

ROLA KWASU MASŁOWEGO W ROZWOJU FUNKCJONALNYM NABŁONKA ŻWACZA U CIELĄT*

Barbara Niwińska¹, Renata Klebaniuk², Krzysztof Bilik¹

¹Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, Dział Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa,
32-083 Balice k. Krakowa

²Uniwersytet Przyrodniczy, Zakład Bromatologii i Fizjologii Żywienia, ul. Akademicka 12,
20-934 Lublin

W pierwszych tygodniach życia prawidłowo żywionych cieląt rozwojowi trawienia mikrobiologicznego pasz w żwaczu towarzyszy rozwój funkcjonalny tkanki nabłonkowej żwacza. Tkanka nabłonkowa żwacza aktywnie pośredniczy między bogatym w produkty fermentacji mikrobiologicznej środowiskiem żwacza a krwioobiegami. Aby spełnić te funkcje, w pierwszych tygodniach życia zwierząt przeżuujących tkanka nabłonkowa żwacza podlega procesom rozwoju funkcjonalnego, obejmującym rozwój morfologiczny zwiększający powierzchnię chłonną i rozwój zdolności metabolizowania produktów fermentacji mikrobiologicznej pasz w żwaczu. Aktualne wyniki badań wskazują, że kwas masłowy, jeden z produktów fermentacji, hamuje apoptozę, przyspiesza cykl podziału komórkowego oraz reguluje pokrywanie potrzeb energetycznych komórek tkanki nabłonkowej żwacza. W wyniku tych procesów wzrasta powierzchnia chłonna rozwijającego się żwacza. Wykazano także, że kwas masłowy stymuluje absorpcję i metabolizm produktów fermentacji mikrobiologicznej, reguluje aktywność białek uczestniczących w utrzymaniu homeostazy wewnątrzkomórkowej oraz białek uczestniczących w przepływie międzykomórkowym metabolitów w obrębie tkanki nabłonkowej żwacza. W wyniku współdziałania tych procesów następuje rozwój metaboliczny tkanki nabłonkowej żwacza. W poniższym artykule przeglądowym przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat roli kwasu masłowego jako czynnika żywieniowego przyspieszającego rozwój funkcjonalny tkanki nabłonkowej żwacza u cieląt.

Słowa kluczowe: cielęta, kwas masłowy, tkanka nabłonkowa żwacza, rozwój morfologiczny, rozwój metaboliczny

Żwacz, największa z 4 komór żołądka zwierząt przeżuujących, jest miejscem trawienia mikrobiologicznego pobranych pasz. W wyniku tych przemian składniki chemiczne pobranej paszy zostają przekształcone w składniki pokarmowe pokrywające potrzeby energetyczno-białkowe organizmu gospodarza. Produktami trawienia

*Praca finansowana z działalności statutowej IZ PIB (zadanie nr 05-013.1).

mikrobiologicznego węglowodanów i białek pasz przez beztlenowe mikroorganizmy zasiedlające żwacz są lotne kwasy tłuszczowe (LKT), głównie kwasy octowy, propionowy i masłowy, które u dorosłych przeżuwaczy pokrywają około 75% potrzeb energetycznych organizmu (Bergman, 1990). Aktywne pośrednictwo między bogatym w produkty fermentacji mikrobiologicznej środowiskiem żwacza i krwioobiegami pełni bezgruczołowy, płaski nabłonek wielowarstwowy (*squamous epithelium*), wyścielający wewnętrzną (od strony światła) powierzchnię ściany żwacza (Graham i Simmons, 2005; Niwińska, 2015). U nowo urodzonych zwierząt przeżuwających żwacz jest sterylny, a rozwój trawienia mikrobiologicznego zależy od wieku i podawanych pasz. W treści żwacza 8-tygodniowych cieląt karmionych paszami stałymi koncentracja LKT sięga 120 mM l⁻¹ (Suárez i in., 2006). W funkcjonującym „dojrzałym” żwaczu tkanka nabłonkowa wchłania od 65 do 85% wyprodukowanych LKT, około 10% przepływa do jelita cienkiego, a pozostała część podlega wchłonięciu w czepcu i księgach (Harfoot, 1978; Nozière i in., 2010). W miarę rozwoju trawienia mikrobiologicznego w żwaczu podstawowym substratem metabolizmu komórek nabłonka staje się kwas masłowy, a produktami tych przemian są energia pokrywająca zapotrzebowanie tkanki nabłonkowej (20%) oraz kwasy β-hydroksymasłowy (45%) i acetoctowy (15%) transportowane do krwioobiegu gospodarza (Kristensen i in., 2000).

