

Р.В.Антонюк^{1,2}
О.Д.Луцик¹

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
² КЗ “Дубенська центральна районна лікарня”, Рівненська область

Ключові слова: лектино-ва гістохімія, кишка, хребетні, вуглеводні детермінанти.

Надійшла: 22.11.2015
Прийнята: 18.12.2015

УДК [611.018+616.345-006]+547.96

ЛЕКТИНОВА ГІСТОХІМІЯ ВУГЛЕВОДНИХ ДЕТЕРМІНАНТ КИШКИ ПРЕДСТАВНИКІВ РІЗНИХ КЛАСІВ ХРЕБЕТНИХ

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи “Лектинова гістохімія товстої кишки в нормі та при неоплазії” (номер державної реєстрації 0113U000207).

Реферат. З використанням 9 лектинів, мічених пероксидазою, вивчали вуглеводні детермінанти кишок людини (*Homo sapiens*), білого щура (*Rattus norvegicus f. domesticus*), голуба сизого (*Columba livia*), мідянки звичайної (*Coronella austriaca*), жаби трав'яної (*Rana temporaria*), коропа звичайного (*Cyprinus carpio*), що належать до різних класів хребетних, з метою виявлення закономірностей перебудови вуглеводних рецепторів в контексті еволюційного розвитку. Проведене дослідження свідчить, що спільним для кишечника всіх видів хребетних є велика кількість муцину, який містить кислі термінальні вуглеводи, зокрема, сіалові кислоти. Різноманітність та відмінності у структурі гліканів травного тракту хребетних тварин, правдоподібно, визначається низкою чинників – раціоном, умовами існування, взаємодією з мікрофлорою кишечника.

Morphologia. – 2015. – Т. 9, № 4. – С. 7-20.

© Р.В.Антонюк, О.Д.Луцик, 2015

✉ antonyukvo@gmail.com

Antonyuk R.V., Lutsyk A.D. Lectin histochemistry of intestinal carbohydrate determinants in representatives of different classes of vertebrates.

ABSTRACT. Background. Glycoproteins (including mucin) of vertebrate's intestine play an important role in its protection against chemical and mechanical damage and bacterial attacks. Their diversity was described by many authors, but understanding of their chemical structure remains far from complete. These data can be extended by methods of lectin histochemistry. **Objective.** To investigate the rearrangement of intestinal carbohydrate determinants in the context of vertebrate evolution. **Methods.** Distal and proximal segments of small and large intestines of humans (*Homo sapiens*), laboratory (Wistar) rat (*Rattus norvegicus f. Domesticus*), rock pigeon (*Columba livia*), smooth snake (*Coronella austriaca*), common frog (*Rana temporaria*), common carp (*Cyprinus carpio*) that belong to different classes of vertebrates were taken for the experiment. Nine lectins with different carbohydrate specificities: wheat germ (WGA), potato (STA), elderberry bark (SNA), golden rain bark (LABA), locust bark (RPBA), roe carp (CCRA), Phaseolus vulgaris erythroagglutinin (PHA-E), peanut (PNA) and jack fruit (AIA) – were included into the panel. **Results.** Differences in lectin staining between small and large intestine were more pronounced in higher (human, rat) than in lower (frog, carp) vertebrates. Lectin receptors were more diverse in frog intestine in comparison with carp. Lectin interaction with mucin secretory granules of smooth snake revealed lack of N-acetyl-D-glucosamine residues and abundance of N-acetyl-D-galactosamine determinants. **Conclusion.** Intestines of all studied vertebrate species demonstrate high content of secretory mucins that exposed terminal acidic carbohydrates including sialic acid. The diversity and differences in the structure of glycans of the digestive tract of vertebrates is apparently determined by several factors – diet, environmental and living conditions, intestinal microbiota interactions etc.

Key words: lectin histochemistry, intestine, vertebrates, carbohydrate determinants.

Citation:

Antonyuk RV, Lutsyk AD. [Lectin histochemistry of intestinal carbohydrate determinants in representatives of different classes of vertebrates]. *Morphologia*. 2015;9(4):7-20. Ukrainian.

Вступ

Вуглеводні детермінанти в складі глікокон'югатів на поверхні та всередині клітин виконують дуже важливу сигнальну функцію – пере-

дають інформацію щодо внутрішньо- та міжклітинних процесів: формування міжклітинних зв'язків, біосинтезу та секреції, активності поділу, розпізнавання патогенів, становлячи так зва-

ний «Глікокод клітини». Останній пройшов значну еволюцію у живих організмів, результатом якої є широке різноманіття моно- та олігосахаридів, їхніх похідних та варіацій у послідовності моносахаридних ланок вуглеводних ланцюгів з різною організацією у вищих і нижчих організмів. У результаті сформувався глікокод клітин живих організмів, який навіть в межах одного виду є індивідуальним і неповторним і дуже точно розпізнається специфічними рецепторними молекулами, які трансформують інформацію, записану на вуглеводах, в біологічні ефекти. Глікани вищих тварин також відрізняються між собою, зокрема, у людини і ссавців [1].

Для дослідження структури гліканів використовують лектини – специфічні білки рослинного та тваринного походження, які здатні селективно взаємодіяти з вуглеводними рецепторами клітин, не викликаючи при цьому їх хімічних перетворень [2]. Більшість робіт з дослідження вуглеводних рецепторів кишечника виконана на кишці людини та білого щура [3-5], і значно рідше – на деяких інших видах ссавців [6]. Незначна кількість робіт з використанням лектинової гістохімії присвячена дослідженню травного тракту інших класів хребетних [7, 8].

У кишечнику глікани представлені в значній мірі у вигляді муцинів, які містять значну частку вуглеводів в своєму складі (часто 80% і більше) і виконують специфічну захисну функцію – створення бар'єру для симбіотичної та патогенної мікрофлори [9]. Розрізняють муцини екстрацелюлярні, секрецію яких здійснюють келихоподібні клітини, та трансмембранні. Позаклітинний

муцин формує двошарову гель над поверхнею епітеліальних клітин. Синтез та секреція муцинів регулюється різноманітними чинниками: мікробами, продуктами обміну мікрофлори, токсинами, цитокінами, гормонами та факторами росту [10]. Ці муцини характеризуються значним різноманіттям. Наприклад, виявлені різні глікоформи муцинів в келихоподібних клітинах сусідніх крипт чи навіть в межах однієї крипти [11, 26], і у їхньому складі методом мас-спектрометрії виявлено понад 100 різноманітних олігосахаридів [12].

