

**Шепітько К.В.**

ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" (вул. Шевченка, 23, м. Полтава, Україна, 36011)

## **ВУГЛЕВОДНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ КЛУБОВОЇ КИШКИ В НОРМІ І ПІСЛЯ ВВЕДЕННІ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ НА ТЛІ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННІ ОЧЕРЕВИНИ У ЩУРІВ**

**Резюме.** Проведено експериментальне дослідження клубової кишки 140 статевозрілих щурів-самців. Застосовували гістологічні, лектинохімічні методи дослідження. Зондування слизової оболонки клубової кишки комплексом лектинів показало, що галактозоспецифічні лектини виявляли сильний ступінь зв'язування в ентероцитах ворсинок, в той час, як в ентероцитах крипт – слабкий ступінь зв'язування; сіалоспецифічні лектини мали сильний і різкий ступінь зв'язування як у ентероцитах ворсинок, і слабкий ступінь у крипт; фукозоспецифічний лектин проявляв сильний ступінь зв'язування тільки з ентероцитами і келихоподібними клітинами в ворсинці, а манозоспецифічний лектин – тільки з келихоподібними клітинами в крипті. Сильний і різкий ступінь зв'язування визначався при введенні кріоконсервованої плаценти на 7 добу, а при моделюванні гострого асептичного запалення очеревини – на 14 добу. При введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини виявлявся сильний ступінь зв'язування на 7-14 доби.

**Ключові слова:** клубова кишка, лектини, кріоконсервована плацента, запалення.

**Вступ**

З сучасних позицій хронічний ентерит розглядається як процес з переважно дистрофічними, дегенеративними, а згодом і атрофічними змінами слизової оболонки тонкої кишки [Халиф, Лоранская, 2004]. Важливу роль запобіганню цьому процесу відіграє безпосередньо резистивні властивості слизової оболонки, до пошкоджуючи чинників. Резистивність слизової оболонки забезпечується здатністю зберігати цілісність епітеліального покриву і виробленням слизу як захисна реакція на пошкодження [Ноздрачев, Е.Л. Поляков, 2001; Халиф, Лоранская, 2004; Акопян, Ершов, 2005]. Перша властивість слизової оболонки досягається фізіологічною регенерацією, друга – функціонуванням клітин і залоз, що продукують слизовий секрет в системі ворсинка-крипта [Ященко, Смолькова, Луцик, 2002; Geboes, 2001; Tuomola, Ouwehand, Salminen, 2001].

Останнім часом набули актуальності методи корекції запальних процесів за допомогою введення в організм препаратів біологічного походження, а саме кріоконсервованої плаценти, як сильного імуностимулятора, яка містить велику кількість біологічно активні речовини [Грищенко, Гольцев, 2002; Шепітько та ін., 2013].

В основі методу дослідження вуглеводної специфічності є застосування лектинів, що дозволяє деталізувати морфофункціональні зміни в стінці клубової кишки у щурів в умовах експерименту за рахунок зв'язування лектинів з гліукоконьюгатами які знаходяться на поверхні клітин [Ященко, Смолькова, Луцик, 2002; Табачнюк, Олійник, Лаврів, 2010].

**Метою роботи** було встановлення змін вуглеводної специфічності клітинних поверхонь структурних компонентів стінки клубової кишки в нормі, і після введення кріоконсервованої плаценти на тлі гострого запаленні очеревини у щурів.

### **Матеріали та методи**

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" МОЗ України

"Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфофункціональний стан внутрішніх органів" № держреєстрації 0113U006185, автор є співвиконавцем даної роботи.

Об'єктом експериментального дослідження була стінка клубової кишки, котра вилучена від 140 статевозрілих щурів-самців лінії "Вістар". Експеримент був проведений згідно з "Правилами використання лабораторних експериментальних тварин" (2006, додаток 4) і Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин.

