

ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ ТРАНСПОРТНИХ АТФаз ПЛАЗМОЛЕМИ АБСОРБЦІЙНИХ ЕНТЕРОЦИТІВ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ВПЛИВУ ЛІКОПЕНУ

А. О. Бугай, М. І. Цвіліховський

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ

Проведено дослідження щодо впливу лікопену на показники активності іонних pomp — Na^+, K^+ -АТФази, Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази — плазмолемі абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів в онтогенезі. Отримані дані характеризують вікове зменшення активності цих ферментів. Це свідчить про онтогенетичне зниження функціонального стану абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів, а саме зменшення інтенсивності всмоктування електролітів, рухомості елементів цитоскелету, тощо.

Застосування лікопену призводить до підвищення активності досліджуваних АТФаз при збереженні загальної онтогенетичної динаміки цих показників. Отримані дані вказують на інтенсифікацію процесів мембранного травлення у курчат-бройлерів за дії лікопену, що впливає на їх ріст та розвиток.

Ключові слова: КАРОТИНОЇДИ, ЛІКОПЕН, ОНТОГЕНЕЗ, КУРЧАТА-БРОЙЛЕРИ, ПОРОЖНЯ КИШКА, АБСОРБЦІЙНІ ЕНТЕРОЦИТИ, ПЛАЗМОЛЕМА, Na^+, K^+ -АТФаза, Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФаза, Mg^{2+} -АТФаза

Лікопен є одним з найбільш активних каротиноїдів, завдяки чому наразі інтенсивно досліджується його вплив на організм людини і тварин з перспективою практичного застосування. Проте на сьогодні майже не встановлені механізми дії лікопену на тканинному, клітинному і молекулярному рівнях. Особливо це стосується однієї з перших мішеней впливу лікопену — абсорбційних ентероцитів порожньої кишки. Результати проведених раніше досліджень вказують на активізацію травних процесів курчат-бройлерів при застосуванні їм лікопену [1, 2]. Встановлено, що це зумовлено певними змінами структурно-функціонального стану плазмолемі абсорбційних ентероцитів. У значній мірі інтенсивність процесів мембранного травлення і всмоктування поживних речовин у травному каналі людини і тварин регулюється параметрами водно-електролітного градієнту, який утворюється завдяки функціонуванню мембранно-зв'язаних іонних pomp (транспортних аденозинтрифосфатаз; АТФаз) [3, 4, 5]. Тому вивчення впливу лікопену на активність транспортних АТФаз плазмолемі абсорбційних ентероцитів є важливим з точки зору розкриття окремих механізмів дії цієї речовини на організм сільськогосподарської птиці.

Мета роботи — дослідити ферментативну активність транспортних АТФаз апікальної (АМ) та базолатеральної (БМ) мембран абсорбційних клітин курчат-бройлерів за дії лікопену.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на кафедрі терапії і клінічної діагностики Національного університету біоресурсів і природокористування України в травні-липні 2009 р.

Для дослідження використовували курчат-бройлерів кросу «Конкурент-3» 14–42-добового віку. Курчата утримувались у клітках з 1-добового віку на збалансованому за поживними речовинами раціоні, який змінювався згідно з технологічним графіком. Курчатам дослідної групи, починаючи з 5-добового віку, щодоби перорально вводили розчин лікопену в соняшниковій олії (кількість від 0,1 до 0,5 мл) у встановленій оптимальній дозі. Курчатам контрольної групи аналогічним шляхом вводили соняшкову олію. Лікопен отримували методом екстракції органічними розчинниками рослинної сировини (м'якоть плодів фізалісу

і томату). Екстракт концентрували і очищували від супутніх каротиноїдів (каротини, фітоїн, фітофлуїн тощо) на колонці з оксидом алюмінію в системі «гептан-бензол» у співвідношенні 9:1 (за об'ємом). Очищена фракція лікопену мала червоний колір і максимум поглинання світла в гексані при λ 446, 470 і 506 нм.

Для визначення ферментативної активності транспортних АТФаз плазмолемі абсорбційних ентероцитів проводили евтаназію курчат шляхом декапітації (після нембуталового наркозу) у віці 14, 21, 28, 35 та 42 доби, вранці, без попереднього голодування. Отримання абсорбційних ентероцитів порожньої кишки проводили хімічним (ЕГТА/цитрат) методом [6]. Апікальні (АМ) і базолатеральні (БМ) мембрани абсорбційних ентероцитів отримували шляхом диференційного центрифугування і Mg^{2+} -преципітації [7]. Осади мембранних фракцій ресуспендували в розчині такого складу (мМ): 300 манніт, 20 НЕРЕС-тріс, 0,1 $MgSO_4$, рН=7,4.