W miarę wzrostu cielęcia i rozwoju trawienia mikrobiologicznego w żwaczu droższe pasze płynne (mleko, pójło z preparatu mlekozastępczego) zastępowane są tańszymi paszami stałymi (mieszkanki treściwe, pasze objętościowe) (Baldwin i in., 2004). Ten efekt ekonomiczny uzasadnia prowadzenie badań, których celem jest poszukiwanie czynników żywieniowych, które przyspieszają rozwój i funkcjonowanie żwacza. Ponieważ już w latach 60-tych ubiegłego wieku wykazano, że zarówno obecność jak i koncentracja kwasu masłowego wpływają na rozwój tkanki nabłonkowej żwacza (Sander i in., 1959), właśnie wykorzystanie kwasu masłowego jako stymulatora rozwoju funkcjonalnego tkanki nabłonkowej żwacza w pierwszych tygodniach życia cieląt stanowi przedmiot badań. W ostatnich latach, w badaniach prowadzonych z wykorzystaniem metod badawczych opartych na technologiach analiz molekularnych, potwierdzono i wyjaśniono niektóre mechanizmy tego oddziaływania (Baldwin i in., 2012; Malhi i in., 2013; Connor i in., 2013). W świetle aktualnych wyników badań kwas masłowy wydaje się być obiecującym czynnikiem żywieniowym przyspieszającym rozwój funkcjonalny tkanki nabłonkowej żwacza u cieląt. W poniższym artykule przeglądowym przedstawiamy aktualny stan wiedzy dotyczący wpływu kwasu masłowego na rozwój morfologiczny i metaboliczny nabłonka żwacza.

Źródła kwasu masłowego w żywieniu cieląt

Kwas masłowy (nazwa systematyczna: kwas butanowy, wzór $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$), jest naturalną substancją obecną we wszystkich płynach biologicznych i tkankach, jako naturalny składnik metabolizmu komórkowego. Występuje w treści przewodu pokarmowego, w mleku, a także w pocie i kale większości ssaków. W przewodzie żołądkowo-jelitowym, ze względu na wyższe pH (z wyjątkiem żołądka gruczołowego) niż stała dysocjacji kwasu masłowego ($\text{pK}_a = 4,82$) (z wyjątkiem żołądka gruczołowego), w 90–99% występuje w postaci anionu maślanowego.

W pierwszych dniach życia źródłem kwasu masłowego jest siara, a następnie mleko. Siara zawiera w suchej masie około 2,1%, a mleko 1,2% kwasu masłowego (Ceballos i in., 2009; Garcia i in., 2014). Natomiast szeroko stosowane w żywieniu cieląt preparaty mlekozastępcze, bez udziału tłuszczu bydlęcego, nie zawierają kwasu masłowego nawet w śladowych ilościach. Źródłem kwasu masłowego może być fermentacja, jakiej podlegają pasze płynne wpływające do żwacza, w wyniku niedomykania się rynienki przelykowej lub refluksu treści z trawieńca. Stwierdzono, że w pierwszym tygodniu życia zjawisko to występuje u około 25% cieląt (Súarez i in., 2007). W okresie od urodzenia do 7. dnia życia młodych przeżuwaczy stężenie kwasu masłowego w płynie żwacza znacząco wzrasta. W pierwszym tygodniu życia jagniąt obserwowano 2-krotny wzrost stężenia od 0,002 mM l⁻¹ do 0,004 mM l⁻¹ (Lane i in., 2000). W następnych tygodniach koncentracja kwasu masłowego w treści żwacza jest regulowana składem chemicznym podawanej paszy, zarówno płynnej jak i stałej. Około 3-krotnie wyższa koncentracja kwasu masłowego charakteryzowała treść żwacza cieląt karmionych mlekiem w porównaniu do cieląt karmionych preparatem mlekozastępczym, a także treść żwacza cieląt karmionych mieszanką treściwą w porównaniu do karmionych sianem łąkowym (Niwińska i Strzetelski, 2005; Laarman i in., 2012). Podobny wzrost obserwowano w wyniku zastąpienia skrobi owsianej przez skrobię kukurydzianą w mieszance treściwej (Khan i in., 2008). Koncentracja kwasu masłowego w treści żwacza zależy również od ilości pobieranej paszy stałej. U cieląt w okresie od 2. do 6. tygodnia życia wzrostowi pobrania paszy stałej od 10 do 978 g dziennie suchej masy (SM) towarzyszył wzrost koncentracji od 0,002 do 0,008 mM l⁻¹ w płynie żwaczowym (Lesmeister i Heinrichs, 2004). Wykazano również, że u 8-tygodniowych cieląt karmionych paszami stałymi kwasy octowy, propionowy i masłowy stanowią około 92–95% wszystkich LKT i występują w proporcjach od 63:27:10 do 53:30:17, a wartości te są zbliżone do wartości charakteryzujących żwacz dorosłego bydła (Suárez i in., 2006).

Źródłem kwasu masłowego dla cieląt są także dodatki wprowadzane do pasz w formie rozpuszczalnych w wodzie i bezwonných maślanów Na, K, Mg lub Ca, dodawanych zwykle w postaci proszku lub kapsulek. Obserwowano 25–35% wzrost koncentracji kwasu masłowego w żwaczu 5-tygodniowych cieląt w wyniku wprowadzenia do paszy około 0,3% maślanów sodu lub wapnia (Gorka i in., 2009; Nazari i in., 2012).

