

УДК 636.52/612:015.31:015.32

Бугай А.О., к. вет. н., докторант\* (andbugay@ua.fm) ©

Національний університет біоресурсів та природокористування України, м. Київ

### ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗИ ТА АКТИВНІСТЬ ЙОННИХ ПОМП БАЗОЛАТЕРАЛЬНИХ МЕМБРАН АБСОРБЦІЙНИХ ЕНТЕРОЦИТІВ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ДІЇ ЛІКОПЕНУ

*Досліджено інтенсивність транспорту глюкози через базолатеральні мембрани абсорбційних клітин та активність йонних pomp, асоційованих з цим макромоном абсорбційних клітин курчат-бройлерів. Встановлено зростання активності транспортних АТФаз та поглинання глюкози везикульованими препаратами базолатеральних мембран ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену.*

**Ключові слова:** курчата-бройлери, абсорбційні ентероцити, плазмолема, транспортні властивості.

**Вступ.** Транспорт низькомолекулярних речовин у внутрішнє середовище організму є одним з найважливіших етапів травлення в порожній кишці. Лімітуючим фактором у цих процесах є функціональна здатність базолатеральних мембран (БМ) абсорбційних ентероцитів [10, 11], оскільки щільність розташування та активність ензимів і транспортерів цього макромолекулу плазмолеми зумовлюють величину потоку нутрієнтів.

У той же час, проведені нами раніше дослідження показали підвищення активності глікозидаз апікальної мембрани (АМ) [1, 7] та інтенсивності  $\text{Na}^+$ -залежного транспорту глюкози через бішар АМ [6] ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену, що потребує вивчення фармакодинаміки цієї сполуки на рівні ензимів та транспортерів БМ абсорбційних клітин.

**Мета роботи.** Дослідити активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ - АТФази,  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ - АТФази та поглинання глюкози везикульованими препаратами БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за впливу лікопену.

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження проводились на кафедрі терапії і клінічної діагностики Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Об'єктом дослідження були курчата-бройлери кросу "Конкурент-3" 14–42-добового віку, що утримувались у клітках з 1-добового віку на збалансованому за поживними речовинами раціоні, який змінювався згідно технологічного графіку. Курчатам дослідної групи, починаючи з 5-добового віку, щодоби перорально вводили розчин лікопену в соняшниковій олії (від 0,1 до 0,5 мл) у встановленій оптимальній дозі. Курчатам контрольної групи аналогічним шляхом вводили соняшникову олію.

Для досліджень проводили забій курчат у віці 14, 21, 28, 35 та 42 діб. Евтаназію курчат проводили шляхом декапітації, вранці, без попереднього

---

\* Науковий консультант – д.б.н., професор, академік НААН України М.І. Цвіліховський

© Бугай А.О., 2011

голодування. Отримання абсорбційних ентероцитів порожньої кишки проводили хімічним (ЕГТА/цитрат) методом, БМ -  $Mg^{2+}$ -преципітацією після попереднього виділення АМ [3]. Мембранні фракції ресуспендували в розчині такого складу (мМ): 300 манніт, 20 НЕРЕС-трис, 0,1  $MgSO_4$ , pH = 7,4.

В мембранних препаратах визначали вміст загального білку 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 її полягає у вимірюванні в забуференому середовищі вмісту вивільненого неорганічного фосфату при гідролізі АТФ за методом Ратбуна-Бетлах, що дозволяє уникнути несправжнього завищеного результату завдяки попередженню кислотного гідролізу лабільних фосфатних естерів.

Поглинання глюкози везикульованими препаратами БМ абсорбційних ентероцитів досліджували методом швидкої фільтрації [4, 9] в авторській модифікації. Її суть полягає в глюкозооксидазній детекції вмісту глюкози завдяки багаторазовому збільшенню концентрації мембранних препаратів та реагентів дослідних середовищ.

