермедиат цикла Кребса. Пируватдегидрогеназа (ПДГ) катализирует превращение пирувата в ацетил-КоА с дальнейшим окислением в цикле Кребса. В большинстве клеток ПДГ-путь преобладает, однако у жвачных животных при поступлении из рубца больших количеств ацетата при дефиците глюкозы функция пирувата может быть в большей степени связана с активностью ПК (карбоксилирование до оксалоацетата с использованием его в процессах глюконеогенеза, а также конденсация с ацетил-КоА и включение в цикл Кребса).

Инсулиноподобный фактор роста-1 (ИГФ-1) в печени способствует обеспечению глюкозой синтеза гликогена в гепатоцитах и поддержанию гомеостаза глюкозы в крови. В исследованиях на лактирующих коровах было показано, что участие ИГФ-1 в глюконеогенезе и метаболизме конечных продуктов пищеварения может быть связано с экспрессией ПК и фосфоэнолпируваткарбоксикиназы. Авторы пришли к заключению, что определение этих ферментов и их мРНК в крови может быть использовано для мониторинга кетозов у лактирующих коров (Wang et al., 2012).

Хотя активность ферментов крови, оцененная в стандартных условиях *in vitro* при насыщающих концентрациях субстрата, в нормальных физиологических условиях в большей степени отражает уровень их экспрессии *in vivo* (количество фермента), нежели фактическую каталитическую активность в клетках тканей, при сравнительном исследовании контрастных стационарных состояний, судя по данным исследований, можно полагать, что уровень экспрессии ключевых ферментов коррелирует с измеряемой активностью их в крови. Лактат в организме продуцируется как конечный продукт анаэробного окисления глюкозы (в основном в мышечной ткани), а также образуется из пропионата в процессах рубцовой ферментации.

В целом, анализ особенностей углеводного обмена у жвачных показывает, что при одинаковых условиях питания организм животных разного метаболического типа может реагировать по-разному, что в значительной степени сказывается на направленности обменных процессов в тканях, в том числе в молочной железе, и в конечном счете – на синтезе и выделении компонентов молока.

Целью данной работы было исследовать процессы рубцовой ферментации и активность ферментов, ответственных за метаболизм пировиноградной кислоты у коров с различным содержанием жира в молоке при одинаковых условиях кормления.

Материал и методы

Эксперимент проведен в совхозе «Архангельский», Московской области на 10 коровах черно-пестрой породы с удоем от 36 до 44 кг молока в сутки на 90-м дне 2-й лактации. Коровы были разделены по содержанию жира в молоке на две группы; 1-я группа – содержание жира в молоке – $4,14 \pm 0,24\%$, 2-я группа – $2,85 \pm 0,14\%$. Кормление коров в группах одинаковое; состав рациона: силос – 20 кг, сенаж 8-10 кг, сено и солома – по 0,5 кг, дробина пивная – 6-7 кг с содержанием сухого вещества 30%, 1 кг патоки и сои; поваренная соль и минеральная добавка – 0,1 кг. В суточные рационы подопытных коров вводили концентраты в количестве 15-16,5 кг. Рацион соответствовал уровню молочной продуктивности, живой массе, периоду лактации и по допустимому содержанию отдельных питательных веществ находился в пределах норм. Корма задавались в виде приготовленной в миксере кормовой смеси, в которую добавляли размол зерновых кормов из расчета 6-7 кг на голову. Концентраты животные получали индивидуально из расчета по 240 г на 1 кг молока. Корма коровы потребляли с кормовых столов, воду – из автопоилок. Учет продуктивности вели по результатам контрольных доек, проведенных в течение двух смежных дней.

В ходе биохимических исследований в плазме крови определяли активность ПК по методу (Scrutton, White, 1973) в модификации (Галочкина, 1997) и ЛДГ – с использованием набора фирмы Лахема при введении НАД в состав реакционной среды для определения скорости превращения лактата в пируват. Пробы крови брали пункцией яремной и молочной вен. При этом учитывали, что кровь, оттекающая от головы, имеет незначительные отличия от артериальной крови за счет более низкой концентрации в ней глюкозы и кетоновых тел.