Тварини були розділені на чотири групи: I група – інтактні тварини (5), II група – (45) тварин, яким одноразово підшкірно була введена кріоконсервована плацента (медичний імунобіологічний препарат "Платекс-плацентарний", сертифікат про державну реєстрацію № 73408-30020000 від 09 липня 2008 року) III група – (45) тварин, яким внутрішньоочередово одноразово вводили 5мг  $\lambda$ -карагенена (Sigma - США) в 1мл фізіологічного розчину на одну тварину, який викликав гостре асептичне запалення очеревини та IV група – 45 тварин, яким на тлі гострого асептичного запалення очеревини, викликаного внутрішньоочередовим введенням  $\lambda$ -карагенену, одноразово підшкірно була введена кріоконсервована плацента (медичний імунобіологічний препарат "Платекс-плацентарний", сертифікат про державну реєстрацію № 73408-30020000 від 09 липня 2008 року)

Тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталового наркозу. Фрагменти клубової кишки ущільнювали в парафін за загальноприйнятою методикою, та виготовляли з них гістологічні зрізи та проводили лектинохімічні реакції.

За допомогою підібраної панелі лектинів – HPA, PNA, SBA, PFA, LCA, SNA, WGA (табл. 1) нами проведено визначення вуглеводних детермінант клітинних поверхонь стінки клубової кишки на різних термінах експерименту, на яких порушення структури (за даними гістологічного,

електрономікроскопічного і морфометричного досліджень) є найбільш вираженими (1, 7 і 14 доби експерименту) (табл. 1).

Таблиця 1

**Спектр лектинів використаний для вивчення структурних компонентів клубової кишки.**

Лектин	Скорочена назва	Джерело отримання	Вуглеводна специфічність
Лектин виноградного слимака	HPA	Helix pomatia	$\alpha$ GalNAc
Лектин насіння арахісу	PNA	Arachis hypogaea	$\beta$ Gal
Лектин насіння сої	SBA	Glycine max	$\alpha$ GalNAc
Лектин ікри окуня	PFA	Laburnum anagyroideum	$\alpha$ LFuc
Лектин насіння сочевиці	LCA	Lens culinaris	$\alpha$ Man
Лектин бузини чорної	SNA	Sambucus nigra	$\alpha$ NeuNAc
Лектин зародків пшениці	WGA	Triticum vulgare	$\beta$ GlcNAc > $\alpha$ NeuNAc

**Примітка:** GalNAc – Nцетил-галактозамін; Gal – галактоза; Glc – глюкоза; Fuc – фукоза; Man – маноза; NeuNAc – Nцетилнейрамінова (сіалова) кислота. GlcNAc – Nцетил-глюкозамін.

Інтенсивність лектиногістохімічної реакції визначалась від світло- до темно-коричневого кольору. Інтенсивність забарвлення оцінювали напівкількісним методом за наступними критеріями: 0 балів – відсутність реакції, 1 бал – слаба реакція, 2 бали – помірною реакція, 3 бали – сильна реакція, 4 бали – різко реакція.

Використовували мікроскоп BIOREX 3 (серійний номер 5604) з цифровою мікрофотонасадкою фірми DCM 900.

**Результати. Обговорення**

Дослідження ступеню зв'язування (маркування) галактозоспецифічного лектину HPA з рецепторами клітин кишкових ворсинок та крипт

(ентероцити, клітини Панета) клубової кишки показало, що реакція зв'язування в І групі (інтактних) тварин було на рівні 100%, келихоподібних клітинах на рівні 75%, ентероцитів без облямівкою не вступили в реакцію зв'язування (табл. 2).

Таблиця 2

**Ступінь зв'язування галактозоспецифічних лектинів.**

Лектин			Ворсинка		Крипта			
			Ентероцит з облям.	Келихоподібні клітини	Ентероцит без облям.	Келихоподібні клітини	Клітини Панета	
HRA	<b>Інтакт.</b>		<b>4</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
	Плац.	1 д.	2	0	0	2	4	
		7 д.	4	3	0	4	4	
		14 д.	4	3	0	4	4	
	Зап.	1 д.	2	3	0	0	0	
		7 д.	2	4	2	4	4	
		14 д.	2	2	0	0	0	
	Плац. + зап.	1 д.	2	2	0	0	0	
		7 д.	4	2	2	2	2	
		14 д.	4	3	0	3	4	
	PNA	<b>Інтакт.</b>		<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>3</b>
		Плац.	1 д.	3	3	0	3	3
7 д.			3	0	0	0	0	
14 д.			3	0	0	0	0	
Зап.		1 д.	4	3	0	0	0	
		7 д.	2	2	2	3	4	
		14 д.	4	0	0	0	0	
Плац. +		1 д.	3	3	2	0	0	
		7 д.	4	4	1	0	2	