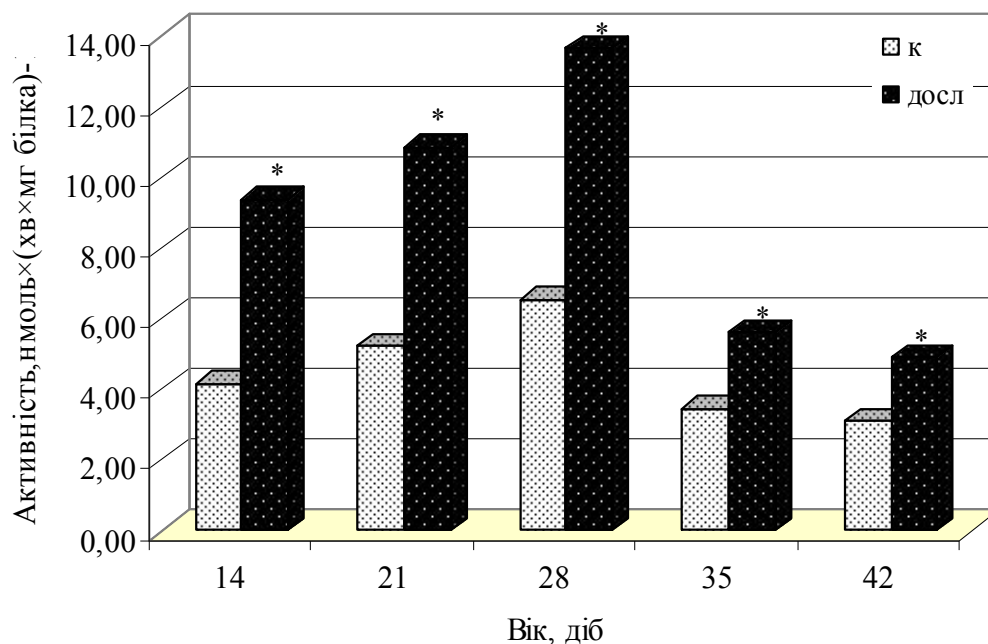
Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням пакетів програм Excel-97 і Statistica 6.0.

**Результати досліджень.** Проведені нами дослідження передбачають інтенсифікацію транспортних процесів через плазмолему абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів і підвищення їх енергетичного статусу за дії лікопену.

Відомо, що основна функція  $Na^+, K^+$ -АТФази полягає у відкачуванні йонів  $Na^+$  з цитозолу ентероцитів, які поступають туди при функціонуванні ко-транспортних переносників низькомолекулярних сполук (глюкоза, амінокислоти, тощо), через БМ у міжклітинну рідину. 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 порожньої кишки курчат-бройлерів характеризується зниженням від 14-ї до 42-ї 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 в 1,5 раза, ( $P < 0,05$ ) і період зниження цього показника – з 28-ї до 42-ї діб в 2,1 рази, ( $P < 0,05$ ). Це може бути основною причиною зниження функціонального стану організму курчат-бройлерів після 28 діб їх вирощування, що було встановлено в наших попередніх дослідженнях [1, 3, 7].

За дії лікопену встановлено підвищення порівняно з контролем 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 в 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 в 1,7 раза, ( $P < 0,05$ ) і період її зниження з 28-ї до 42-ї діб вирощування в 2,8 рази, ( $P < 0,05$ ).



**Рис. 1. Активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -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.

Слід зазначити, що активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів дослідної групи перевищувала цей показник порівняно з контролем з 14-ї до 28-ї днів вирощування – в середньому в 2,1 раза ( $P < 0,05$ ), а на 35-у і 42-у доби вирощування – в середньому в 1,6 раза ( $P < 0,05$ ). Отримані дані вказують на певну відмінність у дії лікопену на експресію  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів або опосередкований його вплив через зміну ліпідного складу мембранного бішару [5, 8]. Також ми не виключаємо наявність в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів ряду ізоферментів  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази [5], які відповідають потребам регуляції водно-електролітного балансу ентероцитів.

Інша йонна помпа -  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФаза виконує функції підтримання сталої внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  шляхом його екструзії з ентероциту [8, 10, 11]. Динаміка активності  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів характеризується зниженням від 14-ї до 42-ї днів вирощування птиці у 2 рази ( $P < 0,05$ ) (табл. 1).