Rozwój funkcjonalny nabłonka żwacza

Tkanka nabłonkowa żwacza pełni aktywną funkcję pośrednictwa między bogatym w produkty fermentacji środowiskiem żwacza a krwioobiegami. Funkcja ta obejmuje procesy wchłaniania, transportu i metabolizmu LKT, transportu produktów przemian metabolicznych do krwi oraz utrzymanie homeostazy wewnątrzkomórkowej (Gálfi i in., 1991; Steele i in., 2009). Tkanka nabłonkowa żwacza noworodków zwierząt przeżuwających nie posiada zdolności pełnienia tych funkcji, a rozwój funkcjonalny obejmuje zmiany morfologiczne i metaboliczne zachodzące w pierwszych kilku tygodniach po urodzeniu. Rozwój morfologiczny charakteryzuje wzrost powierzchni chłonnej w wyniku zwiększenia liczby i wymiarów palczastych struktur histologicznych, określaných jako brodawki żwaczowe (Graham i in., 2007). Rozwój metabo-

liczny obejmuje przede wszystkim wzrost zdolności przemian ketogenicznych, tj. zdolności do przekształcania LKT do ciał ketonowych, głównie β -hydroksymaślanu i acetylooctanu, wykorzystywanych w tkankach jako substrat przemian energetycznych (Hegardt, 1999; Allen, 2014). U dorosłych przeżuwaczy tkanka nabłonkowa żwacza jest głównym źródłem krążących w organizmie ciał ketonowych (Baldwin, 2000).

Brodawki żwaczowe jako struktury histologiczne w ścianie przedżołądka identyfikuje się już w 100-dniowym płodzie cielęcym, jednak rozwój funkcjonalny tkanki nabłonkowej przebiega po urodzeniu (Stallcup i in., 1990). W pierwszych 6 tygodniach życia masa żwacza wzrasta 3-krotnie, podczas gdy masa ciała jedynie o 33% (Baldwin i Jesse, 1992). Nie określono wzrostu masy samego nabłonka, ale u dorosłych przeżuwaczy nabłonek stanowi od 40 do 60% całkowitej masy żwacza (Heitmann i in., 1987). Można założyć, że tkanka nabłonkowa w pierwszych tygodniach rozwoju żwacza przyrasta równie intensywnie. Wielowarstwowa tkanka nabłonkowa żwacza nie jest jednorodna. W jej budowie od strony światła żwacza wyodrębniono cztery zróżnicowane morfologicznie i fizjologicznie warstwy: warstwę rogową zbudowaną z rogowaciejących keratynocytów (stanowi barierę ochronną pomiędzy treścią żwacza a następną warstwą nabłonka); warstwę ziarnistą zbudowaną z komórek ziarnistych z licznymi połączeniami międzykomórkowymi; warstwę kolczystą stanowiącą dwie warstwy komórek o licznym połączeniach międzykomórkowych oraz warstwę podstawną zbudowaną z komórek bogatych w mitochondria (Graham i Simmons, 2005). W trakcie rozwoju i funkcjonowania tkanki nabłonkowej komórki z warstwy podstawnej migrują przez kolejne warstwy pośrednie, a w czasie migracji zmieniają swoje właściwości metaboliczne. Zawierają coraz mniej mitochondriów i coraz więcej agregatów keratyny (Stumpff i in., 2011).

Wpływ kwasu masłowego na rozwój morfologiczny nabłonka żwacza

Zwiększenie powierzchni chłonnej żwacza u cieląt pod wpływem wzrostu koncentracji kwasu masłowego w żwaczu opisano już w latach 70-tych ubiegłego wieku (Sakata i Tamata, 1978). Na podstawie późniejszych badań wykazano, że zwiększenie od 30 do 100% koncentracji kwasu masłowego w treści żwacza wpływa w sposób istotny na zwiększenie wymiarów brodawek żwaczowych u cieląt (Mentschel i in., 2001; Gorka i in., 2009; Górka i in., 2011a, b; Kato i in., 2011) i u jagniąt (Cavini i in., 2015). Podobnie znaczący wpływ na wzrost wielkości brodawek, ich gęstości oraz całkowitej powierzchni chłonnej żwacza (wzrost o około 82%) stwierdzono u kózłat po dożwaczowej infuzji, przy zachowaniu fizjologicznej koncentracji kwasu w ich żwaczu (Malhi i in., 2013). Wyniki cytowanych badań potwierdziły wpływ kwasu masłowego na wzrost powierzchni chłonnej żwacza, jednak zastosowanie metod biologii molekularnej dało podstawy do wyjaśnienia tego procesu. Wykazano, że kwas masłowy stymuluje wzrost powierzchni chłonnej przez wzrost intensywności procesu namnażania komórek tkanki nabłonkowej, a tempo namnażania jest regulowane z jednej strony równowagą między mitozą a apoptozą komórek tkanki, a z drugiej strony szybkością przebiegu cyklu podziału komórkowego. Stwierdzono, że kwas masłowy pełni rolę specyficznego inhibitora procesu apoptozy komórek, tym samym wpływa na wzrost udziału w tkance komórek mitotycznych (Mentschel