Мета

У роботі зроблена спроба виявлення закономірностей перерозподілу вуглеводних рецепторів в контексті еволюційних змін у представників хребетних різної таксономічної приналежності.

Матеріали та методи

У роботі досліджено кишечник 5 видів тварин, що відносяться до 4 класів хребетних (табл. 1), та людини (автопсії). Тварини для дослідів були взяті у віварії Львівського медичного університету або з природних джерел. Автопсійний матеріал було взято у патологоанатомічному відділенні Дубенської центральної районної лікарні (Рівненська область) та у Львівському обласному патологоанатомічному бюро від осіб віком до 50 років без захворювань шлунково-кишкового тракту та за відсутності виражених аутолітичних змін. У роботі використано зразки дванадцятипалої, порожньої, клубової, сліпої, висхідної ободової, поперечної ободової, низхідної ободової, сигмоподібної та прямої кишок людини.

Таблиця 1

Досліджувані види

Українська назва виду	Латинська назва виду	Клас	Кількість об'єктів	Вік
Людина	<i>Homo sapiens</i>	Ссавці	3	Дорослі (25-50 р.)
Білий щур	<i>Rattus norvegicus f. domesticus</i>	Ссавці	3	Статевозрілі
Голуб сизий	<i>Columba livia</i>	Птахи	1	Статевозрілі
Мідянка звичайна	<i>Coronella austriaca</i>	Плазуни	3	Статевозрілі
Жаба тряв'яна	<i>Rana temporaria</i>	Земноводні	3	Статевозрілі
Короп звичайний	<i>Syrpinus carpio</i>	Променепері	3	Статевозрілі

Гістологічний матеріал від тварин забирали після усипання останніх під дією ефірного наркозу. Всі маніпуляції з тваринами проводилися відповідно до вимог Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, котрі використовуються для експериментів чи інших наукових цілей (Страсбург, 1986), а також загальних етичних принципів стосовно експериментальних тварин, затверджених на Першому українському конгресі з біоетики (Київ, 2001). Для дослідження бралися проксимальні та дистальні ділянки тонкої (передньої) та товстої (задньої) кишок. Тканини фіксували у 4% нейтральному формалі-

ні з подальшою заливкою у парафін відповідно до стандартної методики.

Для загальної морфології використовували забарвлення гематоксиліном та еозином. Вуглеводні компоненти визначали шляхом обробки зрізів алціановим синім та з допомогою реакції Шифф-йодна кислота (periodic acid – Schiff, PAS) в різних комбінаціях. У ряді випадків зрізи обробляли нейрамінідазою *Clostridium perfringens* (Sigma). З цією метою зріз інкубували в розчині ферменту (0,2 одиниць активності/мл, pH 5,5) протягом 8 годин.

У гістохімічному дослідженні використано

лектини виробництва НВК «Лектинотест» (м. Львів), наведені в таблиці 2. Їх кон'югували з пероксидазою хрому за методикою Nakane et al. [13] у модифікації Антонюк і співавт. [14]. Зрізи інкубували в розчинах кон'югатів лектинів з пероксидазою (концентрація 50 мкг/мл, час інкуба-

ції – 1 год.) з наступною візуалізацією рецепторів лектинів 3'3'-діамінобензидином, як описано раніше [15]. Мікроскопію та фотографування препаратів здійснювали з використанням фотомікроскопа МБИ 15-2.

Таблиця 2

Лектини, використані в роботі, та їх вуглеводна специфічність [16]

№	Абревіатура	Лектин	Вуглеводна специфічність
1	WGA	Wheat germ agglutinin, лектин зародків пшениці	NAcDGlc, NANA
2	STA	Solanum tuberosum agglutinin, лектин бульб картоплі	Олігомери DGlcNAc
3	RPBA	Robinia pseudoacacia bark agglutinin, лектин кори білої акації	DGalNAc
4	AIA	Artocarpus integrifolia agglutinin, лектин хлібного дерева, «джакалін»	T-антиген (Galβ1-3GalNAcβ1-), GalNAcα1-Ser/Thr
5	PNA	Arachis hypogaea, лектин насіння арахісу	T-антиген (Galβ1-3GalNAc-)
6	CCRA	Surginus carpio roe agglutinin, лектин ікри коропа звичайного	β-MeDGalp > α-MeDGalp
7	PHA-E	Phaseolus vulgaris agglutinin E, еритроаглютинін насіння квасолі звичайної	двоантенні глікопептиди, які вміщують залишки Galβ1-4GlcNAc
8	SNA	Sambucus nigra agglutinin, лектин кори бузини чорної	NeuNAc(α2-6)DGal /DGalNAc
9	LABA	Laburnum anagyroides bark agglutinin, лектин кори золотого дощу	Fuc (Fucα1-2Galβ1-4Glc)

Результати дослідження

Анатомічні особливості будови різних класів хребетних тварин

У різних груп хребетних відділи травного тракту мають певні особливості [17]. Анатомічно кишкова трубка починається після шлунка, а в тих тварин, у яких шлунок відсутній, починається після звуження кишкової трубки (пілорус) між стравоходом і кишкою. Є ще один орієнтир для визначення початку кишки – жовчна протока печінки, що відкривається в просвіт кишки безпосередньо після пілоруса. Оскільки у риб відсутній чіткий поділ на тонку і товсту кишку, в літературі для їхнього опису вживають терміни «передня» і «задня» кишка [17]. Починаючи від земноводних, ці відділи вже достатньо диференційовані і їх можна відрізнити анатомічно.

Виявлення вуглеводів

При застосуванні неспецифічних реакцій на виявлення вуглеводів (забарвлення алціановим синім) виявлено інтенсивне забарвлення кислих цукрів у келихоподібних клітинах усіх досліджуваних видів. PAS реакція була позитивною для цитоплазми стовпчастих ентероцитів і келихоподібних клітин досліджуваних тварин, однак муцин секреторних гранул не забарвлювався, або ж забарвлювався з малою інтенсивністю (рис. 1).

Лектиногістохімічне дослідження

А) риби (на прикладі коропа)

Передня кишка. Лектин WGA виразно взаємодівав з люменальною поверхнею (зокрема, з

мікрворсинками посмугової облямівки) епітеліального вистелення, а також з помірною інтенсивністю зв'язувався з муцином секреторних гранул келихоподібних клітин (рис. 2А). При цьому виявлено, що зафарбовувалися муцинові гранули, розміщені апікально під люменальною поверхнею, а локалізовані глибше з лектином не взаємодіяли. Лектин RPBA інтенсивніше взаємодівав з муцином келихоподібних клітин дна крипт, аніж тих, що знаходилися на верхівці ворсинок. Лектин PHA-E взаємодівав з рецепторами в цитоплазмі та клітинній оболонці як келихоподібних клітин, так і стовпчастих ентероцитів з облямівкою, не проявляючи реактивності з секреторними гранулами. Загалом, усі вищевказані лектини більшою чи меншою мірою взаємодіяли з люменальною поверхнею клітин епітеліального вистелення.

