

ІНТЕНСИВНІСТЬ ДИХАННЯ У МІТОХОНДРІЯХ СЛИЗОВОЇ ШЛУНКА І КИШЕЧНИКУ В НОРМІ ТА ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ У СВИНЕЙ

В. В. Каплінський, Д. Д. Остапів, О. С. Грабовська, В. І. Кишко, Р. Г. Сачко, Г. Г. Денис

Інститут біології тварин УААН, Львів

У статті наведені результати досліджень кисеньзалежних процесів in vitro у мітохондріях слизової оболонки шлунка і тонкого відділу кишечника у свиней в залежності від застосування різних екзогенних субстратів.

Необхідність розробки критеріїв оцінки ефективності дії та впливу ветеринарних препаратів і кормових добавок на організм тварин, спонукала до вивчення найбільш об'єктивних показників оцінки — процесів енергозабезпечення тканин організму.

Доведено, що найбільш чутливими до змін фізіологічного стану організму є активність біологічних процесів окиснення, яке супроводжується зміною кількості та морфології мітохондрій і, відповідно, ресинтез у АТФ [1–4].

Дослідженнями на лабораторних тваринах [5] нами встановлено, що процеси дихання є динамічними величинами і змінюються в залежності від використовуваних екзогенних субстратів (НАД⁺·Н, α-кетоглутарату, глутамату та сукцинату), що свідчить про можливість їх використання для корекції енергозабезпечуючих процесів у клітинах.

При інтенсивній відгодівлі свиней у 25–30 % поголів'я спостерігаються гострі серозно-катаральні запальні процеси у шлунку та кишечнику, в тому числі у 3–7 % — виразкова хвороба шлунка та 12-палої кишки [6–7].

Тому метою нашої роботи було встановити вплив екзогенних субстратів на процеси дихання у мітохондріях слизової оболонки шлунка і кишечнику в нормі та при запальних процесах у свиней при інтенсивній відгодівлі.

Матеріали і методи. Дослід провели на 24 тваринах-аналогах 8-місячного віку, масою 100–120 кг, які належали ТзОВ «Дануша» Калуського району с. Копанки і ТзОВ «Лелик» Жовківського району. Тварин утримувала у стандартних приміщеннях з відгодівлі свиней. Раціон годівлі свиней був збалансований за основними поживними речовинами з додаванням преміксів фірми «Провімі».

Після забою тварин для досліджень брали зразки тканин тонкого відділу кишечника (12-пала кишка) та фундальної частини шлунка. Оцінювали фізіологічний стан слизових оболонок та запальні процеси в них візуально, безпосередньо після забою тварин, а потім підтверджували гістологічними дослідженнями [8].

Слизові оболонки шлунка та кишечнику відпрепарували, промивали фізіологічним розчином за температури 0–2 °С, подрібнювали та гомогенізували з дев'ятикратним об'ємом середовища виділення, яке містило 250 мМ розчину сахарози та 10 мМ буферу тріс-НСІ (рН 7,4). Центрифугували при 3 тис. об/хв. Надосадову рідину перенесли і повторно центрифугували при 12 тис. об/хв. Отриманий осад мітохондрій ресуспензували у 0,5 мл інкубаційного середовища.

Швидкість дихання визначали полярографічним методом за Чансом, Вільямсом [9]. Інкубаційне середовище містило 150 мМ сахарози, 5 мМ тріс, 50 мМ КСІ, 5 мМ MgCl₂, 5 мМ КН₂РO₄ (рН 7,4). У комірку полярографа вносили 0,1 мл суспензії мітохондрій та 0,9 мл інкубаційного середовища. За допомогою мікрошприца в інкубаційну суміш додавали субстрати: сукцинат та глутамат до кінцевої концентрації 5 мМ та АДФ — до 200 мкМ. Вміст загального білка мітохондрій визначали за методом Лоурі [10]. Статистичний аналіз отриманих результатів досліджень проводили за І. А. Ойвіним [11].

Результати та обговорення. Встановлено, що інтенсивність споживання кисню мітохондріями слизової оболонки шлунка свиней в нормі становила 6,72±1,09 нг-атом О на

1 мг білка/хв, а при патології була нижчою на 23,9 % (табл. 1). Мітохондрії слизової оболонки кишечника свиней при запальних процесах характеризувались нижчою дихальною активністю на 0,38 нг-атом О на 1 мг білка/хв ($P > 0,05$) у порівнянні з інтенсивністю споживання кисню органеллами у нормі.