i in., 2001). Zmiany w czasie trwania jednej lub kilku faz cyklu podziału komórkowego wpływają na szybkość proliferacji komórek. Cykl komórkowy obejmuje następujące po sobie fazy: spoczynek (G0), wzrost (G1), synteza (S), wstępna mitoz (G2) i mitoz (M). Stwierdzono, że wzrost koncentracji kwasu masłowego w żwaczu zmniejsza w tkance nabłonkowej liczebność komórek w fazach G0 i G1 i równocześnie zwiększa liczbę komórek w fazie S (w ocenianych 10 000 komórek nabłonkowych wzrost koncentracji kwasu masłowego o około 110% zwiększył udział komórek w fazie S z 9 do 15%) (Malhi i in., 2013). Na podstawie tych danych oszacowano, że wzrost koncentracji kwasu masłowego skraca czas trwania przejścia z fazy G0 / G1 do fazy S. Za ten etap cyklu podziału komórkowego odpowiedzialne są między innymi białka należące do cyklin, zwłaszcza cyklina typu D (ang. D-type cyclin; CCND), ich docelowe kinazy (ang. cyclin-dependent kinase; CDK) i inhibitory tych kinaz (ang. cyclin-dependent kinase inhibitor; CDKN) (King i Cidlowski, 1998). Izoforma 1 CCND (CCND1) wiąże się z izoformą 4 CDK (CDK4), tworząc kompleks pobudzający komórkę do przekroczenia „punktu granicznego” przejścia z fazy G1 w fazę S (Mathew i in., 2010). W odpowiedzi na zwiększenie stężenia kwasu masłowego w żwaczu na podstawie wzrostu ilości mRNA kodującego CCND1 przy stałym poziomie ekspresji CDK4 w komórkach tkanki nabłonkowej stwierdzono tworzenie kompleksu pobudzającego przejście z fazy G1 w fazę S (Malhi i in., 2013). Przedstawione powyżej zależności wyjaśniają mechanizm stymulacji wzrostu powierzchni chłonnej nabłonka żwacza przez kwas masłowy. Aktualne wyniki badań wskazują dodatkowo, że w czasie namnażania komórek nabłonkowych żwacza (wraz ze wzrostem stężenia kwasu masłowego) wzrasta ekspresja zarówno izoformy α receptora aktywowanego proliferatorami peroksysomów (ang. peroxisome proliferator-activated receptor isoform- α ; PPAR α), izoformy α receptora estrogenowego (ang. estrogen-related receptor α ; ESRRA), jak i zależnej od jonów wodorowych wakuolarnej adozynowej trifosfatazy (ang. vacuolar-type H⁺-adenosine triphosphatase; vH⁺-ATPaza) (Naeem i in., 2012; Kuzinski i in., 2012; Connor i in., 2014). Przedstawione powyżej wyniki potwierdzają zależność między procesem proliferacji a potrzebami energetycznymi dzielących się komórek nabłonka żwacza.

Cytowane powyżej badania wykazały, że wzrost koncentracji kwasu masłowego stymuluje rozwój morfologiczny tkanki nabłonkowej żwacza przez hamowanie apoptozy, przyspieszenie cyklu podziałowego oraz lepsze pokrycie potrzeb energetycznych komórek w procesie proliferacji.

Wpływ kwasu masłowego na rozwój metaboliczny nabłonka żwacza

Jedną z podstawowych cech dojrzałej metabolicznie tkanki nabłonkowej żwacza jest zdolność do realizacji przemian ketogenicznych. W funkcjonującym nabłonku około 75–90% absorbowanego kwasu masłowego podlega przemianom metabolicznym (Rémond i in., 1995). Po wchłonięciu do komórek, w procesie β -oksydacji kwas masłowy podlega przemianom do acetylokoenzymu A (ang. acetyl coenzyme A; acetyl-CoA), który w cyklu kwasu cytrynowego stanowi substrat do produkcji ciał ketonowych i trifosforanu adozyny (ang. adenosine triphosphate; ATP) z ditlenkiem węgla (CO₂) jako produktem ubocznym (Baldwin i Jesse, 1992; Allen, 2014). W ketogenezie aktywną rolę enzymów ograniczających szybkość procesu odgrywiają

acetylo-CoA acetylo-transferaza (ang. acetyl-coenzyme A acetyltransferase; ACAT) i syntetaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylo koenzymu A (ang. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase; HMG-CoA syntetaza) (Lane i in., 2002). Enzymy te przekształcają acetyl-CoA do 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A (ang. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A; HMG-CoA), głównego metabolitu ketogenezy (Baldwin, 1998). Syntetaza HMG-CoA występuje w cytoplazmie jako izoforma rozpuszczalna (ang. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1, soluble; HMGCS1) i w mitochondriach jako izoforma mitochondrialna (ang. 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA synthase 2, mitochondrial; HMGCS2) (Hegardt, 1999). Głównym miejscem przebiegu ketogenezy jest bogata w mitochondria warstwa podstawna nabłonka żwacza, w nieco mniejszym nasileniu warstwa kolczysta, natomiast w warstwie rogowej nie stwierdzono aktywności tych enzymów (Graham i Simmons, 2005). Na podstawie badań przeprowadzonych na cielętach w wieku 5 tygodni stwierdzono, że w odpowiedzi na 3-krotny wzrost stężenia kwasu masłowego w płynie żwacza wzrastała w tkance nabłonkowej ekspresja izoformy 1 ACAT (ACAT1), HMGCS2 oraz HMGCS1 (Laarman i in., 2012; Connor i in., 2013). Stwierdzony wzrost aktywności głównych enzymów uczestniczących w ketogenezie, w wyniku wzrostu koncentracji kwasu masłowego, potwierdza stymulującą rolę kwasu w rozwoju zdolności tkanki nabłonkowej żwacza do produkcji ciał ketonowych. Ta zależność wskazuje na niezbędność kwasu masłowego w procesie dojrzewania metabolicznego tkanki nabłonkowej żwacza.