	зап.	14 д.	3	3	1	0	1
SBA	<b>Інтакт.</b>		<b>3</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
	Плац.	1 д.	2	4	0	4	0
		7 д.	3	3	2	3	3
		14 д.	3	3	2	3	3
	Зап.	1 д.	4	4	1	3	0
		7 д.	1	0	0	0	0
		14 д.	1	0	0	0	0
	Плац. + зап.	1 д.	3	4	0	4	0
		7 д.	3	3	2	3	3
		14 д.	3	4	0	4	0

В II групі тварин нами виявлено, що на 1 добу реакція зв'язування цього лектину в ворсинках виявлена тільки з ентероцитами з облямівкою і криптах з келихоподібними клітинами на 50%. На 7 добу встановлена реакція в ентероцитах на рівні 100% і сильна реакція зв'язування з келихоподібними клітинами відповідно 75% в ворсинці та крипті ентероцитів без облямівки не вступили в реакцію зв'язування, а келихоподібні клітини з клітинами Панета виявили різку реакцію зв'язування. На 14 добу нами виявлена закономірність перебігу реакції зв'язування характерна для 7 добі дослідження.

Аналіз ступеня маркування ворсинок і крипт в III групі показав, що на 1 добу ентероцити з облямівкою промаркувались на рівні 50%, а келихоподібні клітини на 75%. Клітини, які розташовані в крипті, не вступили в реакцію зв'язування. На 7 добу клітини, які розташовані в ворсинці, виявили ступінь зв'язування з поверхніями ентероцитів на рівні 50%, келихоподібні клітини промаркувались на 100%. Подальший аналіз клітин, які розташовані в крипті, виявив, що ентероцити без облямівки промаркувались на рівні 50%, а келихоподібні клітини з клітинами Панета на рівні 100%. На 14 добу в ентероцити без облямівки та келихоподібні клітини

в ворсинці забарвилися на 50%. Клітини, які розташовані в крипті не проявили ні якого ступеню забарвлення.

В VI групі тварин на 1 добу нами встановлено, що ступінь зв'язування цього лектину з глікокон'югатами на поверхні ентероцитів з облямівкою і келихоподібних клітин в ворсинці виявлено на рівні 50%. В крипті реакція зв'язування не була виявлена в жодній з клітин цієї ланки. На 7 добу в ворсинці виявлено ступінь зв'язування в ентероцитах – 100% і келихоподібних клітинах – 25%, в крипті всі клітини прореагували на 50%. На 14 добу ступінь зв'язування в ворсинці показав, що експресія в ентероцитах з облямівкою відбулася на рівні 100% і в келихоподібних клітинах вона склала 75%. На цей термін в крипті реакція забарвлення ентероцитів без облямівки склала 0%, келихоподібні клітини на рівні 75% і клітини Панета забарвилися на 100%.

Аналізуючи показники ступеня зв'язування наступного галактозоспецифічного лектину PNA в групі інтактних тварин ми виявили сильне маркування ентероцитів з облямівкою і келихоподібних клітин в ворсинці, слабку реакцію в ентероцити без облямівки і сильну в клітинах Панет в крипті (див. табл. 2).

В II групі тварин нами виявлена сильна реакція ентероцитів з облямівкою і келихоподібних клітин на 1 добу на рівні 75%, які розташовані в ворсинці і такий же ступінь реакції ми виявили в келихоподібних клітинах і клітинах Панета в крипті, ентероцити без облямівки не вступили в реакцію зв'язування. На 7-14 добу дослідження сильну реакцію проявили ентероцити з облямівкою на рівні 75%. Всі інші клітини на два останні терміни дослідження не вступили в реакцію з даним лектином.

В III групі тварин на реакцію зв'язування відреагували два типи клітин, які розташовані в ворсинці, на 1 добу ентероцити з облямівкою промаркувались на рівні 100% і келихоподібні клітини на 75%. Клітини в крипті не проявили ступінь маркування. На 7 добу слабку реакцію виявили ентероцити з облямівкою і келихоподібні клітини в ворсинці, в крипті

проявили реакцію зв'язування ентероцити без облямівки на 50%, келихоподібні клітини на 75%, і клітини Панета на 100%. Сильний ступінь зв'язування на рівні 100% в системі воринка-крипта проявили тільки ентероцити з облямівкою, всі ніші клітини не вступили в реакцію зв'язування з цим лектином.