Задня кишка коропа. У порівнянні з передньою кишкою, реактивність секреторних гранул келихоподібних клітин була дещо вищою для лектинів STA, RPBA, WGA та SNA (рис. 2Б, 2В). Зокрема, інтенсивність зв'язування секреторними гранулами лектину RPBA зростала у напрямі дистальніших сегментів задньої кишки. Лектин STA, подібно до тонкої кишки, забарвлював секреторні гранули лише окремих келихоподібних клітин. Рецептори лектину PHA-E, подібно до передньої кишки, виявлені у над'ядерній цитоплазмі стовпчастих і келихоподібних клітин.

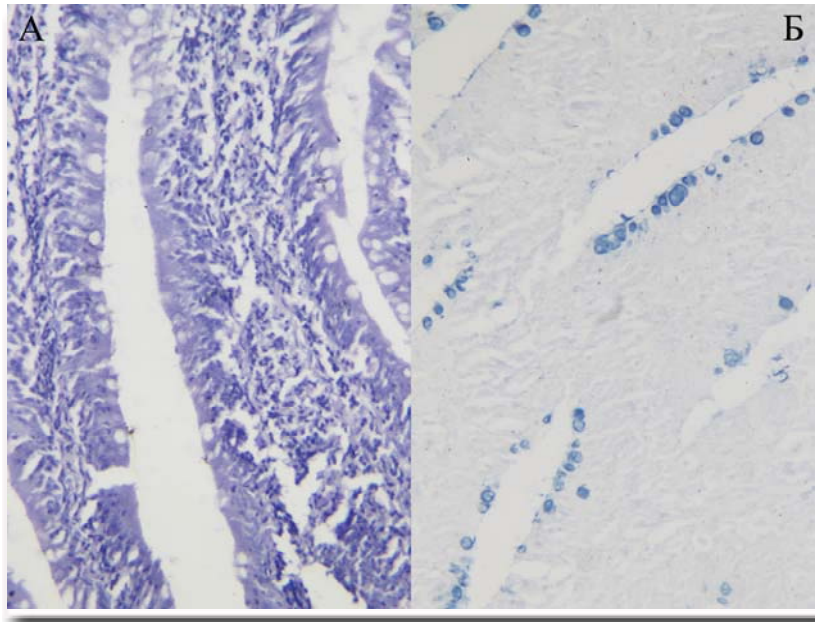


Рис. 1. Слизова оболонка тонкої кишки коропа. А) PAS-реакція + гематоксилін: цитоплазма ентероцитів PAS-позитивна, ядра зафарбовані гематоксиліном, секреторні гранули келихоподібних клітин не забарвлені; Б) Фарбування алціановим синім: чітка візуалізація секреторних компартментів келихоподібних клітин.

Б) земноводні (жаба трав'яна)

Тонка кишка. Гістоструктури тонкої кишки жаби загалом виявили незначну реактивність з використаними лектинами. Зокрема, над'ядерні глікокон'югати (комплекс Гольджи) стовпчастих ентероцитів взаємодіяли з лектином PNA. Лектини WGA, STA, PNA-E, LABA, SNA з незначною інтенсивністю забарвлювали секреторні гранули келихоподібних клітин (рис. 2Г, 2Г).

Товста кишка жаби. В задній кишці лектин SNA взаємодіяв з цитоплазматичними глікополімерами стовпчастих ентероцитів, а також секреторними гранулами келихоподібних клітин, інтенсивність забарвлення яких була вищою, ніж у тонкій кишці. При використанні лектину LABA виявлено суббазальне забарвлення внутрішньоцитоплазматичного секрету клітин інтестинальних залоз (рис. 2Е). PNA виразно забарвлював апарат Гольджи та апікальну частину цитоплазми стовпчастих ентероцитів та секреторні гранули в складі келихоподібних клітин. При використанні лектинів AIA, RPBA виявлено мінімальне забарвлення підмембранних цитоплазматичних глікокон'югатів стовпчастих ентероцитів. STA слабо забарвлював секреторні гранули (рис. 2Д) та поверхневу плазматичну мембрану, інтенсивність забарвлення секреторних гранул була дещо вищою при використанні WGA. PNA-E забарвлював секреторні гранули келихоподібних клітин на поверхні складок значно інтенсивніше, ніж у тонкій кишці.

В) плазуни (мідянка звичайна)

Тонка кишка. Лектини PNA, LABA, SNA, AIA та RPBA проявляли доволі однотипну реак-

тивність, інтенсивно забарвлюючи люменальну клітинну поверхню (мікрворсинки щітчасткової облямівки), та, в окремих стовпчастих ентероцитах, підмембранні цитоплазматичні глікокон'югати, а також секреторні гранули келихоподібних клітин (з малою або помірною інтенсивністю) (рис. 2С, 1Ж). Лектини STA, PNA та WGA виразно контурували мікрворсинки на люменальній поверхні ентероцитів.

Товста кишка мідянки. Гістологічна картина забарвлення загалом нагадувала ту, що спостерігалася при забарвленні тонкої кишки, хоча реактивність стовпчастих ентероцитів була менш інтенсивною.

Г) птахи (голуб сизий)

Тонка кишка. Лектини AIA, CCRA виразно взаємодіяли з глікокон'югатами, розміщеними дифузно в цитоплазмі стовпчастих ентероцитів верхньої частини крипт (рис. 3А, 3Б). Лектини RPBA та LABA забарвлювали люменальну плазмалеу, і, подекуди, апікальну і субмембранну цитоплазму. PNA-E та PNA візуалізували над'ядерні рецептори стовпчастих ентероцитів. PNA також взаємодіяв з глікополімерами надмембранного комплексу і, доволі слабо, цитоплазматичні рецептори. Після обробки нейрамідазою інтенсивно забарвлювались секреторні гранули. WGA забарвлював люменальну плазмалеу, муцинові гранули келихоподібних клітин (більш інтенсивно біля дна крипт), апікальну цитоплазму, люменальну плазмалеу стовпчастих ентероцитів ворсинок (з градієнтом збільшення інтенсивності в апікальному напрямку).