Wzrost absorpcji LKT oraz rozwój aktywności metabolicznej łączy się ze wzrostem ryzyka zachwiania homeostazy wewnątrzkomórkowej komórek tkanki nabłonkowej. Błona komórkowa komórek pośredniczy między środowiskami zróżnicowanymi pod względem koncentracji jonów wodorowych, od strony światła żwacza styka się z płynem o pH mieszczącym się w granicach między 6 a 7, natomiast z drugiej strony z płynem wewnątrzkomórkowym, którego odczyn (pHi) jest wyższy, mieści się w granicach od 7,1 do 7,5 (Etschmann i in., 2006). W warunkach tych różnic następuje absorpcja z treści żwacza LKT, spośród których najszybciej jest absorbowany kwas masłowy, a wysokie tempo jego absorpcji (w granicach $0,97 \text{ godz.}^{-1}$) prowadzi do wzrostu pHi z szybkością około $0,45 \text{ jednostki godz.}^{-1}$ (Etschmann i in., 2006; Storm i in., 2012). W procesach absorpcji LKT, ich metabolizmu i równoczesnego utrzymania homeostazy wewnątrzkomórkowej uczestniczą transporterowe białka błonowe należące do rodziny nośników substancji rozpuszczonych (ang. solute carrier transporters family; SLC), w szczególności białka transporterowe kwasów monokarboksylowych (ang. proton-linked monocarboxylate transporters; MCT) i antyportery kationowo-protonowe Na^+/H^+ (ang. Na^+/H^+ exchanger; NHE) (Sehested i in., 1996; Hadjiagapiou i in., 2000; Graham i in., 2007). W procesach uczestniczy także adenzynowa trifosfataza (ang. adenosinetriphosphatase; ATPaza), szczególnie vH^+ -ATPaza (Etschmann i in., 2006; Kuzinski i in., 2012). Wzrost koncentracji kwasu masłowego w treści żwacza wpływa pozytywnie na wzrost ilości i aktywności MCT1 i MCT4 zlokalizowanych w błonie komórkowej warstwy podstawnej komórek tkanki nabłonkowej od strony naczyń krwionośnych, co potwierdza wzrost transportu produktów przemian kwasu masłowego oraz jonów maślanowych do krwiobiegu (Malhi i in., 2013; Laarman i in., 2012; Yan i in., 2014). Podobny wzrost aktywności izoform 1 i 3 NHE (NHE1 i NHE3) i vH^+ -ATP-azy w cytozolu komórek warstwy podstawnej

wskazuje na równoczesny wzrost intensywności przemian metabolicznych (Kuzinski i in., 2012; Laarman i in., 2012; Yan i in., 2014).

Cytowane wyniki potwierdzają, że wzrost koncentracji kwasu masłowego stymuluje absorpcję i metabolizm LKT, w tym również kwasu masłowego, aktywuje także systemy białkowe utrzymania homeostazy wewnątrzkomórkowej. Dodatkowo wskazują, że obecność oraz wzrost koncentracji kwasu masłowego stanowią czynniki regulujące przemiany energetyczne towarzyszące procesom proliferacji komórek tkanki nabłonkowej żwacza.

Wpływ kwasu masłowego na organizację tkanki nabłonkowej żwacza

Komórki tkanki nabłonkowej tworzą wyspecjalizowane połączenia międzykomórkowe kontaktujące komórki między sobą, chroniące ich integralność i polaryzację a także kontrolujące selektywny wychwyt i przepływ międzykomórkowy składników odżywczych (Graham i Simmons, 2005). Największa liczba połączeń charakteryzuje środkowe warstwy nabłonka (Graham i Simmons, 2005). W różnych rodzajach połączeń międzykomórkowych uczestniczą liczne i różnorodne białka. W funkcji adhezji uczestniczą okludyny (ang. occludin; OCLN) i liczne izotypy kładyn (ang. claudins; CLDs). Wzrost koncentracji kwasu masłowego o 120%, przy towarzyszącym obniżeniu pH z 6,2 do 5,3 spowodował istotne obniżenie ilości mRNA białka izotypów 1 i 4 kładyn i okludyny (Liu i in., 2013). Wyniki wskazują, że kwas masłowy pełni rolę regulatora połączeń międzykomórkowych, a zatem reguluje przepływ międzykomórkowy w obrębie tkanki nabłonkowej żwacza.