Аналізуючи VI групі тварин на 1 добу дослідження нами виявлено реакція зв'язування на рівні 75% з ентероцитами та келихоподібними клітинами в ворсинці і на 25% з ентероцитами без облямівки які розташовані в крипті. На 7 добу ентероцити з облямівкою і келихоподібні клітини виявили різку реакцію яка склала 100%., в клітинах крипти реакція була дещо нижчою, так ентероцити без облямівки прореагували з лектином на 25%, келихоподібні клітини не вступили в реакцію, а клітини Панета промаркувались на рівні 50% На 14 добу ми виявили зниження ступеня реакції на 25% від показників на 7 добу в ворсинці, в крипті ентероцити без облямівки і клітини Панета виявили слабку реакцію (див. табл. 2).

Аналіз показників ступеня зв'язування наступного галактозоспецифічного лектину SBA ( $\alpha$ GalNAc) в групі інтактних тварин виявлено сильну реакцію ентероцитів з облямівкою і келихоподібних клітин 75% в ворсинці і різку з боку келихоподібними клітинами яка склала 100%, два інших типа клітин не вступили в реакцію в крипті 0%, і з таким же відсотком (див. табл. 2).

Вивчаючи показники реакції зв'язування в II групі тварин на 1 добу нами виявлена слабка реакція ентероцитів, і різка з келихоподібними клітинами в ворсинках. Келихоподібні клітини в криптах виявили ступінь зв'язування на рівні 100%. На 7-14 добу показники реакції зв'язування май же усіх клітин в системі ворсина-крипта промаркувались на рівні 75%, за виключенням ентероцитів без облямівки ступінь їх маркування було встановлено на рівні 50%.

Вивчаючи ступінь забарвлення в III групі тварин на 1 добу клітини в ворсинках і криптах виявили різку реакцію зв'язування, в крипті реакцію

зв'язування проявили ентероцити без облямівки на 25%, і келихоподібні клітини на рівні 75%. На 7 добу дослідження реакцію зв'язування проявили тільки ентероцити з облямівкою на рівні 25%. На 14 добу дослідження ми виявили закономірну тенденцію характерну для 7 доби дослідження.

При зондуванні слизової оболонки VI групі тварин на 1 добу дослідження виявлено, що забарвлення відбулося на поверхні ентероцитів з облямівкою на 75%, келихоподібних клітин на 100%. В крипті на цей термін забарвилась поверхня келихоподібних клітини на рівні 100%. На 7 добу дослідження всі клітини системи вориска-крипта проявили реакцію забарвлення на рівні 75%, окрім ентероцитів без облямівки ступінь їх забарвлення склав 25%. 14 доба дослідження виявила, що ступінь реакції в ворсинках був аналогічний 1 добі дослідження (див. табл. 2).

При зондуванні слизової оболонки клубової кишки фукозоспецефічним лектином (PFA) в інтактній групі тварин нами виявлені наступні зміни – в ворсинці реакція зв'язування ентероцитів з облямівкою і келихоподібних клітин дорівнювалася 50%. У крипті реакція зв'язування з клітинами не відбулася (табл. 3).

Таблиця 3

**Ступінь зв'язування фукозо і манозоспецефічних лектинів.**

Лектин		Ворсинка		Крипта			
		Ентероцит з облям.	Келихоподібні клітини	Ентероцит без облям.	Келихоподібні клітини	Клітини Панета	
PFA	<b>Інтакт.</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
	Плац.	1 д.	3	3	0	0	0
		7 д.	0	3	0	0	0
		14 д.	0	2	0	0	0
	Зап.	1 д.	2	0	0	0	0
		7 д.	2	4	0	3	2

		14 д.	0	1	0	0	0
	Плац. + зап.	1 д.	0	0	0	0	0
		7 д.	2	0	0	2	0
		14 д.	3	2	0	0	0
LCA	<b>Інтакт.</b>		<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>0</b>
	Плац.	1 д.	4	0	0	3	0
		7 д.	4	3	0	3	0
		14 д.	4	3	0	3	0
	Зап.	1 д.	3	0	0	0	1
		7 д.	3	0	0	0	1
		14 д.	3	0	0	0	1
	Плац. + зап.	1 д.	4	0	0	0	1
		7 д.	4	0	0	0	1
		14 д.	4	0	0	0	1

Вивчаючи показники експресії в II групі тварин, нами виявлено, що на 1 добу реакція зв'язування з фукозоспецефічним лектином PFA з клітинами в ворсинці була виявлена сильна реакція яка склала 75%, в крипті всі клітини не виявили реакцію зв'язування. На 7 добу дослідження проявили реакцію зв'язування тільки келихоподібні клітини рівень забарвилися на 75%, аналогічну картину ми спостерігаємо і на 14 добу дослідження, за виключенням келихоподібних клітин, ступінь маркування знизився на 25%.