Результаты и обсуждение

У коров 1-й группы при более низком удое (на 3,7%) был выше процент жира в молоке (на 45,6 %) и его суточный выход с молоком (на 40,9%) по сравнению со 2-й группой при одинаковом процентном содержании белка и лактозы (табл. 1). У коров 1-й группы абсолютная величина выделения жира с суточным молоком была больше на 470 г (табл. 1).

У коров с низкой жирностью молока (2-я группа) отмечено большее закисление рубцового содержимого относительно коров 1-й группы (рН – 6,95 в 1-й и 6,61 во 2-й группе соответственно) (табл. 2).

Таблица 1. Показатели продуктивности коров по группам
($M \pm m$, $n=4$)

Группы	Удой, кг	Жир		Белок		Жир/белок
		%	выход, г	%	выход, г	
1	39,0 \pm 0,73	4,14 \pm 0,24	1624 \pm 161	3,17 \pm 0,02	1240 \pm 31	1,31
2	40,5 \pm 0,66	2,85 \pm 0,14**	1154 \pm 65*	3,17 \pm 0,02	1283 \pm 27	0,9

Примечания: здесь и далее в таблицах: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ по t -критерию при сравнении с 1-й группой; выход – суточный выход компонентов молока.

Под влиянием снижения рН содержимого происходят сдвиги в составе рубцовых микроорганизмов, вследствие этого снижаются молярный процент ацетата и отношение ацетата к пропионату, которое у коров 1-й группы было выше на 24,6% ($P < 0,066$). Концентрация аммиака ниже на 4,0% у коров 2-й группы при большем содержании ЛЖК (на 11,4%), большем молярном проценте пропионата (18,8% в 1-й группе и 23,9 во 2-й).

У коров 1-й группы в содержимом рубца на 3,2% больше ацетата, на такую же величину больше инфузорий, на 2% ниже относительная величина целлюлозолитической активности (табл. 2). Хотя эти различия по абсолютной величине незначительные, но совокупное их действие сыграло определённую роль в становлении процессов рубцовой ферментации, в том числе могли измениться взаимоотношения простейших с бактериями, например, более активное поглощение простейшими бактерий у коров 1-й группы.

Таблица 2. Показатели ферментативно-микробиологических процессов в содержимом рубца ($M \pm m$, $n=4$)

Показатели	Группы	
	1	2
рН	6,95 \pm 0,21	6,61 \pm 0,20
Буферная ёмкость, мл/ед рН	12,5 \pm 0,78	8,5 \pm 1,20
ЛЖК, ммоль/100мл	9,24 \pm 1,38	10,26 \pm 0,78
Ацетат, %	65,68 \pm 1,37	63,66 \pm 1,92
Пропионат, %	18,81 \pm 0,57	23,95 \pm 2,78
Отношение ацетат/пропионат	3,50 \pm 0,13	2,64 \pm 0,32
Бутират, %	15,51 \pm 1,51	13,99 \pm 1,22
Число инфузорий, тыс./мл	320 \pm 4,1*	303 \pm 1,66
Целлюлозолитическая активность, %	9,9 \pm 1,66	10,1 \pm 1,46

Кроме того, увеличение содержания простейших могло повысить потребление ими зерен крахмала и растворимых углеводов, ограничивая не только образование пропионата и лактата, но и способствуя повышению рН содержимого рубца, созданию в нём более благоприятного сообщества микроорганизмов. При этом увеличивалось поступление крахмала и растворимых углеводов в кишечник, а также полноценного микробного белка для гидролиза в кишечнике, повышая доступность глюкозы и аминокислот для тканевого метаболизма, в том числе и в молочной железе.

У коров с низкой жирностью молока показатели рубцовой ферментации в той или иной степени свидетельствуют о тенденции к его закислению (более низкие значения рН и отношения ацетата к пропионату при более высоком уровне ЛЖК и пропионата, табл. 2). С другой стороны, судя по небольшой величине сдвигов в рН и буферной ёмкости содержимого рубца, эти изменения не достигли того уровня, при котором можно говорить о состоянии ацидоза у коров обеих групп.