У мембранних препаратах визначали вміст загального білка за методом Лоурі. Ферментативну активність Na^+,K^+ -АТФази (КФ 3.6.3.9), Ca^{2+},Mg^{2+} -АТФази (КФ 3.6.3.8) та Mg^{2+} -АТФази (КФ 3.6.3.1) визначали за рекомендаціями Болдирева в авторській модифікації. Принцип методу полягає у вимірюванні в забуференому середовищі вмісту вивільненого неорганічного фосфату при гідролізі АТФ за методом Ратбуна-Бетлах, що дозволяє уникнути несправжньо завищеного результату завдяки попередженню кислотного гідролізу лабільних фосфорних естерів.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакетів програм Excel-97 і Statistica 6.0.

Результати й обговорення

Проведені дослідження передбачають інтенсифікацію транспортних процесів через плазмолему абсорбційних клітин курчат-бройлерів і підвищення їх енергетичного статусу за дії лікопену.

Результати досліджень вказують на певні відмінності у властивостях транспортних АТФаз плазмолемі абсорбційних ентероцитів курей у порівнянні з іншими видами тварин (щур, кріль, велика рогата худоба) [8–12]. Так, питома ферментативна активність всіх досліджуваних АТФаз у плазмолемі абсорбційних ентероцитів курей є нижчою у 2–5 разів за цей показник у вказаних вище тварин. Ймовірно, це зумовлено дією ряду факторів, таких як особливості ліпідного мікрооточення ферментів, певна взаємодія між перерозподілом функцій АТФаз, особливості експресії мембранних білків. На жаль, у доступній нам літературі відсутня інформація щодо ферментативної активності основних АТФаз епітеліоцитів порожньої кишки курей, що не дає можливості порівняти ці показники на різних етапах диференціації кишкових клітин.

Відомо, що основна функція Na^+,K^+ -АТФази полягає у відкачуванні іонів Na^+ з цитозолу ентероцитів, які поступають туди при функціонуванні ко-транспортних переносників низькомолекулярних сполук (глюкоза, амінокислоти, тощо), через БМ у міжклітинну рідину [5, 8]. При цьому витрачається енергія гідролізу АТФ. Тому ферментативна активність Na^+,K^+ -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів характеризує як енергетичний статус цих клітин, так і інтенсивність Na^+ -залежних транспортних механізмів через АМ.

Вікова динаміка активності Na^+,K^+ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів характеризується зниженням від 14 до 42 діб їх вирощування в 1,34 раза ($P < 0,05$) (рис. 1). При цьому відмічається період підвищення ферментативної активності Na^+,K^+ -АТФази з 14-ї до 28-ї діб у 1,5 раза, ($P < 0,05$) і період зниження цього показника — з 28-ї до 42-ї діб у 2,1 раза, ($P < 0,05$). Отримані дані підтверджують зниження інтенсивності Na^+ -залежного транспорту речовин до ентероцитів [3, 14, 15]. Це перебуває у причинно-наслідкових зв'язках з інтенсивністю енергетичних процесів в абсорбційних ентероцитах. Можливо, відмічений факт і є основною причиною зниження функціонального стану організму курчат-бройлерів після 28 діб їх вирощування, що було встановлено у наших попередніх дослідженнях [1, 2].

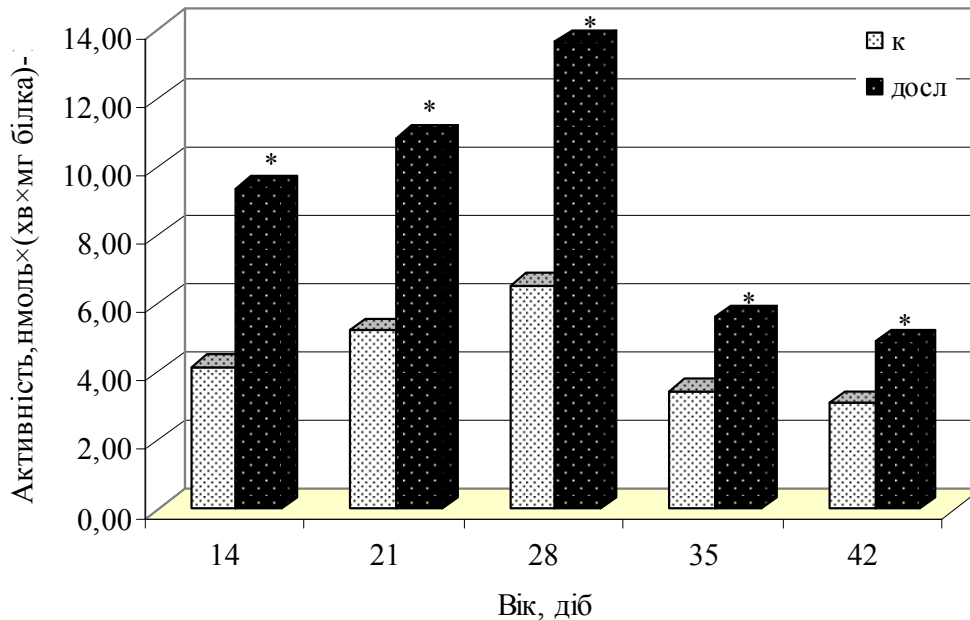


Рис. 1. Ферментативна активність Na^+, K^+ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів впродовж їх вирощування за дії лікопену.