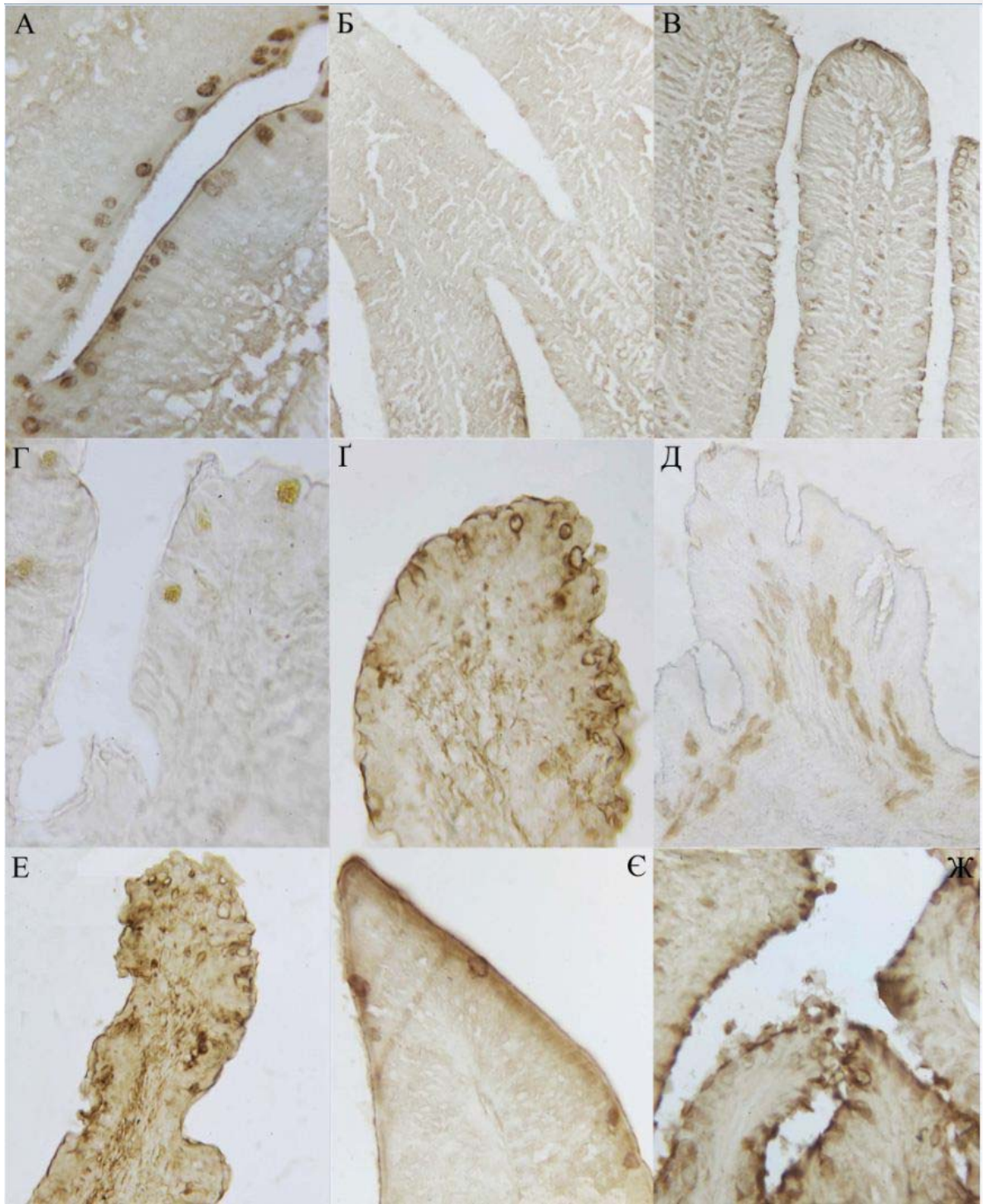


Рис. 2. А) Слизова оболонка передньої кишки коропа, обробка WGA: інтенсивна реактивність секреторних компартментів келихоподібних клітин та мікрворсинок люменальної поверхні ентероцитів, $\times 200$. Б) Короп, задня кишка, обробка RPBA: слабке фарбування муцинових гранул, $\times 100$. В) Короп, задня кишка, обробка SNA: незначна реактивність секрету келихоподібних клітин та люменальної поверхні ентероцитів, $\times 100$. Г) Жаба, тонка кишка, обробка PNA-E: забарвлення секреторних гранул окремих келихоподібних клітин, $\times 200$. Д) Жаба, товста кишка, обробка LBA: лектинові рецептори локалізовані під епітеліальним вистеленням, правдоподібно, у цитоплазмі клітин інтестинальних залоз, $\times 100$. Е) Жаба, товста кишка, обробка STA: гетерогенна реактивність секреторних гранул, розміщених на різній висоті у складі келихоподібних клітин, $\times 100$. Є) Мідянка, тонка кишка, обробка AIA: зв'язування лектину з секреторними компартментами келихоподібних клітин, глікополімерами люмінальної поверхні та в апікальній частині цитоплазми ентероцитів ворсинок, $\times 200$. Ж) Мідянка, тонка кишка, обробка SNA: реактивність секреторних компартментів келихоподібних клітин, люменальної плазмалеми ентероцитів, $\times 100$.