При анализе объединённых данных выявлены отрицательные корреляции процентного содержания жира в молоке с молярным процентом пропионата во фракции ЛЖК (рис. 1; $r = -0,82$, $P < 0,01$) и молярного процента пропионата в содержимом рубца с величиной рН ($r = -0,86$, $P < 0,01$, рис. 2).

В связи с изменениями показателей рубцовой ферментации изменялись и показатели активности ферментов в плазме крови. В проведенном эксперименте выявлена низкая активность ПК в плазме крови яремной и молочной вен (табл. 3) в сравнении с данными, полученными нами в других опытах на коровах. В ранее проведенных экспериментах в этом же хозяйстве на высокопродуктивных коровах были получены аналогичные данные (Галочкина, Харитонов, 2010).

Таблица 3. Активность ферментов метаболизма пировиноградной кислоты в плазме крови молочной вены в сравнении с яремной веной, мкмоль/л/мин ($M \pm m$, $n=4$)

Группы	Яремная вена		Молочная вена		Яремная – молочная вены	
	ПКя	ЛДГя	ПКм	ЛДГм	ПКя - ПКм	ЛДГя - ЛДГм
1	2,74±0,17	21,17±2,33	1,88±0,09	55,82±0,61	1,33±0,001	-40,50±1,12
2	3,35±0,28	32,1±1,21***	3,68±0,28*	55,45±3,25	-0,64±0,29	-23,79±1,61***

Для анализа процессов, происходящих в молочной железе, более информативными могут данные не по крови яремной вены, а по разности активности ферментов в крови молочной и яремной вен (табл. 3), однако при этом необходимо учитывать особенности определения активности ферментов в крови. В сравнительных опытах значения активности ферментов крови, измеренные при насыщающих концентрациях субстрата, пропорциональны количеству молекул фермента, а оно может изменяться в связи с индукцией или репрессией генной экспрессии (на уровне транскрипции и синтеза фермента *de novo*). В связи с этим, одной из причин более высокой активности ПК в крови молочной вены во 2-й группе (отрицательные значения «я - м»), могла быть интенсификация альтернативных путей продукции пирувата, в том числе из аминокислот и глицерола, что повлекло за собой адаптивную активизацию генной экспрессии ПК. Кроме того, повышение активности ПК могли вызвать аллостерические эффекты со стороны ацетил-КоА – интермедиата альтернативного пути обмена пирувата с участием ПДГ.

Аналогичное соотношение выявлено по ЛДГ – отрицательные значения разности (я - м) в обеих группах. Основным источником поступления лактата в кровь является мышечная ткань, из лактата в печени образуется глюкоза (цикл Кори), поступление лактата из рубца в норме небольшое, но оно может значительно увеличиваться в состояниях, провоцирующих развитие субклинического ацидоза. В молочной железе основная доля глюкозы (глюкозо-6-фосфата) расходуется в реакциях пентозофосфатного шунта с образованием рибоз и НАДФ-Н, необходимого для синтеза молочного жира. При высококонцентратном кормлении увеличивается риск образования повышенного количества лактата. Поэтому можно предположить, что высокие значения активности ЛДГ в крови молочной вены в данном эксперименте обусловлены состоянием скрытого субклинического лактоацидоза (умеренной лактоацидемии). Образующийся под действием пируватдегидрогеназы ацетил-КоА, конденсируясь с оксалоацетатом, включается в окислительные реакции цикла Кребса.

В другом эксперименте, проведенном в этом же хозяйстве на коровах с различной продуктивностью (в среднем по группам 1-я – 44,3±1,5, 2-я – 35,0±0,6 и 3-я – 26,3±3,2) с низкой активностью ПК было показано, что с увеличением удоя в плазме крови снижалась концентрация тиамин и увеличивалось содержание пирувата. Аналогичные зависимости отмечались в моче и в молоке. Однако тотальное выделение пирувата с молоком у коров с высокой продуктивностью увеличивалось относительно коров 2-й и 3-й групп, а выделение

тиамина увеличивалось только у коров с низкой продуктивностью (тиаминапирофосфат является коферментом пируватдегидрогеназного комплекса). О неэффективном использовании пирувата у этих коров свидетельствует выделение с мочой ацетальдегида, свидетельствующее о неполном окислении пирувата, т.е. о его неокислительном декарбоксилировании без образования ацетил-КоА и восстановления НАД (Галочкина и др., 2016).