Примітка: * — $P < 0,05$ — дані вірогідні між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку

За дії лікопену встановлено підвищення у порівнянні з контролем ферментативної активності Na^+, K^+ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів у 2,2 раза ($P < 0,05$). Вікова динаміка ферментативної активності Na^+, K^+ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів, як і в контролі, характеризується зниженням у 1,9 раза ($P < 0,05$). При цьому також встановлений період підвищення активності Na^+, K^+ -АТФази з 14-ї до 28-ї діб вирощування курчат-бройлерів у 1,7 раза, ($P < 0,05$) і період її зниження з 28-ї до 42-ї діб вирощування у 2,8 раза, ($P < 0,05$). Слід зазначити, що ферментативна активність Na^+, K^+ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів дослідної групи перевищувала цей показник у порівнянні з контролем з 14-ї до 28-ї діб вирощування в середньому в 2,1 раза ($P < 0,05$), а на 35 і 42 доби вирощування — у середньому в 1,6 раза ($P < 0,05$). Отримані дані вказують на певну відмінність у дії лікопену на експресію Na^+, K^+ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів або опосередкований його вплив через зміну ліпідного складу мембранного бішару [16, 17]. Також не виключаємо наявність в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів ряду ізоферментів Na^+, K^+ -АТФази [3, 17], які відповідають потребам регуляції водно-електролітного балансу ентероцитів.

На відміну від Na^+, K^+ -АТФази, інша іонна помпа — $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаза — локалізується як в АМ, так і в БМ абсорбційних ентероцитів, виконуючи при цьому різні функції. В АМ ентероцитів $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаза асоційована з цитоскелетом мікрворсинок і функціонує сумісно зі скорочувальними білками (міозини I та II), а в БМ вона виконує функції підтримання сталої внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} шляхом його екструзії з ентероциту [3, 8, 9, 18, 19].

Вікова динаміка ферментативної активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази АМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів характеризується поступовим зниженням у 1,8 раза ($P < 0,05$) від 14-ї до 42-ї діб вирощування (рис. 2), що може вказувати на зниження скоротливої функції цитоскелету мікрворсинок даного типу клітин.

При цьому встановлено два періоди незначного зниження ферментативної $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази в середньому по 5 % ($P < 0,05$) — з 14-ї до 21-ї та з 35-ї до 42-ї діб вирощування курчат-бройлерів. У період з 21-ї до 35-ї діб встановлено більш виражене зниження ферментативної активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази в АМ абсорбційних ентероцитів (у 1,4 раза, $P < 0,05$).

За дії лікопену встановлено зниження на 6 % ($P < 0,05$) у порівнянні з контролем ферментативної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази в АМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів. Можливо, це призводить до зниження інтенсивності функціонування міозинових білків цитоскелету мікрроворсинок абсорбційних ентероцитів. Не виключено, що відмічений факт також може бути зумовлений зниженням в'язкості мембранного бішару.