Розглядаючи ступінь зв'язування клітин з лектином системи ворсинка-крипта III групи на 1 добу дослідження нами виявлено, що слабку реакцію зв'язування проявили тільки ентероцити з облямівкою, а всі інші клітини в ворсинках та криптах не виявили реакцію зв'язування. На 7 добу нами виявлена слабка реакція забарвлення ентероцитів з облямівкою і різка з келихоподібними клітинами в ворсинках. В крипті реакцію зв'язування виявили келихоподібних клітин на 75% і клітин Панета на 50%. З 14 доби рівень експресії келихоподібних клітин в ворсинах підвищився до 25%, всі

нші клітини в системі воринка-крипта не прореагували з лектином ікри окуня.

Аналіз ступеня реакції зв'язування в VI групі тварин виявив, що на 1 добу цей лектин не зв'язався ні з одним типом клітин системи воринка-крипта. З 7 доби реакція забарвлення виявлена в ентероцитах з облямівкою в ворсинці, і в келихоподібних клітинах в крипті на рівні 50%. На 14 добу в ворсинці 75% ступень забарвлення виявлений на поверхні ентероцитів з облямівкою і 50% на поверхні келихоподібних клітин.

Дослідження ступеня зв'язування маннозоспецефічного лектину (LCA) з рецепторами клітин ворсинок та крипт слизової оболонки клубової кишки встановило, що реакція забарвлення в I групі тварин було неоднаковим. Так, тільки ентероцити в ворсинках забарвилися на рівні 100%, а в крипті келихоподібні клітина на рівні 75%. Всі інші клітини в слизовій оболонці не виявили зв'язування з лектином сочевиці в цій групі (див. табл. 3).

В II групі тварин на 1 добу дослідження нами виявлена різка експресія в ентероцитах з облямівкою на 100%, в крипті ми виявили експресії з келихоподібними клітинами на рівні 75%. На 7-14 добу зберігалась закономірність виявлена на 1 добу дослідження, за виключення келихоподібних клітин ступінь їх маркування зріс на 75%.

Аналіз ступеня маркування в III групі показав, що цей лектин LCA проявив ступінь зв'язування 75% тільки з ентероцитами з облямівкою в ворсинках в на 1-14 добу дослідження, і на ці ж терміни ступінь забарвлення 25% виявлений на поверхні клітин Панета (див. табл. 3).

Аналіз ступеня маркування в VI групі показав, що з 1-14 добу дослідження в ворсинках реакція зв'язування була виявлена тільки з ентероцитами з облямівкою на рівні 100%, і в крипті виявили реакцію зв'язування клітини Панета на рівні 25% (див. табл. 3).

Результати дослідження ступеню зв'язування сіалоспецифічного лектину SNA з рецепторами клітин ворсинок та крипт клубової кишки інтактною групи тварин наведені в (табл. 4).

## Ступінь зв'язування сіалоспецифічних лектинів.

Лектин			Ворсинка		Крипта			
			Ентероцит з облям.	Келихоподібні клітини	Ентероцит без облям.	Келихоподібні клітини	Клітини Панета	
SNA	<b>Інтакт.</b>		<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
	Плац.	1 д.	3	3	1	1	1	
		7 д.	3	3	1	1	1	
		14 д.	2	2	0	0	0	
	Зап.	1 д.	2	0	0	0	0	
		7 д.	0	0	0	0	0	
		14 д.	0	1	0	0	0	
	Плац. + зап.	1 д.	2	0	0	0	0	
		7 д.	2	0	0	0	0	
		14 д.	2	0	0	0	0	
	WGA	<b>Інтакт.</b>		<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>0</b>
		Плац.	1 д.	3	0	0	0	0
7 д.			3	3	3	3	3	
14 д.			4	3	0	3	0	
Зап.		1 д.	0	0	0	0	0	
		7 д.	0	2	0	2	2	
		14 д.	0	2	0	2	2	
Плац. + зап.		1 д.	4	0	0	0	0	
		7 д.	3	4	0	4	0	
		14 д.	4	0	0	3	2	

В II групі тварин нами виявлено, що ступінь зв'язування цього лектину з клітинами в системі ворсинка-крипта з 1 по 7 добу проявив себе на рівні

75% в ворсинці і 25% в крипті, На 14 добу ми виявили характерна закономірність з інтактною групою тварин.