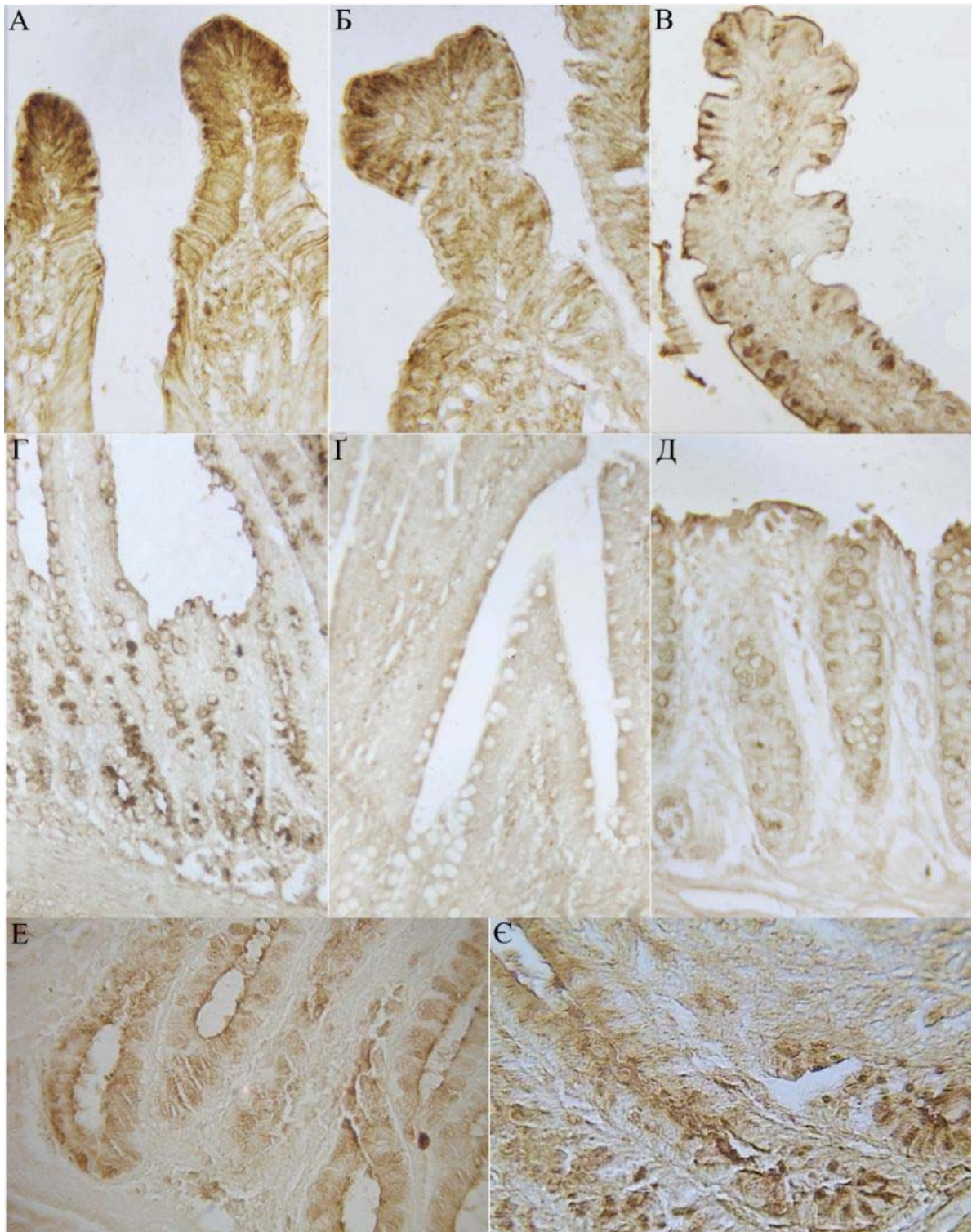


Рис. 3. А) Голуб: тонка кишка, обробка AIA: фарбування субмембранної та апікальної цитоплазми ентероцитів розміщених на верхівці ворсинок, $\times 200$. Б) Голуб: тонка кишка, обробка CCRA: лектинові рецептри розміщені над'ядерній цитоплазмі стовпчастих клітин, $\times 200$. В) Голуб товста кишка, обробка SNA: фарбування секреторних гранул та люмінальної плазмолемі ентероцитів, $\times 100$. Г) Тонка кишка щура, обробка LABA: інтенсивне фарбування муцину келихоподібних клітин особливо в середній та нижній частині крипт, $\times 100$. Д) Тонка кишка щура, обробка AIA: слабо виражені рецептори у верхній частині цитоплазми стовпчастих клітин та в складі люмінальної плазмолемі, $\times 100$. Е) Товста кишка людини, обробка WGA: фарбування секреторних гранул келихоподібних клітин та люмінальної мембрани клітин вистелення просвіту органа, $\times 200$. Ж) Товста кишка щура, обробка SNA: інтенсивне фарбування секреторних гранул келихоподібних клітин, як і при використанні WGA (З) ($\times 400$).

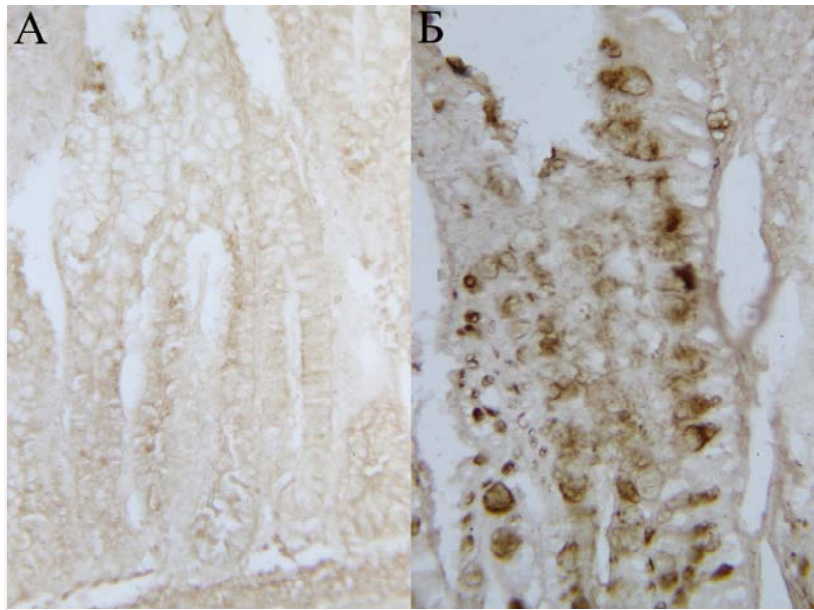


Рис. 4. Голуб тонка кишка А) (фарбування PNA) слабке фарбування цитоплазматичних рецепторів ентероцитів, секреторні гранули не фарбуються. ($\times 100$). Б) (фарбування PNA після обробки нейрамінідазою) виразне фарбування секреторних гранул келихоподібних клітин ($\times 200$).

Таблиця 3

Зв'язування лектинів WGA, STA, PNA-E, RPBA з рецепторами тонкої (передньої) кишки

Лектини		WGA	STA	PNA-E	RPBA
Короп звичайний	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+++/+)	ЛП (+++/+)	ЛП (++/+), Ц (+/-)	ЛП (+)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+++/-), СГ (+/-)	СГ (++/-), ЛП(+++/+)	ЛП (++), Ц (+/-)	СГ (+/-)
Жаба трав'яна	Стовпчасті ентероцити	ЛП (++/-)	ЛП (+/-)	-	ЛП (+/-)
	Келихоподібні клітини	СГ (++/-)	СГ (+/-)	СГ (+/-)	-
Мідянка звичайна	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+++/-)	ЛП (++/-)	ЛП (+/-)	ЛП (++/+), Ц(+/-)
	Келихоподібні клітини	-	-	-	ЛП (++/-), СГ (+/-)
Голуб сизий	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+/-), Ц (++/-)	ЛП (++/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-), Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-), СГ (+/-)	-	-	ЛП (+/-)
Щур білий	Стовпчасті ентероцити	ЛП (++/+), Ц (++/-)	ЛП (++/+), Ц (+/-)	ЛП (++/+), Ц (-/+)	ЛП (+/-), Ц (+)
	Келихоподібні клітини	ЛП (++/-), СГ (+++/-)	ЛП (+/-), СГ (+/-)	ЛП (+), Ц (+/-)	ЛП (+/-)
Людина	Стовпчасті ентероцити	ЛП (++/+), Ц (++/-)	ЛП (+/-), Ц (+/-)	ЛП (+/-) Ц(++/-)	ЛП (+/-), Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-) СГ (+/-)	-	Ц(++/-)	ЛП (+/-), Ц(+/-)