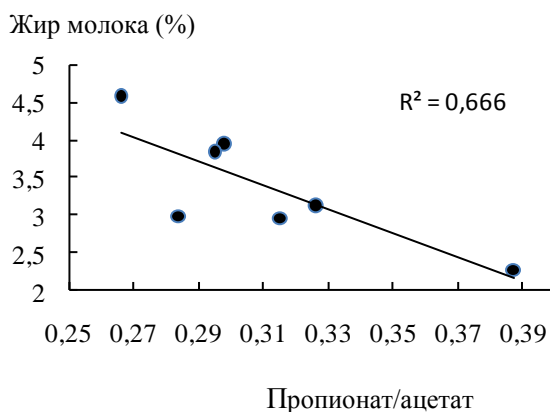


Рис. 1. Зависимость жирности молока (%) от соотношения пропионат/ацетат (молярные проценты) в содержимом рубца. $r = - 0,82$, $P < 0,05$.

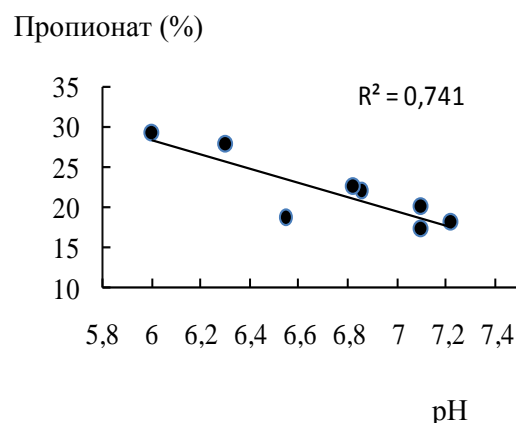


Рис. 2. Зависимость содержания пропионата (молярный процент от суммы ЛЖК) в рубце от pH содержимого. $r = - 0,86$, $P < 0,01$.

Кроме того, при снижении уровня цитрата, вероятно, снижалась активация инсулином липогенеза в жировой ткани. С повышением молочной продуктивности нередко наблюдается повышение активности ПК и ЛДГ в плазме крови. Так, при введении в рацион защищенных лизина и метионина, а также жировой добавки, наблюдалось повышение активности ПК и ЛДГ в крови (Галочкина, Харитонов, 2010).

В данной работе, т.е. в опыте на коровах с различной жирностью молока, через 3 часа после приема корма (время взятия крови) у коров 2-й группы образование пропионата в содержимом рубца было больше на 27% и на 9% меньше ацетата, чем в 1-й группе. Следовательно, в этот период у коров 2-й группы усиливался синтез и секреция инсулина (пропионил-КоА является у жвачных индуктором синтеза и секреции инсулина) и активировался первый фермент синтеза жирных кислот – ацетил-КоА-карбоксилаза, входящая в состав синтетазы жирных кислот, т.е. усиливался липогенез. При этом пропионат, метаболизируясь до метилмалонил-КоА, также активировал липогенез в жировой ткани. Этому препятствовало пониженное (в сравнении с 1-й группой) поступление из рубца ацетата, в то время как в этот период необходимо обеспечение энергией биосинтеза лактозы, казеина и необходимого количества субстратов для биосинтеза молочного жира. В целом, совокупность этих процессов, по-видимому, привела в данном опыте к снижению содержания жира в молоке у коров 2-й группы.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о наличии определенной взаимосвязи активности ферментов метаболизма пировиноградной кислоты в крови, оттекающей от вымени, с процессами ферментации в рубце и производством жира молока.