Аналізуючи 1-14 добу III групи тварин виявлено, що реакція зв'язування рецепторів клітин з лектином бузини чорної в системі ворсинка-крипта була відсутня (див. табл. 4).

При аналізі ступіня експресії в системі ворсинка-крипта VI групи тварин встановлено, що реакція зв'язування з 1-14 добу дослідження була виявлена на рівні 50% тільки з поверхні ентероцитів з облямівкою.

Аналізуючи інтенсивність забарвлення клітин слизової оболонки клубової кишки сіалоспецефічним лектином (WGA) в інтактній групі тварин, нами виявлена, що в ворсинці реакція забарвлення ентероцитів з облямівкою була на рівні 100%, в крипті ступінь забарвлення виявили тільки келихоподібні клітини на рівні 75% (див. табл. 4).

В II групі тварин нами встановлено, що ступінь зв'язування цього лектину з поверхнею клітин в ворсинці і крипти проявився на 1 добу тільки з ентероцитами з облямівкою. На 7 добу всі клітини виявили сильний ступінь зв'язування. На 14 добу ми виявили май же аналогічну картину за виключенням ентероцитів без облямівки і клітин Панета 0% в крипті.

На першу добу в III групи тварин нами встановлено, що в системі ворсинка-крипта реакція забарвлення була відсутня. На 7-14 добу келихоподібні клітини в ворсинці і крипті, а також клітини Панета в крипті забарвилися на 50%, окрім ентероцитів з та без облямівки 0%.

Дослідження ступеню зв'язування лектина з поверхні клітин в VI групі тварин, були виявлені наступні зміни: на 1 добу дослідження лектин WGA зв'язувався з глікокаліксом ентероцитів з облямівкою на 100% в ворсинці. Всі інші клітини не виявили ступінь забарвлення 0%. На 7 добу ентероцити з облямівкою забарвилися на 100% в ворсинці, а в крипті забавлення було виявлено на 75% в келихоподібних клітинах і 50% з клітинами Панета. Інтенсивність забарвлення на поверхні ентероцитів без облямівки збільшилась 25% на 14 добу і зменшилась на 100% на поверхні

келихоподібних клітин. В крипті мі виявили тільки один тип клітин які прореагували з данним лектином на 75%, це були келихоподібні клітини.

### **Висновки та перспективи подальших розробок**

1. Зондування слизової оболонки клубової кишки комплексом лектинів показало, що:

- галактозоспецифічні лектини виявляли сильний ступінь зв'язування в ентероцитах ворсинок, в той час, як в ентероцитах крипт – слабкий ступінь зв'язування;

- сіалоспецифічні лектини мали сильний і різкий ступінь зв'язування як у ентероцитах ворсинок, і слабкий ступінь у крипт;

- фукозоспецифічний лектин проявляв сильний ступінь зв'язування тільки з ентероцитами і келихоподібними клітинами в ворсинці, а манозоспецифічний лектин – тільки з келихоподібними клітинами в крипті.

2. Сильний і різкий ступінь зв'язування визначався при введенні кріоконсервованої плаценти на 7 добу, а при моделюванні гострого асептичного запалення очеревини – на 14 добу. При введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини виявлявся сильний ступінь зв'язування на 7-14 доби.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується вивчення динаміки лектинохімічних змін трьох відділів тонкої кишки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини у щурів, для встановлення закономірностей цього процесу.

### **Список літератури**

Акопян В.Б. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии / В.Б. Акопян, Ю.А. Ершов. – М. : МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. – 224 с.

Грищенко В.И. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения / В.И. Грищенко, А.Н. Гольцев // Проблемы криобиологии. – 2002. – № 1. – С. 54-84.

Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / под ред. А.Д. Ноздрачева, Е.Л. Полякова. – СПб.:Издательство "Лань", 2001. –464 с.