Примітки: ЛП – люменальна плазмалема; СГ – секреторні гранули; Ц – цитоплазма; ПР – перинуклеарно; МВ – мікроворсинки; +++ - інтенсивне зв'язування, ++ помірне зв'язування; + слабке зв'язування; Символ “/” - означає варіабельність інтенсивності забарвлення.

Зв'язування лектинів AIA, CCRA, SNA, LABA, PNA з рецепторами тонкої (передньої) кишки

Лектини		AIA	CCRA	SNA	LABA	PNA
Короп звичайний	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+/+), Ц (+/-)	ЛП (+/+)	ЛП (+), Ц (+/-)	ЛП (+)	ЛП (+/+), Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-)	-	ЛП (+/-), СГ (+/-)	ЛП (+)	ЛП (+/-)
Жаба трав'яна	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+/+), Ц (+/-)	-	Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	-	-	СГ (+/-)	СГ (+/-)	
Мідянка звичайна	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+/+), Ц (+/-)	-	ЛП (+/+)	ЛП (+/+), Ц (+/-)	ЛП (+/+), Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/+), СГ (+/-)	-	ЛП (+/+), СГ (+/+)	ЛП (+/+), СГ (+/+)	ЛП (+/+), СГ (+/-)
Голуб сизий	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+/-), Ц (+/-)	ЛП (+/+), Ц (+/+)	ЛП (-/+)	ЛП(+), Ц(+/+)	ЛП (+/+)
	Келихоподібні клітини	-	ЛП (+/+)	-	ЛП (+/-)	-
Щур білий	Стовпчасті ентероцити	ЛП(+/+), Ц (+/-)	-	ЛП (+/-)	ЛП(+/+), Ц (+/-)	ЛП (+/+), Ц (+)
	Келихоподібні клітини	ЛП(+/+)	СГ (+/-)	СГ (+/+)	СГ (+/+)	Ц (+/-)
Людина	Стовпчасті ентероцити	ЛП (+/-), Ц (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-), Ц (+/-)	ЛП (+/+), Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	Ц (+/-)	-	-	Ц (+/-)	-

Примітка: позначення ті ж, що і в таблиці 3.

Товста кишка голуба. Лектини RPBA, AIA, WGA, PNA, SNA, STA взаємодіяли з секреторними гранулами келихоподібних клітин (рис.3В), RPBA забарвлював апікальні мембрани келихоподібних та стовпчастих клітин. Лектин STA, на відміну від тонкої кишки, взаємодіяв з рецепторами в складі цитоплазми як келихоподібних (перинуклеарно), так і стовпчастих клітин, з градієнтом зростання інтенсивності від основи до верхівки складок. WGA зв'язувався лише з секреторними гранулами клітин біля дна складок. Лектин LABA забарвлював цитоплазматичні глікокон'югати окремих стовпчастих (на верхівці складок) та келихоподібних клітин, CCRA – маркував люменальну плазмалему та субмембранні циторекцептори.

Д) ссавці (білий щур, людина)

Тонка кишка білого щура. Лектини WGA, STA, CCRA, LABA, SNA доволі варіабельно забарвлювали секреторні гранули келихоподібних клітин (рис. 3Г). При цьому CCRA не проявляв афінності до інших структур келихоподібних клітин, окрім слабого забарвлення секреторних гранул. Лектини PNA-E, AIA, RPBA забарвлювали люменальну плазмалему стовпчастих та келихоподібних клітин, а також підмембранні цитоплазматичні рецептори; WGA, STA, LABA, окрім клітинної оболонки та мікроворсинок, зв'язувались із цитоплазматичними гліко-

кон'югатами, розміщеними над'ядерно та в апікальній частині стовпчастих ентероцитів (рис. 3Г). Лектин PNA слабо взаємодіяв з підмембранними цитоплазматичними рецепторами стовпчастих ентероцитів, комплексом Гольджі та секреторними гранулами келихоподібних клітин, а також – зі значною інтенсивністю – з люменальною плазмалемою.

Товста кишка білого щура. Лектини STA, SNA та WGA доволі варіабельно взаємодіяли з секреторними гранулами келихоподібних клітин (рис. 3Е, 3С), а також з плазматичною мембраною стовпчастих клітин та субмембранною цитоплазмою (WGA, STA). Лектини CCRA та LABA, на відміну від тонкої кишки, не взаємодіяли з секреторними гранулами. У стовпчастих клітинах виявлено рецептори для LABA, PNA, AIA, PNA, WGA: у цих клітинах забарвлювалися насамперед комплекс Гольджі та апікальна цитоплазма. Лектини PNA-E, AIA та RPBA зв'язувалися з немуциновими глікополімерами в складі келихоподібних клітин.

Тонка кишка людини. Лектини LABA, AIA, RPBA, PNA-E взаємодіяли з незначними відмінностями з над'ядерними цитоплазматичними рецепторами келихоподібних і стовпчастих клітин, а також з апікальною цитоплазмою цих клітин. Інтенсивність зв'язування усіх вищевказаних лектинів була вищою у ентероцитів ворси-

нок. STA, PNA виявляли селективність взаємодії з цитоплазматичними рецепторами стовпчастих клітин верхньої частини крипт та з вуглеводними детермінантами їхньої плазматичної мембрани. Лектини CCRA та SNA забарвлювали лише люменальну поверхню стовпчастих ентероцитів

верхньої частини крипт. WGA забарвлював над'ядерні глікополімери стовпчастих ентероцитів, муцин келихоподібних клітин та мікрворсинки люменальної поверхні клітинного вистелення слизової зі зростанням інтенсивності взаємодії від дна крипт до верхівки ворсинок.