Заключение

В опыте, проведенном при одинаковых условиях кормления на коровах с одинаковым суточном удоем, но с разной жирностью молока, выявлены обратные зависимости жирности молока (%) от соотношения пропионат/ацетат (молярные проценты) и содержания

пропионата (молярный процент от суммы ЛЖК) в рубце от рН содержимого. В обеих группах отмечена низкая активность пируваткарбоксилазы (ПК), при этом активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в крови молочной вены в обеих группах была выше, чем в системной крови (в яремной вене), а в группе с пониженной жирностью молока активность ПК и ЛДГ была существенно выше по сравнению с 1-й группой. Выявленные сдвиги в ферментативной активности могли быть следствием скрытого субклинического лактоацидоза, о чём свидетельствуют более низкие величины рН и буферной ёмкости содержимого рубца у коров 2-й группы. Продукты метаболизма пропионата, индуцируя секрецию инсулина, активирует липогенез, повышая отложение жира в жировых депо.

Исследование комплекса процессов, связанных с ключевым метаболитом углеводного обмена – пировиноградной кислотой, может в дальнейшем привести к разработке эффективных мер по мониторингу обменных процессов, продуктивности животных, состояния здоровья и воспроизводительной функции коров. При анализе процессов, происходящих в молочной железе, дополнительные сведения могут дать измерения разности ферментативной активности в системной и оттекающей от вымени крови.

На основании данных, полученных в опыте и из литературных источников, можно заключить, что повышенное поступление из рубцового содержимого пропионата на фоне снижения доли ацетата у коров усугубляет проявление жир-депрессивного действия пропионата. Для поддержания жирности молока на базовом уровне необходимо использовать рационы, обеспечивающие соотношение молярных процентов ацетат/пропионат в содержимом рубца в пределах 3,5 и выше.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галочкина В.П. Определение активности пируваткарбоксилазы (способ 2) // В сб.: Методы биохимического анализа (справочное пособие) (ред. Б.Д.Кальницкий). – Боровск: ВНИИФБиП, 1997. – С. 245-249.
2. Галочкина В.П., Харитонов Е.Л. Влияние сбалансированности рациона по лимитирующим биосинтез аминокислотам на метаболизм пировиноградной кислоты у коров в период раздоя // Мат. V межд. конф., посв. 50-летию ВНИИФБиП. – Боровск, 2010. – С. 22-24.
3. Галочкина В.П., Агафонова А.В., Дудин В.И. Оценка обеспеченности тиамин и фолатом направленности обмена пировиноградной кислоты у коров в связи с уровнем продуктивности // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2016. – № 1. – С. 65-75.
4. Долгова С.И. Биосинтез и использование витаминов В₃, В₆ и В₁₂ у лактирующих коров при разных условиях питания: автореф. дисс. ...к.б.н. – Боровск, 2001. – 21 с.
5. Adina-Zada A., Zeczycki T.N., Attwood P.V. Regulation of the structure and activity of pyruvate carboxylase by acetyl CoA // Arch. Biochem. Biophys. – 2012. – Vol. 519. – No. 2. – 118-30.
6. Aschenbach J.R., Kristensen N.B., Donkin S.S., Hammon H.M., Penner G.B. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough // IUBMB Life. – 2010. – Vol. 62. – No. 12. – P. 869-877.
7. Marin-Valencia I., Roe C.R., Pascual J.M. Pyruvate carboxylase deficiency: mechanisms, mimics and cataplerosis // Mol. Genet. Meat. – 2010. – Vol. 101. – No. 1. – P. 9-17.
8. Ørskov E.R., Flatt W.P., Moe P.W., Monson A.W., Henken R.W., Katz I. The influence of ruminal infusion of volatile fatty acids on milk yield and composition and energy utilization by lactating cows // Brit. J. Nutr. – 1969. – Vol. 23. – P. 443-453
9. Istasse L., MacLeod N.A., Goodall E., Ørskov E.R. Effect on plasma insulin of intermittent infusion of propionic acid, glucose or casein into the alimentary tract of non-lactating cows maintained on a liquid diet // Brit. J. Nutr. – 1987. – Vol. 58. – P. 139-148.
10. Scrutton M.S., White D.M. Pyruvate carboxylase specific inactivation of acetyl-CoA-dependent oxaloacetate synthesis during modification of the enzyme by trinitrobenzene sulfonate // J. Biol. Chem. – 1973. – Vol. 248. – No. 15. – P. 541-544.
11. Sutton J.D. Digestion and end product formation in the rumen from production rations // In: Ruckebusch Y., Thivend P. (Eds). Digestive Physiology and Metabolism in the Ruminant. – Lancaster: MTP Press, 1980. – P. 271-290.