Podsumowanie

Kwas masłowy w płynie żwacza cieląt stymuluje rozwój morfologiczny oraz rozwój metaboliczny tkanki nabłonkowej żwacza. Mechanizm stymulacji rozwoju morfologicznego jest wynikiem współdziałania procesów hamowania apoptozy, przyspieszenia cyklu podziałowego oraz lepszego pokrywania potrzeb energetycznych komórek w procesie proliferacji. Stymulacja rozwoju metabolicznego obejmuje zwiększenie absorpcji i metabolizmu LKT oraz aktywności systemów białkowych utrzymujących homeostazę wewnątrzkomórkową komórek tkanki nabłonkowej żwacza. Kwas masłowy reguluje przepływ międzykomórkowy w obrębie tkanki nabłonkowej żwacza.

Przedstawione powyżej pozytywne wyniki badań potwierdzające stymulujący wpływ kwasu masłowego na rozwój funkcjonalny tkanki nabłonkowej ściany żwacza uzasadniają podjęcie badań nad określeniem zasad stosowania kwasu masłowego jako dodatku paszowego poprawiającego efektywności wychowu cieląt w pierwszych tygodniach życia.

Piśmiennictwo

- Allen M.S. (2014). Drives and limits to feed intake in ruminants. *Animal Prod. Sci.*, 54: 1513–1524; doi.org/10.1071/AN14478.
- Baldwin R.L. (2000). Sheep gastrointestinal development in response to different dietary treatments. *Small Ruminant Res.*, 35: 39–47; doi: 10.1016/S0921-4488(99)00062-0.

- Baldwin R.L., Jesse W.B. (1992). Developmental changes in glucose and butyrate metabolism by isolated sheep rumen epithelial cells. *J. Nutr.*, 122: 1149–1153.
- Baldwin VI R.L. (1998). Use of isolated ruminal epithelial cells in the study of rumen metabolism. *J. Nutr. (suppl.)*, 128: 293–296.
- Baldwin VI R.L., McLeod K.R., Klotz J.L., Heitmann R.N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant. *J. Dairy Sci. (suppl. E)*, 87: 55–65; doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)70061-2.
- Baldwin VI R.L., Wu S., Li W., Li C., Bequette B.J., Li R.W. (2012). Quantification of transcriptome responses of the rumen epithelium to butyrate infusion using RNA-seq technology. *Gene Regul. Syst. Bio.*, 6: 67–80; doi:10.4137/GRSB.S9687.
- Bergman E.N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.*, 70: 567–590.
- Cavini S., Iraira S., Siurana A., Foskolos A., Ferret A., Calsamiglia S. (2015). Effect of sodium butyrate administered in the concentrate on rumen development and productive performance of lambs in intensive production system during the suckling and the fattening periods. *Small Ruminant Res.*, 123: 212–217; <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.11.009>.
- Ceballos L.S., Morales E.R., de la Torre Adarve G., Castro J.D., Martínez L.P., Sanz Sampelayo M.R. (2009). Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J. Food Comp. Anal.*, 22: 322–329; doi:10.1016/j.jfca.2008.10.020.
- Connor E.E., Baldwin VI R.L., Li C., Li R.W., Chung H. (2013). Gene expression in bovine rumen epithelium during weaning identifies molecular regulators of rumen development and growth. *Funct. Integr. Genomics* 13: 33–142; doi:10.1007/s10142-012-0308-x.
- Connor E.E., Baldwin VI R.L., Walker M.P., Ellis S.E., Li C., Kahl S., Chung H., Li R.W. (2014). Transcriptional regulators transforming growth factor- β 1 and estrogen-related receptor- α identified as putative mediators of calf rumen epithelial tissue development and function during weaning. *J. Dairy Sci.*, 97: 4193–4207; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7471>.
- Etschmann B., Heipertz K.S., von der Schulenburg A., Schweigel M. (2006). A vH⁺-ATPase is present in cultured sheep ruminal epithelial cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 291: G1171–G1179. doi:10.1152/ajpgi.00099.2006.
- Gálfi P., Neogrády S., Sakata T. (1991). Effects of volatile fatty acids on the epithelial cell proliferation of the digestive tract and its hormonal mediation. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants: Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*. T. Tsuda, Y. Sasaki, R. Kawashima (eds). Academic Press, Inc., San Diego, CA, pp. 49–59.
- García M., Greco L.F., Favoreto M.G., Marsola R.S., Martins L.T., Bisinotto R.S., Shin J.H., Lock A.L., Block E., Thatcher W.W., Santos J.E.P., Staples C.R. (2014). Effect of supplementing fat to pregnant nonlactating cows on colostral fatty acid profile and passive immunity of the newborn calf. *J. Dairy Sci.*, 97: 392–405; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7086>.
- Gorka P., Kowalski Z.M., Pietrzak P., Kotunia A., Kiljanczyk R., Flaga J., Holst J.J., Guilloteau P., Zabielski R. (2009). Effect of sodium butyrate supplementation in milk replacer and starter diet on rumen development in calves. *J. Physiol. Pharmacol. (suppl. 3)*, 60: 47–53.
- Górka P., Kowalski Z.M., Pietrzak P., Kotunia A., Jagusiak W., Zabielski R. (2011a). Is rumen development in newborn calves affected by different liquid feeds and small intestine development? *J. Dairy Sci.*, 94: 3002–3013; doi: 10.3168/jds.2010-3499.
- Górka P., Kowalski Z.M., Pietrzak P., Kotunia A., Jagusiak W., Holst J.J., Guilloteau P., Zabielski R. (2011b). Effect of method of delivery of sodium butyrate on rumen development in newborn calves. *J. Dairy Sci.*, 94: 5578–5588; doi: 10.3168/jds.2011-4166.
- Graham C., Simmons N.L. (2005). Functional organization of the bovine rumen epithelium. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 288: R173–R181. doi: 10.1152/ajpregu.00425.2004.
- Graham C., Gatherer I., Haslam I., Glanville M., Simmons N.L. (2007). Expression and localization of monocarboxylate transporters and sodium/proton exchangers in bovine rumen epithelium. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 292: R977–R1007. doi: 10.1152/ajpregu.00343.2006.
- Hadjiagapiou C., Schmidt L., Dudeja P.K., Layden T.J., Ramaswamy K. (2000). Mechanism(s) of butyrate transport in Caco-2 cells: role of monocarboxylate transporter 1. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 279: G775–G780.