При цьому не встановлено вірогідної різниці між показниками активності  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів у віці 14-и і 21-ї днів. Загалом, для  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази нами встановлена та ж вікова тенденція, яка властива  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазі БМ абсорбційних ентероцитів, що вказує на зниження енергозабезпечення цих клітин і зменшення інтенсивності виведення цитозольного кальцію. Зважаючи на важливу роль йонів  $\text{Ca}^{2+}$  в процесах апоптозу і некрозу клітин, ми 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 в курей із збільшенням їх віку.

Табл. 1.

**Активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -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
14	24,83±1,22	28,60±1,03*
21	23,65±1,04	28,05±0,83*
28	17,75±0,46	26,45±0,40*
35	14,25±0,34	22,55±0,43*
42	12,00±0,16	17,33±0,30*

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

За дії лікопену встановлено підвищення активності  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази в БМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів у 1,15 раза ( $P<0,05$ ) порівняно 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 (в 1,5 раза,  $P<0,05$ ) – з 28-ї до 42-ї діб. При цьому активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -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 раза ( $P<0,05$ ) і в 1,19 раза ( $P<0,05$ ), відповідно, а на 28-, 35- та 42-у доби – в 1,5 раза ( $P<0,05$ ), 1,6 раза ( $P<0,05$ ) і 1,4 раза ( $P<0,05$ ), відповідно. Не виключено, що лікопен може збільшувати експресію кальмодуліну, який є фізіологічним активатором  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази БМ ентероцитів [9, 11]. 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 кальцієм.

Основним шляхом переносу глюкози та інших моносахаридів через БМ абсорбційного ентероциту в міжклітинний простір є полегшена дифузія, яка опосередкована транспортером GLUT-2 [4, 6, 10]. Цей транспортер транслює моносахариди з високою інтенсивністю та низькою афінністю і вважається головним регуляторним елементом всього процесу травлення вуглеводів [10, 11].

Онтогенетична динаміка поглинання глюкози БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів, аналогічно цьому показнику для АМ, характеризується зменшенням від 14-ї до 42-ї діб вирощування в 1,4 раза ( $P<0,05$ ) (табл. 2). При цьому, максимальне зниження інтенсивності поглинання глюкози препаратами БМ встановлено в 21- та 28- добових курчат-бройлерів – у 1,19 раза ( $P<0,05$ ) та 1,12 раза ( $P<0,05$ ), відповідно. Таким чином, після 21-ї доби онтогенезу курчат-бройлерів встановлено значне зниження інтенсивності надходження моносахаридів з порожнини кишкового каналу у внутрішнє середовище птиці, на що вказують показники трансмембранного переносу глюкози як через АМ, так і через БМ абсорбційних ентероцитів.

Онтогенетична динаміка константи дифузії глюкози через БМ, аналогічно АМ, характеризується підвищенням від 14-ї до 42-ї діб вирощування курчат-бройлерів у 1,33 раза ( $P < 0,05$ ) (див. табл. 2). Слід зазначити, що ці зміни не були вірогідними в жодний період спостереження. Ми вважаємо, що збільшення пасивного потоку глюкози через мембранний бішар БМ абсорбційних ентероцитів компенсує онтогенетичне зниження інтенсивності полегшеної дифузії. Ймовірно, важливу роль у цьому явищі може відігравати фосфоліпідна композиція БМ абсорбційних ентероцитів.

Застосування лікопену курчатам-бройлерам призводить до підвищення інтенсивності полегшеної дифузії глюкози у везикульовані препарати БМ абсорбційних ентероцитів 14-добової птиці в 1,6 раза ( $P < 0,05$ ) (див. табл. 2). Цей феномен може бути зумовлений зростанням експресії GLUT-2 за впливу лікопену.

Табл. 2.