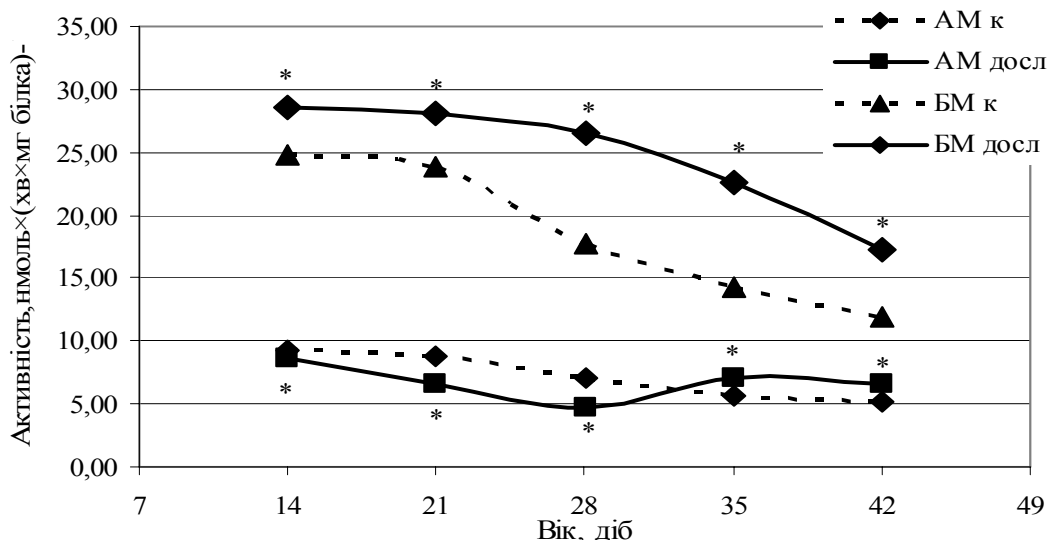


Рис. 2. Ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази плазмолемі абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів впродовж їх вирощування за дії лікопену
Примітка: * — $P < 0,05$ — дані вірогідні між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку

Вікова динаміка активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази АМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів має хвилеподібний характер, що в підсумку призводить до зниження цього показника в 1,3 рази ($P < 0,05$) у 42-добової птиці. При цьому встановлено два періоди зниження активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази: більш вираженого — в 1,9 рази ($P < 0,05$) з 14-ї по 28-ї діб і менш вираженого — з 35-ї по 42-ї діб — на 7 % ($P < 0,05$). З 28-ї до 35-ї діб вирощування курчат-бройлерів встановлено період значного підвищення активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази в АМ (у 1,5 рази, $P < 0,05$). Саме завдяки цьому активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази в АМ абсорбційних ентероцитів стає вищою в 1,26 рази ($P < 0,05$) у 35- і 42-добових курчат-бройлерів у порівнянні з контролем.

Динаміка ферментативної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів, як і в АМ, характеризується зниженням від 14-ї до 42-ї діб вирощування птиці у 2 рази ($P < 0,05$). При цьому не встановлено вірогідної різниці між показниками активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів у віці 14 і 21 діб. Загалом, для Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази встановлена та ж вікова тенденція, яка властива Na^+ , K^+ -АТФазі БМ абсорбційних ентероцитів, що вказує на зниження енергозабезпечення цих клітин і зменшення інтенсивності виведення цитозольного кальцію. Зважаючи на важливу роль іонів Ca^{2+} в процесах апоптозу і некрозу клітин, передбачаємо зменшення порогу чутливості абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів до дії негативних факторів, які призводять до їх загибелі. Тобто, це є ще одним доказом зниження інтенсивності процесів мембранного травлення у курей із збільшенням їх віку.

За дії лікопену встановлено підвищення активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів у 1,15 рази ($P < 0,05$) у порівнянні з контролем. Динаміка цього показника за впливу лікопену характеризується поступовим невірогідним зниженням з 14-ї до 28-ї діб вирощування курчат-бройлерів та вираженим зниженням (у 1,5 рази, $P < 0,05$) — з 28-ї до 42-ї діб. При цьому активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів дослідної групи впродовж всього періоду вирощування була вищою за контроль: на 14-у і 21-у доби вирощування 1,15 рази ($P < 0,05$) і в 1,19 рази ($P < 0,05$), відповідно, а на 28-, 35- та 42-у доби — в 1,5 рази ($P < 0,05$), 1,6 рази

($P < 0,05$) і 1,4 раза ($P < 0,05$), відповідно. Не виключено, що лікопен може збільшувати експресією кальмодуліну, який є фізіологічним активатором $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази БМ ентероцитів [3, 18, 19]. Тобто, за дії лікопену відбувається більш інтенсивне виведення кальцію у міжклітинну рідину, що вказує як на кращий функціональний стан абсорбційних ентероцитів, так і на краще забезпечення потреб організму курчат-бройлерів у кальції.

На особливу увагу заслуговує показник значно нижчої активності Na^+, K^+ -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів у порівнянні з активністю $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази. Так, за даними літератури для інших видів хребетних тварин співвідношення між цими показниками є не нижчим 0,6–0,8 од. [3, 7, 8]. У наших дослідженнях індекс Na^+, K^+ -АТФаза/ $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаза дорівнює 0,17–0,37 од. у контролі та 0,25–0,52 од. у досліді. Вважаємо, що, по-перше, Na^+, K^+ -АТФаза БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курей не має великого значення у регуляції внутрішньоклітинного рівня іонів кальцію $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазою, що показано Blaustein та Blanco [3, 16], а, по-друге, збільшення вказаного індексу за дії лікопену може бути підтвердженням посилення експресії певного ізоферменту Na^+, K^+ -АТФази.