12. Tylicki A., Siemieniuk M. Thiamine and its derivatives in the regulation of cell metabolism // *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*. – 2011. – Vol. 65. – P. 447-469.
13. Wang J., Zhu X., Chen C., Li X., Gao Y., Li P., Zhang Y., Long M., Wang Z., Liu G. Effect of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) on the gluconeogenesis in calf hepatocytes cultured in vitro // *Mol. Cell. Biochem.* – 2012. – Vol. 362. – No. 1-2. – P. 87-91.
14. Xu J., Han J., Long Y.S., Epstein P.N., Liu Y.Q. The role of pyruvate carboxylase in insulin secretion and proliferation in rat pancreatic beta cells // *Diabetologia*. – 2008. – Vol. 51. – No. 11. – P. 2022-2030.

REFERENCES

1. Adina-Zada A., Zeczycki T.N., Attwood P.V. Regulation of the structure and activity of pyruvate carboxylase by acetyl CoA. *Arch. Biochem. Biophys.* 2012, 519(2): 118-130.
2. Aschenbach J.R., Kristensen N.B., Donkin S.S., Hammon H.M., Penner G.B. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life*. 2010, 62(1): 869-877.
3. Dolgova S.I. *Biosintez i ispol'zovanie vitaminov B₃, B₆ i B₁₂ u laktiruyushchikh korov pri raznykh usloviyakh pitaniya* (Biosynthesis and use of vitamins B₃, B₆ and B₁₂ in lactating cows under different feeding conditions). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Biol., Borovsk, 2001, 26 p.
4. Galochkina V.P. [Determination of pyruvate carboxylase activity (method 2)]. In: *Metody biokhimicheskogo analiza (spravochnoe posobie) (red. B.D. Kal'nitskii)* (Methods of biochemical analysis: a reference book (Ed. B.D. Kalnitskii). Borovsk: VNIIFBiP, 1997, P. 245-249.
5. Galochkina V.P., Kharitonov E.L. [The effect of a diet balanced by limiting amino acids on the metabolism of pyruvic acid in cows in the first months of lactation]. In: *Mat. V mezhd. konf. posv. 50-letiyu VNIIFBiP* (Mat. V Int. Conf. dedicated to 50th anniv. of VNIIFBiP). Borovsk, 2010, P. 22-24.
6. Galochkina V.P., Agafonova A.V., Dudin V.I. [Estimation of the supply of thiamine and folacin for metabolism of pyruvic acid in cows in connection with the level of productivity]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology*. 2016, 1: 65-75.
7. Istasse L., MacLeod N.A., Goodall E., Ørskov E.R. Effect on plasma insulin of intermittent infusion of propionic acid, glucose or casein into the alimentary tract of non-lactating cows maintained on a liquid diet. *Brit. J. Nutr.* 1987, 58: 139-148.
8. Marin-Valencia I., Roe C.R., Pascual J.M. Pyruvate carboxylase deficiency: mechanisms, mimics and cataplerosis. *Mol. Genet. Meat*. 2010, 101(1): 9-17.
9. Ørskov E.R. Flatt W.P., Moe P.W., Monson A.W., Henken R.W., Katz I. The influence of ruminal infusion of volatile fatty acids on milk yield and composition and energy utilization by lactating cows. *Brit. J. Natur.* 1969, 23: 443-453.
10. Scrutton M.S., White D.M. Pyruvate carboxylase specific inactivation of acetyl-CoA-dependent oxaloacetate synthesis during modification of the enzyme by trinitrobenzene sulfonate. *J. Biol. Chem.* 1973, 248(15): 541-544.
11. Sutton J.D. Digestion and end product formation in the rumen from production rations. In: Y. Ruckebusch, P. Thivend (Eds). *Digestive Physiology and Metabolism in the Ruminant*. Lancaster: MTP Press Publ., 1980, P. 271-290.
12. Tylicki A., Siemieniuk M. Thiamine and its derivatives in the regulation of cell metabolism. *Postepy Hig. Med. Dosw. (On line)*. 2011, 65: 447-469.
13. Wang J., Zhu X., Chen C., Li X., Gao Y., Li P., Zhang Y., Long M., Wang Z., Liu G. Effect of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) on the gluconeogenesis in calf hepatocytes cultured in vitro. *Mol. Cell. Biochem.* 2012, 362(1-2): 87-91.
14. Xu J., Han J., Long Y.S., Epstein P.N., Liu Y.Q. The role of pyruvate carboxylase in insulin secretion and proliferation in rat pancreatic beta cells. *Diabetologia*. 2008, 51(11): 2022-2030.