Табачнюк Н.В. Лектиногістохімічні дослідження та ембріогенез / Н.В. Табачнюк, І.Ю. Олійник, Л.П. Лаврів // Клін. анат. та операт. хірургія. – 2010. – Т. 9, № 3 (33). – С. 95-100.

Халиф И.Л. Воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона): клиника, диагностика, лечение / И.Л. Халиф, И.Д. Лоранская. – М.: Миклош, 2004. – 88 с.

Кріоконсервована плацента вплив на перебіг експериментального сіададеніту / В.І. Шепітько, Г.А. Єрошенко, Т.М. Юрченко [та ін.]. – Полтава: Копирсервис, 2013. – 122 с.

Ященко А.М. Рецептори фукозоспецифічних лектинів у структурних компонентах окремих органів / А.М. Ященко, О.В. Смолькова, О.Д. Луцик // Таврический медико-биологический вестник. – 2002. – Т. 5, № 3. – С. 174-176.

Geboes K. Pathology of inflammatory bowel disease (IBD): variability with time and treatment / K. Geboes // Colorectal Dis. – 2001. – Vol. 3. – P. 2-12.

Tuomola E.M. Chemical, physical and enzymatic pretreatments of adhesion to human intestinal mucus glycoproteins I / E.M. Tuomola, A.C. Ouwehand, S.J. Salminen // II Int. J. Food Microbiol. – 2001. – Vol. 60, № 1. – P. 75-81.

**Шепітько К.В.**

**УГЛЕВОДНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ В НОРМЕ И ПРИ ВВЕДЕНИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ НА ФОНЕ ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ БРЮШИНЫ У КРЫС**

**Резюме.** Проведено экспериментальное исследование подвздошной кишки 140 половозрелых крысах-самцах. Были применены гистологические и лектинохимические методы исследования. Зондирование слизистой оболочки подвздошной кишки комплексом лектинов установило, что галактозоспецифические лектины проявляли сильную степень связывания в энтероцитах ворсинок, в то время как в энтероцитах крипт – слабую степень связывания; сиалоспецифические лектины проявляли сильную и резкую степень связывания в энтероцитах ворсинок, и слабую степень связывания у крипт; фукозоспецифический лектин проявлял сильную степень связывания только с энтероцитами и бокаловидными клетками в ворсинке, а манозоспецифический лектин – только с бокаловидными клетками в крипте. Сильная и резкая степень связывания определялась при введении криоконсервированной плаценты на 7 день, а при моделировании острого асептического воспаления брюшины на 14 сутки. При введении криоконсервированной плаценты на фоне острого асептического воспаления брюшины проявлялась сильная степень связывания на 7-14 сутки.

**Ключевые слова:** подвздошная кишка, лектины, криоконсервированная плацента, воспаление.

**Shepitko K.V.**

**CARBOHYDRATE SPECIFICITY OF NORMAL RAT ILEUM MUCOSA AND IN ADMINISTRATION OF CRYOPRESERVED PLACENTA ACCOMPANIED BY ACUTE ASEPTIC PERITONEAL INFLAMMATION**

**Summary.** The experimental study has been carried out on the ileum extracted from 140 senior male rats. Histological and lectochemical methods of study have been applied. Intubation of ileum mucosa by complex of lectins has established that: galactose-specific lectins showed a high degree of binding in villi enterocytes, and weak degree of binding in crypt enterocytes; sialo-specific lectins showed high and harsh degree of binding in villi enterocytes and weak degree of binding in crypt; fucose-specific lectin showed strong degree of binding only with enterocytes

and goblet cells in villus, and mannose-specific lectin only with goblet cells in crypt. High and harsh degree of binding was detected on day 7 in administration of cryopreserved placenta, and on day 14 in simulation of acute aseptic peritoneal inflammation. High degree of binding was noted on day 7-14 in administration of cryopreserved placenta accompanied by the acute aseptic peritoneal inflammation.