Mg^{2+} -АТФаза є найменш вивченим ферментом з Р-типу сімейства АТФаз. Передбачається, що Mg^{2+} -АТФаза функціонально поєднана зі скорочувальним апаратом цитоскелету ентероцитів, переважно асоційованого з БМ. Також не виключається інша роль Mg^{2+} -АТФази АМ ентероцитів порожньої кишки, яка полягає в регуляції рН субапикального компартменту та навколоклітинного простору.

Слід зазначити, що питома ферментативна активність Mg^{2+} -АТФази як в АМ, так і в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів є значно вищою (в 2–10 разів) за ферментативну активність інших досліджуваних АТФаз. Це не характерно для інших видів тварин [7, 8], у яких подібна тенденція встановлена тільки для АМ. Передбачаємо, що цитоскелет абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів містить значну кількість білків, які володіють Mg^{2+} -АТФазою активністю [20]. Це може свідчити про високу активність скоротливого апарату абсорбційних ентероцитів курей.

Вікова динаміка ферментативної активності Mg^{2+} -АТФази АМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів характеризується зниженням у 3,2 раза ($P < 0,05$) до 42-ї доби вирощування (табл. 1). При цьому встановлено період найбільш вираженого зниження цього показника (в 1,5 раза, $P < 0,05$) з 21-ї по 28-у доби. Отримані результати можуть свідчити про зниження функціонального статусу термінальної сітки філаментів, асоційованих з АМ абсорбційних ентероцитів.

За дії лікопену встановлено підвищення ферментативної активності Mg^{2+} -АТФази в АМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів, у порівнянні з контролем в 2,6 раза ($P < 0,05$), що вказує на більш розвинену скоротливу функцію елементів цитоскелету мікрворсинок. Вікова динаміка активності Mg^{2+} -АТФази в АМ абсорбційних ентероцитів за впливу лікопену характеризується зниженням у 4,5 раза ($P < 0,05$) в порівнянні з контролем. Але, незважаючи на відмічену тенденцію, ферментативна активність Mg^{2+} -АТФази АМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів дослідної групи впродовж всього періоду їх вирощування є вищою за контроль в 1,8–2,7 раза ($P < 0,05$).

Таблиця 1

Ферментативна активність Mg^{2+} -АТФази плазмолемі абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів впродовж їх вирощування за дії лікопену, $\text{нмоль} \times (\text{хв} \times \text{мг білка})^{-1}$ ($M \pm m$, $n=4$)

Вік, діб	Контрольна група		Дослідна група	
	АМ	БМ	АМ	БМ
14	16,78±0,15	71,83±1,74	44,40±1,23*	101,58±2,75*
21	14,60±0,14	93,00±1,28	32,35±1,08*	114,60±2,75*
28	7,06±0,04	125,15±2,79	17,89±0,22*	127,40±1,83
35	6,89±0,05	52,58±1,92	13,28±0,16*	82,35±1,92*
42	5,32±0,05	43,05±1,04	9,92±0,11*	69,75±1,13*

Примітка: * — $P < 0,05$ — дані вірогідні між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку

Вікова динаміка активності Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів має параболічний характер з максимальним значенням на 28-у добу вирощування (табл. 1). При цьому встановлено зниження активності Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів від 14-ї до 42-ї діб вирощування в 1,7 раза ($P < 0,05$), що є характерним для всіх досліджуваних АТФаз БМ абсорбційних клітин. Одержані дані вказують на поступове вікове зниження енергетичного статусу абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів і зниження інтенсивності транспортних процесів через БМ цих клітин.

За дії лікопену встановлено підвищення ферментативної активності Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів у 1,4 раза ($P < 0,05$) у порівнянні з контролем. Динаміка цього показника у птиці дослідної групи має аналогічний контролю характер і тенденцію до зниження від 14-ї до 42-ї діб у 1,5 раза ($P < 0,05$). Слід зазначити, що у 28-добових курчат-бройлерів контрольної і дослідної груп відсутня вірогідна різниця щодо ферментативної активності Mg^{2+} -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів. В інші вікові періоди встановлено вище значення цього показника в БМ абсорбційних ентероцитів у дослідної птиці в 1,2–1,6 раза ($P < 0,05$). Тобто, застосування лікопену призводить до більш вираженого підвищення ферментативної активності Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів до 28 доби їх вирощування і менш виражене зниження цього показника до 42-ї доби вирощування птиці.

Зважаючи на тісний зв'язок між фізіологічними функціями Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази у відповідних ділянках плазмолем ентероцитів, вважаємо доцільним оцінювати функціональну здатність АМ і БМ абсорбційних ентероцитів за показниками сумарної активності цих ферментів.