- Harfoot C.G. (1978). Anatomy, physiology and microbiology of the ruminant digestive tract. *Prog. Lipid Res.*, 17: 1–19.
- Hegardt F.G. (1999). Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase: A control enzyme in ketogenesis. *Biochem. J.*, 338: 569–582.
- Heitmann R.N., Dawes D.J., Sensenig S.C. (1987). Hepatic ketogenesis and peripheral ketone body utilization in the ruminant. *J. Nutr.*, 117: 1174–1180.
- Kato S., Sato K., Chida H., Roh S.G., Ohwada S., Sato S., Guilloteau P., Katoh K. (2011). Effects of Na-butyrate supplementation in milk formula on plasma concentrations of GH and insulin, and on rumen papilla development in calves. *J. Endocrinol.*, 211: 241–248; doi: 10.1530/JOE-11-0299.
- Khan M.A., Lee H.J., Lee W.S., Kim H.S., Kim S.B., Park S.B., Baek K.S., Ha J.K., Choi Y.J. (2008). Starch source evaluation in calf starter: II. Ruminal parameters, rumen development, nutrient digestibilities, and nitrogen utilization in Holstein calves. *J. Dairy Sci.*, 91: 1140–1149; doi:10.3168/jds.2007-0337.
- King K.L., Cidlowski J.A. (1998). Cell cycle regulation and apoptosis. *Annu. Rev. Physiol.*, 60: 601–617; doi: 10.1146/annurev.physiol.60.1.601.
- Kristensen N.B., Pierzynowski S.G., Danfaer A. (2000). Portal-drained visceral metabolism of 3-hydroxybutyrate in sheep. *J. Anim. Sci.*, 78: 2223–2228.
- Kuzinski J., Zitnan R., Albrecht E., Viergutz T., Schweigel-Röntgen M. (2012). Modulation of vH⁺-ATPase is part of the functional adaptation of sheep rumen epithelium to high-energy diet. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 303: R909–R920; doi: 10.1152/ajp-regu.00597.2011.
- Laarman A.H., Ruiz-Sanchez A.L., Sugino T., Guan L.L., Oba M. (2012). Effects of feeding a calf starter on molecular adaptations in the ruminal epithelium and liver of Holstein dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 95: 2585–2594; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4788>.
- Lane M.A., Baldwin V.R.L., Jesse B.W. (2000). Sheep rumen metabolic development in response to age and dietary treatments. *J. Anim. Sci.*, 78: 1990–1996.
- Lane M.A., Baldwin V.R.L., Jesse B.W. (2002). Developmental changes in ketogenic enzyme gene expression during sheep rumen development. *J. Anim. Sci.*, 80: 1538–1544; <http://www.journalofanimalscience.org/content/80/6/1538>.
- Lesmeister K.E., Heinrichs A.J. (2004). Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 87: 3439–3450.
- Liu J., Xu T., Liu Y., Zhu W., Mao S. (2013). A high-grain diet causes massive disruption of ruminal epithelial tight junctions in goats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 305: R232–R241; doi:10.1152/ajp-regu.00068.2013.
- Malhi M., Gui H., Yao L., Aschenbach J.R., Gäbel G., Shen Z. (2013). Increased papillae growth and enhanced short-chain fatty acid absorption in the rumen of goats are associated with transient increases in cyclin D1 expression after ruminal butyrate infusion. *J. Dairy Sci.*, 96: 7603–7616; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6700>.
- Mathew O.P., Ronganna K., Yatsu F.M. (2010). Butyrate, an HDAC inhibitor, stimulates interplay between different posttranslational modifications of histone H3 and differently alters G1-specific cell cycle proteins in vascular smooth muscle cells. *Biomed. Pharmacother.*, 64: 733–740; doi: 10.1016/j.biopha.2010.09.017.
- Mentschel J., Leiser R., Mülling C., Pfarrer C., Claus R. (2001). Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. *Arch. Anim. Nutr.*, 55: 85–102.
- Naeem A., Drackley J.K., Stamey J., Looor J.J. (2012). Role of metabolic and cellular proliferation genes in ruminal development in response to enhanced plane of nutrition in neonatal Holstein calves. *J. Dairy Sci.*, 95: 1807–1820; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4709>.
- Nazari M., Karkoodi K., Alizadeh A. (2012). Performance and physiological responses of milk-fed calves to coated calcium butyrate supplementation. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 42: 296–303; <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v42i3.12>.
- Niwińska B. (2015). Budowa i funkcje nabłonka śluzówki żwacza. *Wiad. Zoot.*, 3: 141–149; http://www.izoo.krakow.pl/czasopisma/wiadzoot/2015/3/WZ_2015_3_art19.pdf.
- Niwińska B., Strzetelski J. (2005). Effects of type of liquid feed and feeding frequency on ru-