**Processes of fermentation in rumen
and pyruvate metabolism in mammary gland in
cows with different milk fat content**

Galochkina V.P., Kharitonov E.L., Agafonova A.V.,
Obvintseva O.V., Ostrenko K.S., Galochkin V.A.

*Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition,
Borovsk, Russian Federation*

ABSTRACT. In the experiment conducted on two groups of cows, 5 cows each, under the same feeding conditions, with the same daily milk yield (40 kg), but with different fat content of milk (group I – 4.1, group II – 2.8%) in the period of 3 hours after feeding, the parameters of rumen fermentation and the activity of pyruvate carboxylase (PC) and lactate dehydrogenase (LDH) in the blood plasma of the jugular and milk veins were examined. Values of rumen fermentation parameters were in I and II groups, respectively: pH – 6.95 and 6.61, buffer capacity 12.5 ± 0.8 and 8.5 ± 1.2 ml/unit pH, acetate – 65, 7 and 63.6%, propionate – 18.8 and 23.9%, VFA – 9.24 and 10.26 mmol/100 ml, acetate/ propionate – 3.48 and 2.90. In the analysis of the combined data, the inverse relationship of the fat content of milk with the propionate/acetate ratio (molar percent) and the propionate content (molar percentage of VFA) in the rumen with pH of the contents was revealed. In general, fermentation processes in cows with low milk fat content were shifted towards acidification, which was accompanied by shifts in the metabolism of pyruvate acid. Corresponding to changes in the rumen fermentation, the activity of PC and LDH in the blood of the jugular and milk veins also changed. Both groups showed a low PC activity, with LDH activity in the blood of milk vein in both groups higher than in the systemic blood (in jugular vein), and in group II the activity of PC and LDH was higher ($P < 0.001$) in comparison with group I. In general, the manifestation of fat depressant effect of propionate in cows of group II was promoted by a lower absorption of acetate and an increase in lipogenesis in adipose tissue after ingestion of the feed.

Key words: lactating cows, ruminal fermentation, acetate, propionate, pyruvate carboxylase, lactate dehydrogenase, milk fat

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2018, 2: 39-47

Поступило в редакцию: 07.03.2018

Получено после доработки: 15.05.2018

Галочкин Владимир Анатольевич, д.б.н., зав. лаб., т. 8(910)523-98-22;

Харитонов Евгений Леонидович, д.б.н., зав. лаб., дир., тел. (495)546415
evgenijkharito@yandex.ru;

Агафонова Анастасия Викторовна, к.б.н., с.н.с., т. 8(910)910-07-15;

Обвинцева Ольга Витальевна, н.с., тел.: 8(903)814-79-76, obvintseva.olga@yandex.ru;

Остренко Константин Сергеевич, к.б.н., докторант, тел. 8(910)916-66-58,
ostrenkoks@gmail.com

Галочкина Валентина Петровна, д.б.н., т. 8(915)862-66-00;