Слід зазначити, що Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза і Mg^{2+} -АТФаза АМ абсорбційних ентероцитів відіграють важливу роль у процесі піноцитозу шляхом формування ендосом за участю білків цитоскелету і підтримання протонного градієнту на АМ [6, 8, 20]. Нашими дослідженнями встановлено, що сумарна ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази в АМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів від 14-ї до 42-ї діб вирощування знижується у 2,5 раза ($P < 0,05$) (рис. 3 А). Період найбільш вираженого зниження цього показника відмічений з 21-ї до 28-ї діб життя птиці (в 1,4 раза, $P < 0,05$). Отримані результати, на нашу думку, вказують на підвищення селективності транспортних процесів через АМ абсорбційних ентероцитів після 28-ї доби вирощування курчат-бройлерів.

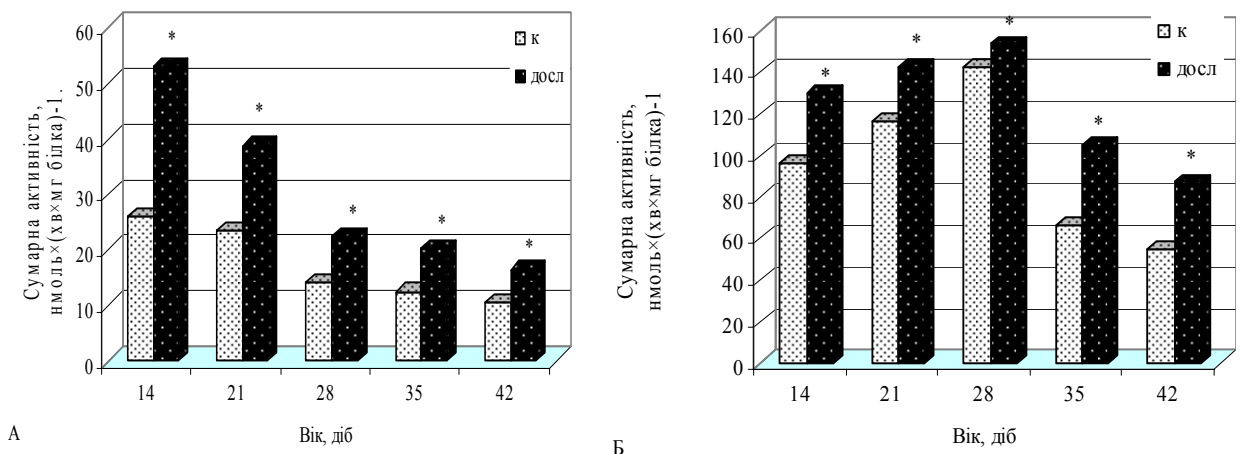


Рис. 3. Сумарна ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази АМ (А) і БМ (Б) абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів впродовж їх вирощування за дії лікопену

Примітка: * — $P < 0,05$ — дані вірогідні між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку

За дії лікопену встановлено підвищення у порівнянні з контролем сумарної ферментативної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази АМ абсорбційних етероцитів 14-добових курчат-бройлерів у 2 рази ($P < 0,05$), що, ймовірно, призводить до інтенсифікації піноцитозу. Цей шлях може бути найбільш швидким для збільшення потоку поживних речовин з порожнини порожньої кишки у внутрішнє середовище організму птахів. Загалом, сумарна ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази АМ абсорбційних етероцитів також характеризується зниженням у 3,3 рази ($P < 0,05$) від 14-ї до 42-ї діб вирощування курчат-бройлерів. Встановлено, що період найбільш вираженого зниження цього показника (в 1,4 рази ($P < 0,05$)), є аналогічним і пропорційним контролю — з 21-ї до 28-ї діб. Незважаючи на встановлену тенденцію, сумарна ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази в АМ етероцитів порожньої кишки за дії лікопену впродовж періоду вирощування курей-бройлерів є вищою за контроль в 1,6–2,0 рази ($P < 0,05$). Це, на нашу думку, передбачає вищу інтенсивність піноцитозного шляху транспорту речовин через АМ абсорбційних етероцитів курчат-бройлерів впродовж всього періоду їх вирощування за дії лікопену.

Сумарна ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази БМ абсорбційних етероцитів може характеризувати інтенсивність екструзії двовалентних катіонів з цитоплазми цих клітин у кровеносне русло, що є швидкість-лімітуючим фактором їх надходження до внутрішнього середовища організму.