**Key words:** ileum, lectins, cryopreserved placenta, inflammation.

**Shepitko Kostyantyn Volodymyrovych**– PhD, Associate Professor, Department of Physical Training and Health, Rehabilitation, Sports Medicine, Higher State Educational Establishment of Ukraine “Ukrainian Medical Stomatological Academy” tel.: 096 302 00 20

## **CARBOHYDRATE SPECIFICITY OF NORMAL RAT ILEUM MUCOSA AND IN ADMINISTRATION OF CRYOPRESERVED PLACENTA ACCOMPANIED BY ACUTE ASEPTIC PERITONEAL INFLAMMATION**

**Shepitko K.V.**

**The aim** of the research was to define the changes in carbohydrate specificity of the cell of structural components of normal rat ileum wall and after administration of cryopreserved placenta accompanied by the acute aseptic peritoneal inflammation.

### **Materials and methods**

The object of the experimental study was ileum wall, extracted from 140 Wistar senior male rats. The animals were assigned into four groups. The carbohydrate determinants of ileum wall cell surfaces, where the structure impairment were the most pronounced (1, 7 and 14 day of the experiment) have been defined at different stages of the experiment by means of corresponding panel of lectins, i.e., HPA, PNA, SBA, PFA, LCA, SNA, WGA. The rate of lectinohistochemical response has been measured by the semi-quantitative method according to the stain intensity: 0 points – no response, 1 point – weak response, 2

points – moderate response, 3 points – strong response, 4 points – harsh response. The BIOREX-3 microscope with DCM 900 digital microphotohead has been used.

### **Results. Discussion**

The study of binding (marking) degree of the HPA galactose-specific lectin with receptors of villi and ileum crypts showed that in Group I (intact animals) the binding reaction was within 100% to 75%; no binding reaction with enterocytes without bordering was detected. The 100% reaction in villus and 75% binding reaction in crypt was detected on day 7-14 in Group II. In Group III the analysis of marking degree showed that the level of binding in villi and crypts accounted for 50-100% and 0-100%, respectively. In Group IV harsh marking in villus and weak marking in crypts was detected on day 7-14 of the experiment. While analyzing the parameters of binding degree of the PNA lectin in Group I, a strong marking in villi and weak response in crypt has been detected. In Group II a strong reaction, accounted for 75%, has been detected in villi and crypts on day 1 of the experiment. On day 7-14 of the experiment a strong reaction, accounted for 75%, has been shown by enterocytes with bordering. In Group III two types of cells, located in the villus from 50 to 100%, responded on binding reaction. The analysis of Group IV showed the binding reaction with cells in villus at the level of 75-100% and 0-50% in crypt on day 1-14. In Group I the analysis of binding parameters of SBA ( $\alpha$ GalNAc) lectin showed a strong response (75%) in the villus and 100% harsh response in crypt. The analysis of binding reaction parameters between the groups of animals singled out the Group IV. Intubation of mucosa in Group IV revealed that on day 1-14 of the experiment the staining was done by 75%, and 100% in villi. The surface of goblet cells was done at the level of 50-100% in crypt. In the intact group of animals intubation of ileum mucosa by fucospecific lectin (PFA) revealed a weak response in villi and no response in crypt. In Group II-IV the analysis of parameters of expression showed that on day 1-14 a harsh and strong binding reaction with cells was detected in villi only, except Group II, where a strong and weak response in crypt was noted on day 7. The study of binding degree of mannose-specific lectin (LCA) with receptors of villi cells in all

groups and time periods showed the level of 75-100%. In crypts it was 75% in Group II and 25% in Group III-IV. The findings of binding degree of SNA sialo-specific lectin with receptors of villi cells and crypts of ileum in all groups showed no individual strong and harsh degrees of binding.

The analysis of staining intensity of ileum mucosa cells by sialo-specific lectin (WGA) in intact group of animals showed that in villus the staining reaction of enterocytes with bordering was at the level of 100%; in crypt the staining degree was shown by goblet cells only, accounted for 75%.

In Group II the binding degree of this lectin with cell surface in villus and crypt was detected on day 7 and all cells manifested a strong degree of binding. On day 14 almost similar picture was detected, except enterocytes without bordering and Paneth cells. In Group III the goblet cells in villus and crypt, as well as Paneth cells in crypt, were stained by 50% on day 7-14, except enterocytes with and without bordering (0%).

In Group IV the study of binding degree of lectin with cell surfaces revealed strong and harsh marking of enterocytes with bordering during the all time periods of the experiment. Only one type of cells, i.e., goblet cells, which reacted with the lectin by 75%, was detected.

**Keywords:** ileum, lectins, cryopreserved placenta, inflammation.