**Інтенсивність транспорту глюкози ( $\mu\text{M}/\text{mg} \times \text{с}$ ) та константи дифузії ( $\text{нЛ}/\text{mg} \times \text{с}$ ) у везикулярні препарати БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів впродовж їх вирощування за дії лікопену, ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )**

Вік, діб	Транспорт глюкози		$K_d$	
	контрольна група	дослідна група	контрольна група	дослідна група
14	1708,00±49,70	2686,00±38,40*	26,40±2,38	23,10±2,12
21	1376,00±32,70	2521,00±36,40*	28,11±2,70	25,54±2,43
28	1214,00±27,50	2512,00±33,10*	31,74±2,97	27,16±2,69
35	1127,00±26,80	2120,00±29,50*	34,81±3,10	30,22±2,98
42	1097,00±27,60	1978,00±28,30*	35,10±3,12	34,82±3,22

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

Онтогенетична динаміка інтенсивності поглинання глюкози везикульованими препаратами БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів за дії лікопену, аналогічно контролю, характеризується зниженням від 14-ї до 42-ї діб вирощування птиці в 1,26 раза ( $P < 0,05$ ) (див. табл. 2). Слід зазначити, що впродовж всього періоду дослідження інтенсивність поглинання глюкози препаратами БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів за дії лікопену була вищою за контроль у 1,8-2,0 рази ( $P < 0,05$ ).

**Висновки.** Вікова динаміка інтенсивності транспорту йонів (натрію, калію, кальцію та магнію) та глюкози через бішар базолатеральних мембран ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів характеризується зменшенням, що зумовлено зниженням активності відповідних ферментів та транспортерів.

Застосування лікопену призводить до зростання інтенсивності транспортних процесів за участі вказаних катіонів та глюкози, що передбачає вищу функціональну здатність базолатеральних мембран абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів та більш ефективні процеси травлення.

#### Література

1. Бугай, А. Вплив лікопену на активність глікозидаз апікальної мембрани абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів в онтогенезі // А. Бугай // Наукові доповіді НУБіП України, 2011-3 (25) [http://www.nbuu.gov.ua/e-journals/Nd/2011\\_3/11bao.pdf](http://www.nbuu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_3/11bao.pdf).

2. Бугай, А. Вплив лікопену на біохімічні показники крові та ріст курчат-бройлерів / А. Бугай // Науковий вісник ЛНАВМТБТ ім. С.З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, 3 (38), Ч. 2. – С. 14-19.
3. Бугай, А. Фосфоліпідний склад базолатеральних мембран абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів за впливу лікопену / А. Бугай // Ветеринарна біотехнологія. – 2011. – № 18. – С. 18-26.
4. Barfull, A. Ontogenetic expression and regulation of Na<sup>+</sup>-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.
5. 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
6. Bugay, A. Rate of D-glucose Na<sup>+</sup>-depend uptake by brush-border vesicles of chicken jejunal absorptive cells under action of lycopene / A. Bugay, M. Tsvilikhovskii // Український біохімічний журнал. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 53.
7. Bugay, A. Developmental aspects of lycopene action to disaccharidases kinetic parameters of chicken jejunal brush border / A. Bugay, M. Tsvilikhovskii // FASEB Journal. – 2010. – P. 539.13.
8. Gal-Garber, O. Nutrient transport in the small intestine: Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase expression and activity in the small intestine of the chicken as influenced by dietary sodium / O. Gal-Garber, S. Mabjeesh, D. Sklan et al. // Poultry Science. – 2003. – V. 82. – P. 1127–1133.
9. Garriga, C. Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum / C. Garriga, R. Hunter, C. Amat et al. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2006. – V. 290. – P. 195-201.
10. Karasov, W. Adaptive regulation of sugar and amino acid transport by vertebrate intestine / W. Karasov, J. Diamond // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1983. – V. 245. – P. 443-462.
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.

#### Summary

**Bugay A.O.**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv*  
**GLUCOSE TRANSPORT AND ION PUMP ACTIVITY OF BASOLATERAL  
MEMBRANE OF BROILER CHICKEN ABSORPTIVE CELLS UNDER  
ACTION OF LYCOPENE**

*Intensity of glucose transport and ions pumps activity of basolateral membrane of broiler chicken jejunal absorptive enterocytes was researched. Increasing of these processes under action of lycopene was stated.*

**Key words:** *broiler chicken, absorptive enterocytes, plasma membrane, transport features.*

Рецензент – к.б.н., проф. Галяс В.Л.