Вікова динаміка сумарної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази БМ абсорбційних етероцитів курчат-бройлерів характеризується зниженням від 14-ї до 42-ї діб вирощування в 1,8 рази ($P < 0,05$) (рис. 3 Б). При цьому відмічається період зростання цього показника з 14-ї по 28-ї діб (у 1,5 рази, $P < 0,05$) і період його зниження з 28-ї до 42-ї діб (у 2,6 рази, $P < 0,05$). Встановлена динаміка є ще одним підтвердженням зниження інтенсивності транспортних процесів через слизову оболонку порожньої кишки курчат-бройлерів після 28-ї доби їх вирощування.

За дії лікопену встановлено підвищення у порівнянні з контролем сумарної ферментативної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази БМ абсорбційних етероцитів 14-добових курчат-бройлерів у 1,35 рази ($P < 0,05$). Вікова динаміка цього показника, як і в контролі, характеризується зниженням у 1,5 рази ($P < 0,05$). При цьому також встановлено період підвищення показника з 14-ї до 28-ї діб вирощування в 1,2 рази ($P < 0,05$) та період зниження — з 28-ї до 42-ї діб вирощування в 1,8 рази ($P < 0,05$). Сумарна ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази в БМ абсорбційних етероцитів курчат-бройлерів впродовж всього періоду їх вирощування за дії лікопену є вищою за контроль в 1,1–1,6 рази ($P < 0,05$).

Слід зазначити, що вікова динаміка показника сумарної ферментативної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази БМ абсорбційних етероцитів як контрольних, так і дослідних курчат-бройлерів подібна до динаміки ферментативної активності Na^+ , K^+ -АТФази (див. рис. 1 та 3 Б). Це наводить на думку про існування єдиного регуляторного механізму експресії іонних pomp БМ абсорбційних етероцитів курей.

Висновки

Особливістю функціонування транспортних АТФаз базолатеральної мембрани абсорбційних етероцитів курчат-бройлерів є значно вища ферментативна активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази і Mg^{2+} -АТФази у порівнянні з ферментативною активністю Na^+ , K^+ -АТФази, що передбачає високу скорочувальну здатність білків цитоскелету і значну інтенсивність піноцитозу.

Використання лікопену курчатам-бройлерам призводить до підвищення ферментативної активності досліджуваних АТФаз плазмолем абсорбційних етероцитів впродовж всього періоду їх вирощування, що вказує на вищий енергетичний статус цих клітин та інтенсивні процеси трансепітеліального переносу поживних речовин.

Перспективи подальших досліджень. Отримані експериментальні дані є підґрунтям для вивчення властивостей інших мембрано-зв'язаних ферментів, а також білкового та

поліпептидного складу плазмолемі абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів за впливу лікопену. Це надасть можливість надалі вивчати механізм його дії і використовувати з практичною метою.

A. Bugay, M. Tsvilichovsky

ENZYMATIC ACTIVITIES OF TRANSPORT ATP-PHASES OF BROILER CHICKEN JEJUNAL ABSORPTIVE ENTEROCYTES PLASMA MEMBRANE UNDER ACTION OF LYCOPENE

S u m m a r y

Researches of lycopene influence on ions pumps — Na^+, K^+ -ATPase, $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase and Mg^{2+} -ATPase of broiler chicken jejunal absorptive cells plasma membrane during ontogenesis were carried out. These data show that age-depended enzymes activity decreased. This is evidence of functional status of absorptive decrease such as electrolyte absorption, cytoskeleton elements motility etc. The lycopene supplement provides the ions pumps activity increasing on background casual ontogeny dynamics of activity. Obtained data point on the intensification of membrane digestion processes of broiler chicken that influences on its' grows and development.

A. A. Бугай, Н. И. Цвилховский

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРАНСПОРТНЫХ АТФаз ПЛАЗМАЛЕММЫ АБСОРБЦИОННЫХ ЭНТЕРОЦИТОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЛИКОПЕНА

А н н о т а ц и я

Проведены исследования влияния ликопена на показатели активности ионных помп — Na^+, K^+ -АТФазы, $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазы и Mg^{2+} -АТФазы — плазмалеммы абсорбционных энтероцитов цыплят бройлеров в онтогенезе. Полученные данные характеризуют возрастное уменьшение активности функционального состояния абсорбционных энтероцитов цыплят-бройлеров, а именно уменьшение интенсивности всасывания электролитов, подвижности цитоскелета. Применение ликопена приводит к повышению активности исследуемых АТФаз при сохранении общей онтогенетической динамики этих показателей. Полученные данные указывают на интенсификацию процессов мембранного пищеварения у цыплят-бройлеров под воздействием ликопена, что влияет на их рост и развитие.

1. *Бугай А. О.* Ліпідний склад печінки курчат-бройлерів за дії лікопену / А. О. Бугай // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : Збірник наукових праць ХДЗВА. — 2009. — Вип. 19 (44), Ч. 2, Т. 2. — С. 105–111.