Таблиця 5
Зв'язування лектинів WGA, STA, PNA-E, RPBA з рецепторами товстої (задньої) кишки

Лектини		WGA	STA	PNA-E	RPBA
Короп звичайний	Стовпчасти колоноцити	ЛП (+/-), Ц (++)	-	ЛП (+), Ц (+/-)	ЛП (+/-)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-), СГ (++)	СГ (++)	ЛП (+), Ц (-/+)	СГ (+/-)
Жаба трав'яна	Стовпчасти колоноцити	ЛП (++) , Ц (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-)	Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-), СГ (++)	ЛП (+/-), СГ (+/-)	СГ (++)	-
Мідянка звичайна	Стовпчасти колоноцити	ЛП (+/-)	ЛП (++)	ЛП (+/-)	ЛП (++) ,
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-)	СГ (+/-)
Голуб сизий	Стовпчасти колоноцити	ЛП (++)	ЛП (+/-), Ц (++) , ПН (+/-)	Ц (++)	ЛП (+), Ц (++)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-) СГ (++)	ЛП (+/-), СГ (+/-), ПН (+/-)	Ц (+/-)	ЛП (+), СГ (++)
Щур білий	Стовпчасти колоноцити	ЛП (+++), Ц (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+++), Ц (+/-)	ЛП (++)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+++), СГ (+++)	СГ (+/-)	Ц (+/-)	ЛП (-/+), Ц (+/-)
Людина	Стовпчасти колоноцити	ЛП (++) , Ц (+/-)	ЛЦ (+/-), Ц (+/-)	ЛП (++) , Ц (+/-)	ЛП (++) Ц (++)
	Келихоподібні клітини	ЛП (++) ; СГ (++)	-	-	ПН (++)

Примітка: позначення ті ж, що і в таблиці 3.

Товста кишка людини. При використанні лектину WGA з різною інтенсивністю (від повної відсутності до вираженої реактивності) забарвлювалися секреторні гранули келихоподібних клітин із наростанням інтенсивності реакції в напрямку до прямої кишки; також забарвлювалася апікальна цитоплазма з надмембранним комплексом (рис. 3Д). Лектини RPBA та A1A помірно забарвлювали перинуклеарні структури келихоподібних та стовпчастих клітин, а також цитоплазматичні рецептори та клітинну мембрану клітин верхнього полюсу крипт та вистелення просвіту органа. Лектини PNA-E, LAVA забарвлювали апікальні ділянки стовпчастих клітин (над'ядерну цитоплазму, клітинну оболонку) з надмембранним комплексом. Лектини CCRA, SNA забарвлювали вуглеводні детермінанти люменальної поверхні стовпчастих клітин з захисним муциновим бар'єром. PNA забарвлював лю-

мінальну плазмолему стовпчастих клітин верхньої частини крипт.

Обговорення

Гістологічно кишка у хребетних – це трубчастий орган, утворений трьома оболонками (слизовою з підслизовим прошарком, м'язовою, серозною). Слизова оболонка вистелена одношаровим стовпчастим епітелієм (окрім дистального відділу, і, у деяких видів – проксимального відділу), що включає келихоподібні, стовпчасти клітини та ендокриноцити (інколи присутні також інші специфічні клітини). Так, у коропа виявлені стовпчасти клітини, які присутні також в інших органах і мігрують у процесі онтогенезу [18]. У тонкій кишці ссавців у крипах виявлені клітини Панета, що виділяють дефензини; у товстій кишці деяких видів ссавців у крипах присутні вакуолізовані секреторні клітини, що дещо відрізняються від келихоподібних клітин [19].

Зв'язування лектинів AIA, CCRA, SNA, LABA, PNA з рецепторами товстої (задньої) кишки

Лектини		AIA	CCRA	SNA	LABA	PNA
Короп звичайний	Стовпчасті колоноцити	ЛП (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+)	ЛП (+++)	ЛП (+++)
	Келихоподібні клітини	ЛП (+/-)	-	СГ (+++/-)	ЛП (+++), Ц (+/-)	ЛП (+/-)
Жаба трав'яна	Стовпчасті колоноцити	Ц (+/-)	-	ЛП (+/-), Ц (++)	-	Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	-	-	СГ (++)	-	-
Мідянка звичайна	Стовпчасті колоноцити	ЛП (+/-)	ЛП (++)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+++/-),
	Келихоподібні клітини	СГ (+/-)	ЛП (++)	СГ (++)	ЛП (+/-), СГ (++)	ЛП (+/-), СГ (+/-)
Голуб сизий	Стовпчасті колоноцити	ЛП (+),	ЛП (+/-) Ц (++)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-), Ц (++)	ЛП (+/-) Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	СГ (+/-)	ЛП (+/-)	ЛП (+/-) СГ (++)	ЛП (+/-), Ц (++)	ЛП (+/-), СГ (++)
Щур білий	Стовпчасті колоноцити	ЛЦ (++) Ц (+/-)	ЛП (-/+)	ЛП (++)	ЛП (++++), Ц (-/+)	ЛП (+/-) Ц (+/-)
	Келихоподібні клітини	Ц (-/+)	-	СГ (+++/-)	-	-
Людина	Стовпчасті колоноцити	ЛП (++) Ц (++)	ЛП (+)	ЛП (+/-)	ЛП (+), Ц (++)	ЛЦ (-/+)
	Келихоподібні клітини	ПН (-++)			-	

Примітка: позначення ті ж, що і в таблиці 3.

У кісткових риб слизова оболонка формує складки, а не ворсинки, характерні для наземних хребетних [20]. У земноводних і плазунів тонка кишка має невеликий діаметр, звивиста, її довжина, як правило, перевищує довжину тіла в два, три, інколи і більше разів; довжина товстої кишки невелика. В слизовій оболонці тонкої кишки присутні ворсинки та слабо виражені крипти, або ж крипти відсутні [21]. У земноводних описані інтестинальні залози протягом всієї довжини кишки, що нагадують пілоричні залози шлунка; розміщені вони зазвичай у заглибинах між складками [22].

У птахів тонка кишка за будовою схожа з плазунами, але ще довша і більш звивиста. Товста кишка коротка і в більшості птахів представлена лише прямою кишкою. У ссавців кишка ще більш диференційована: вона має найбільшу відносну довжину та звивистість серед хребетних і, відповідно, найбільшу площу всмоктування. Внутрішня поверхня тонкої кишки вкрита ворсинками, які відмінні за формою, величиною, щільністю в різних видів. Товста кишка представляє собою трубку більшого діаметру, аніж тонка, поверхня переважно нерівна, поділена перегородками на секції або петлі [17].