- men development and rearing performance of calves. *J. Anim. Feed Sci.* (suppl. 1), 13: 167–170; doi: 10.13140/2.1.3792.1924.
- Nozière P., Ortigues-Marty I., Loncke C., Sauvant D. (2010). Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fibre to nutrients available for tissues. *Animal*, 4, 7: 1057–1074; doi:10.1017/S1751731110000844.
- Rémond D., Ortigues I., Jouany J.P. (1995). Energy substrates for the rumen epithelium. *Proc. Nutr. Soc.*, 54: 95–105.
- Sakata T., Tamata H. (1978). Influence of butyrate on microscopic structure of ruminal mucosa in adult sheep. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 49 (9): 687–696.
- Sander E.G., Warner R.G., Harrison N., Loosli J.K. (1959). The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. *J. Dairy Sci.*, 42: 1600–1605; [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(59\)90772-6](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(59)90772-6).
- Sehested J., Diernes L., Møller P.D., Skadhauge E. (1996). Transport of sodium across the isolated bovine rumen epithelium: interaction with short-chain fatty acids, chloride and bicarbonate. *Exp. Physiol.*, 81: 79–94; doi: 10.1113/expphysiol.1996.sp003920.
- Stallcup T., Kreider D.L., Rakes J.M. (1990). Histological development and histochemical localization of enzymes in rumen and reticulum in bovine fetuses. *J. Anim. Sci.*, 68: 1773–1789. doi:1990.6861773x.
- Steele M.A., AlZahal O., Hook S.E., Croom J., McBride B.W. (2009). Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow: a case report. *Acta Vet. Scand.*, 51, p. 39; doi:10.1186/1751-0147-51-39.
- Storm C., Kristensen N.B., Hanigan M.D. (2012). A model of ruminal volatile fatty acid absorption kinetics and rumen epithelial blood flow in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 95: 2919–2934; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4239>.
- Stumpff F., Georgi M.I., Mundhenk L., Rabbani I., Fromm M., Martens H., Günzel D. (2011). Sheep rumen and omasum primary cultures and source epithelia: barrier function aligns with expression of tight junction proteins. *J. Exp. Biol.*, 214: 2871–2882; doi:10.1242/jeb.055582.
- Suárez B.J., Van Reenen C.G., Beldman G., van Delen J., Dijkstra J., Gerrits W.J.J. (2006). Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. Animal performance and rumen fermentation characteristics. *J. Dairy Sci.*, 89: 4365–4375; doi: HYPERLINK "<https://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302%2806%2972483-3>" 10.3168/jds.S0022-0302(06)72483-3.
- Suárez B.J., Van Reenen C.G., Stockhofe N., Dijkstra J., Gerrits W.J.J. (2007). Effect of roughage source and roughage to concentrate ratio on animal performance and rumen development in veal calves. *J. Dairy Sci.*, 90: 2390–2403; doi:10.3168/jds.2006-524.
- Yan L., Zhang B., Shen Z. (2014). Dietary modulation of the expression of genes involved in short-chain fatty acid absorption in the rumen epithelium is related to short-chain fatty acid concentration and pH in the rumen of goats. *J. Dairy Sci.*, 97: 5668–5675; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7807>.

Zatwierdzono do druku 7 XII 2016

BARBARA NIWIŃSKA, RENATA KLEBANIUK, KRZYSZTOF BILIK

The role of butyric acid in the functional development of rumen epithelium in calves

SUMMARY

During the first weeks of life of properly fed calves, the development of microbial digestion of feeds in the rumen is accompanied by the functional development of ruminal epithelial tissue. The ruminal

epithelial tissue actively mediates between ruminal environment and bloodstream. In order to meet those functions, during the first weeks of life the ruminal epithelial tissue is subjected to the functional development processes. They include morphological development, which increases the absorptive surface area, and metabolic development, which increases the ability to metabolize the products of microbial fermentation in the rumen. Results of current studies indicate that the butyric acid, one of the fermentation products, inhibits apoptosis, accelerates the cycle of cell division and regulates the covering of epithelial cells energy needs during the proliferation processes. It has also been shown that butyric acid stimulates absorption and metabolism of microbial fermentation products, regulates the activity of proteins involved in maintaining intracellular homeostasis and in intercellular metabolites movement across the ruminal epithelial cells and tissue. The interaction of these processes leads to metabolic development of the ruminal epithelial tissue. This review article presents the current state of knowledge about the role of butyric acid as a nutritional factor that accelerates the functional development of ruminal epithelial tissue in calves.

Key words: calves, butyric acid, rumen epithelial tissue, morphological development, metabolic development