2. *Бугай А. О.* Отримання апікальних та базолатеральних мембран абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів для вивчення транспортних властивостей плазмолемі / А. О. Бугай // Науковий вісник ЛНАВМтБТ ім. С. З. Гжицького. — 2009. — Т. 12, № 5 (40), Ч. 2. — С. 27–33.

3. *Blaustein M.* Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca^{2+} stores and cell responsiveness / M. Blaustein // Am. J. Physiol. — 1993. — V. 264. — P. 1367–1387.

4. *Collins K.* Reciprocal regulation of vertebrate myosin I and II by tropomyosine / K. Collins, J. Sellar, P. Matsudaira // J. Cell. Biol. — 1991. — V. 115 (3). — P. 30.

5. *Dunbar L.* Ion pumps in polarized cells: Sorting and Regulation of the Na^+, K^+ - and H^+, K^+ -ATPases / L. Dunbar, M. Caplan // J. Biol. Chem. — 2001. — V. 276 (32). — P. 29617–29620.

6. *Усатюк П. В.* Біохімічна характеристика плазматичної мембрани та особливості регуляції епітелію тонкого кишечника великої рогатої худоби в онтогенезі та при порушенні функції : автореф. дис. ... док. біол. наук / П. В. Усатюк. — Київ, 1994 — 43 с.

7. Бугай А. О. Отримання ізольованих абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів для вивчення транспортних властивостей плазмолемми / А. О. Бугай, М. І. Цвіліховський // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : Збірник наукових праць ХДЗВА. — 2009. — Вип. 20, Ч. 2, Т. 2. — С. 57–67.

8. Цвіліховський М. І. Білки плазматичної мембрани епітелію тонкого кишечника великої рогатої худоби : автореф. дис. ... док. біол. наук / М. І. Цвіліховський. — Київ, 1998 — 38 с.

9. Barfull A. Ontogenetic expression and regulation of Na⁺-D-glucose cotransporter in jejunum of domestic chicken / A. Barfull, C. Garriga, M. Mitjans // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. — 2002. — V. 282 (3). — P. 559–564.

10. Parkinson D. Localization and the action of cholera toxin on adenylcyclase in mucosal epithelium cell of rabbit intestine / D. Parkinson, H. Ebel, D. Dibona et al. // J. Clin. Invest. — 1972. — V. 51 (9). — P. 2292–2298.

11. Stevens B. Vertebrate intestine apical membrane mechanisms of organic nutrient transport / B. Stevens // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 1992. — V. 263. — P. 458–463.

12. Schwartz S. Estrogen modulates ileal basolateral membrane lipid dynamics and Na,K-ATPase activity / S. Schwartz, H. Bostwick, M. Medow // Am. J. Physiol. — 1988. — V. 254, (5). — P. 687–694.

13. Bastiaanse L. The effect of membrane cholesterol content on ion transport processes in plasma membranes / L. Bastiaanse, K. Höld, A. Van der Laarse // Cardiovasc. Res. — 1997. — V. 33 (2). — P. 272–283.

14. Dhalla N. Cell membrane Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase / N. Dhalla, D. Zhao // Progr. Biophys. And Mol. Biol. — 1988. — V. 52 (1). — P. 1–37.

15. Madsen K. Basolateral membrane lipid dynamics alter Na-K ATPase activity in rabbit small intestine / K. Madsen, J. Meddings, R. Fedorak // Can. J. Pharmacol. — 1992. — V. 70. — P. 1483–1490.

16. Blanco G. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function / G. Blanco, R. Mercer // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. — 1998. — V. 275. — P. 633–650.

17. Schwartz S. Estrogen modulates ileal basolateral membrane lipid dynamics and Na,K-ATPase activity / S. Schwartz, H. Bostwick, M. Medow // Am. J. Physiol. — 1988. — V. 254, (5). — P. 687–694.

18. Fambrough D. Multiple forms of Na⁺,K⁺-ATPase in the chicken. Selective detection of the major nerve, skeletal muscle, and kidney form by a monoclonal antibody / D. Fambrough, E. Bayne // J. Biol. Chem. — 1983. — V. 258. — P. 3926–3935.

19. Gal-Garber O. Nutrient transport in the small intestine: Na⁺,K⁺-ATPase expression and activity in the small intestine of the chicken as influenced by dietary sodium / O. Gal-Garber, S. Majeesh, D. Sklan et al. // Poultry Science. — 2003. — V. 82. — P. 1127–1133.

20. Deves R. Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure, and function / R. Deves, A. Boyd // Physiol. Rev. — 1998. — V. 78 (2). — P. 487–545.

Рецензент: доктор сільськогосподарських наук, член-кореспондент НААН України
І. Б. Ратич.