Таблиця 1

Дихальна активність мітохондрій слизової шлунка і кишечника свиней у нормі та при запальних процесах, нг-атом О на 1 мг білка/хв ($M \pm m$, $n=15$)

Субстрат	Шлунок		Кишечник	
	норма	патологія	норма	патологія
Ендогенний	6,7 \pm 1,09	5,4 \pm 1,33	5,2 \pm 1,61	4,8 \pm 0,63
АДФ	6,5 \pm 0,64	8,3 \pm 1,56	6,4 \pm 0,85	7,2 \pm 0,87*

Додавання АДФ до мітохондрій слизової оболонки шлунка при запальних процесах стимулювало на 34,7 % дихальну активність органел. Аналогічно, внесення АДФ до мітохондрій слизових оболонок кишечника з запальним процесом активізувало споживання кисню на 2,4 нг-атом О на 1 мг білка/хв ($P < 0,05$). Встановлена особливість споживання кисню мітохондріями при запальних процесах слизових оболонок свідчить про збережену функціональну їх активність та насичення органел субстратами.

При внесенні сукцинату натрію стимулюється дихальна активність мітохондрій слизової шлунка при патології, а мітохондрій слизової кишечника — в нормі; при додаванні глутамату натрію — знижується в мітохондріях слизових оболонок шлунка і кишечника як в нормі, так і при запальних процесах (табл. 2).

Таблиця 2

Інтенсивність споживання кисню мітохондріями слизової шлунка і кишечника свиней за дії різних субстратів, нг-атом О на 1 мг білка / хв ($M \pm m$; $n=15$)

Субстрат	Шлунок		Кишечник	
	норма	патологія	норма	патологія
Ендогенний	5,4 \pm 1,01	2,7 \pm 0,92	4,2 \pm 1,81	4,7 \pm 1,52
Сукцинат натрію	4,5 \pm 1,24	3,5 \pm 1,03	6,4 \pm 2,34	3,7 \pm 1,04
Глутамат натрію	0,9 \pm 0,34	1,7 \pm 0,42	2,6 \pm 1,01	3,5 \pm 1,41
АДФ	3,6 \pm 0,92	3,4 \pm 0,84	4,0 \pm 1,91	3,1 \pm 1,03

Додавання АДФ до мітохондрій, на фоні дії субстратів, виявило різну їх здатність до фосфорилування залежно від фізіологічного стану слизових. Зокрема, у нормі, порівняно з патологією, за дії АДФ швидкість споживання кисню вища на 5,9 % у слизовій шлунку та на 32,2 % — у слизовій кишечника.

ВИСНОВКИ

Мітохондрії слизових оболонок шлунка та кишечника свиней при запальних процесах характеризуються зниженою інтенсивністю кисеньзалежних процесів та АТФ-генеруючою здатністю.

MITOCHONDRIAL RESPIRATION IN STOMACH AND BOWELS MUCOUS MEMBRANE OF PIGS AT INFLAMMATORY PROCESSES

V. V. Kaplinskyy, D. D. Ostapiv, O. S. Grabovska, V. I. Kyshko, R. G. Sachko, G. G. Denys

SUMMARY

The Polarographic Method allows to research oxygen-dependent processes in the organism tissues, identify metabolism processes and determine the speed of mitochondrial respiration. We used different substrata: succinate, glutamate. Stomach and bowels mucous membrane mitochondria at inflammatory processes are characterized by decrease of oxygen-dependent processes intensity and adenosine triphosphoric acid-generating ability.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дбаг Мрван, Долиба Н. М., Кондрашова М. Н., Шостаковская И. В. Действие ацетилхолина на окисление субстратов в митохондриях сердца // Укр. биохим. журн. — 1991. — Т. — 63, № 4. — С. 68–74.
2. Bindoli A. Lipid peroxidation in mitochondria // Free Radical Biology & Medicine. — 1988. — Vol. 5. — P. 247–261.
3. Borutaite V., Brown G. Rapid reduction of nitric oxide by mitochondria, and reversible inhibition of mitochondrial respiration by nitric oxide // Biochem. J. — 1996. — Vol. 315. — P. 295–299
4. Brown G. Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and cell functions by inhibiting cytochrome oxidase // FEBS Lett. — 1995. — Vol. 369. — P. 136–139.
5. Кисень залежні процеси в гомогенатах печінки лабораторних тварин при застосуванні різних субстратів / Каплінський В. В., Грабовська О. С., Сачко Р. Г., Ясницький Р. С. // Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин УААН і ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. — Львів, 2007. — Вип. 8. — № 1, 2. — С. 244–247.
6. Антоненко П. Фітопрофілактика шлунково-кишкових захворювань у поросят // Тваринництво України. — 2007. — № 9. — С. 36–39.
7. Власенко М., Лясога В. Щодо запобігати захворюванням // Тваринництво України. — 2007. — № 4. — С. 24–26.
8. Гистология // Под ред. В. Г. Елисеєва, Ю. И. Афанасьєва, Н. А. Юриной. — 3-е изд. — М.: Медицина, 1983. — 592 с.
9. Chance B., Willsams G. R. The respiratory chain and oxidative phosphorylation. — Adv. Enzymol. — 1956. — Vol. 17. — P. 65–134.
10. Lowery O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L., Randall R. I. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — № 1. — P. 265–275.
11. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1960. — № 4. — С. 70–78.