Внутрішня поверхня кишки у всіх хребетних, незалежно від їхнього еволюційного розвитку, покрита муцином, який продукують келихо-

подібні клітини. Склад вуглеводів слизової оболонки кишки найкраще досліджено у ссавців. Для людини встановлено, що муцини тонкої та товстої кишки представлені переважно високоманозними і комплексними N- та O-гліканами, структура яких є дуже варіабельною. У дво-, три-, і тетраантенних структурах можуть бути присутні залишки L-фукози, D-галактози, N-ацетил-D-галактозаміну та N-ацетил-D-глюкозаміну, що приєднані до корових ділянок. Нейрамінові кислоти представлені широко, вони формують термінальні залишки (аж до 4 в деяких тетраантенних структурах) (рис. 5) [23].

Результати проведених нами досліджень муцину секреторних гранул келихоподібних клітин передньої та задньої кишки коропа свідчать про наявність у його складі термінальних залишків сіалових кислот (рецепторів лектинів WGA і SNA). Муцин цих клітин, правдоподібно, не містить термінальних залишків Gal β 1-3GalNAc β 1, оскільки не взаємодіє з лектинами PNA та AIA, які специфічні до T-антигену (PNA взаємодіє лише з десіалізованою його формою, тоді як AIA взаємодіє також і з сіалізованою формою). Наші результати співпадають з даними інших авторів [24], які свідчать, що секреторні гранули келихоподібних клітин коропа не містять залишків L-фукози, оскільки була відсутньою взаємодія з лектином LABA.

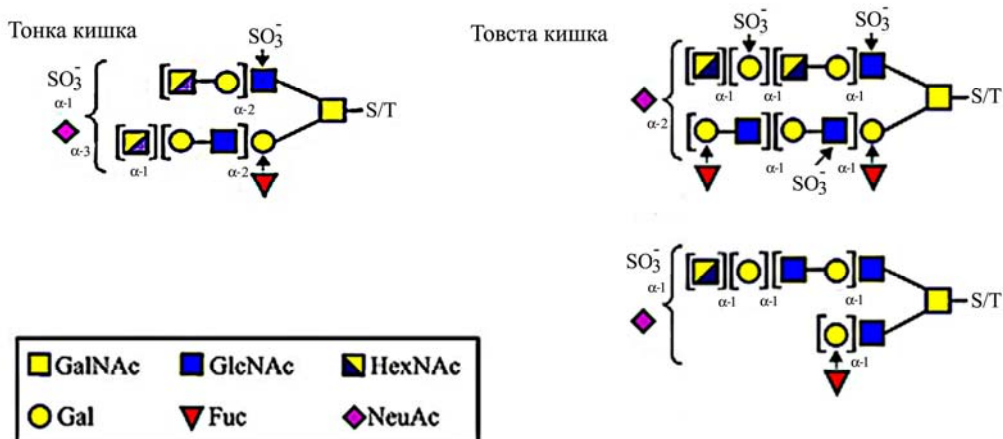


Рис. 5. Варіанти вуглеводних детермінант у складі муцинів кишки ссавців [23].

При дослідженні кишки жаби інтенсивність забарвлення лектинами PNA-E, SNA, WGA була вищою в товстій кишці, ніж у тонкій, що, ймовірно, пов'язано з особливостями муцину в дистальніших відділах (більша концентрованість, насиченість вуглеводними детермінантами). Очевидно, що взаємодія з PNA-E пояснюється наявністю розгалужених триантених глікозидних залишків, які містять Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man ланцюжки, зв'язані з α (1-6)Man-ним кірком [25]. Взаємодія з WGA і SNA може також свідчити про наявність GlcNAc β 1-2Man залишків та сіалових кислот у структурі муцину. В той же час відсутність взаємодії муцинів келихоподібних клітин та муцинів на поверхні епітелію з PNA віддзеркалює екранування сіаловими кислотами субтермінальних вуглеводних залишків у муцині. Виявлено, що LABA забарвлює субепітеліальні структури, що, на нашу думку, відповідають клітинам залоз слизової оболонки. Це свідчить про наявність залишків L-фукози або олігосахаридних фукозовмісних залишків (наприклад, 2'-фукозиллактоза Fuc α 1-2Gal β 1-4Glc є у 30 разів сильнішим інгібітором активності цього лектину, ніж власне L-фукоза [16]. Водночас келихоподібні клітини, що також є продуцентами муцинів, не взаємодіють з лектином LABA, що свідчить про відсутність у їхньому складі фукозильних детермінант.

WGA та STA не забарвлювали секреторні гранули келихоподібних клітин мідянки, хоча у всіх інших досліджуваних зразках WGA їх забарвлював. Водночас лектини RPBA, AIA, LABA та SNA виразно взаємодіяли з муцином секреторних гранул мідянки. Це говорить про відсутність залишків N-ацетил-D-глюкозаміну і можливу заміну їх залишками N-ацетил-D-галактозаміну у даного плазуна.

Лектин PNA не забарвлював секреторні гранули в тонкій кишці голуба, однак таке забарвлення спостерігалось у товстій кишці, а також при попередній обробці зрізів тонкої кишки ней-

рамінідазою (рис. 4). Це свідчить про появу рецепторів цього лектину на поверхні зрізів після десіалізації останніх. Отже, субтермінальними залишками у муцині тонкої кишки голуба можуть бути залишки галактози або олігосахариди, що її вміщують. Відомо, що лектин PNA виявляє найвищу афінність до T-антигену (Gal β 1-3GalNAc), яка більш як у 50 разів переважає афінність до галактози [16].

У товстій кишці білого щура при використанні лектину WGA інтенсивно забарвлювався муцин келихоподібних клітин нижніх 1/3 або 2/3 крипт; келихоподібні клітини тих ділянок крипт, які були наближені до поверхні слизової оболонки, не забарвлювались або забарвлювались незначною мірою, що підтверджує результати наших попередніх досліджень [26]. Така закономірність спостережена і з іншими лектинами (STA, SBA, SNA): в деяких досліджуваних зразках означені лектини забарвлювали муцин келихоподібних клітин, розміщених на одному рівні з різною інтенсивністю. Ми пояснюємо це тим, що у келихоподібних клітинах в процесі їхнього дозрівання і переміщення в напрямі до просвіту кишки відбуваються зміни муцинового секрету включно зі зміною його вуглеводних детермінант [19, 26].

Слід відзначити, що у вищих хребетних відмінності у забарвленні тонкої та товстої кишки були виражені сильніше, ніж у еволюційно менш розвинутих видів тварин (жаба, риби). Виявлено, що найчастіше лектини зв'язувалися з люменальною плазмалеомою і апікальною цитоплазмою стовпчастих ентероцитів, у тому числі з муцином надмембранного комплексу, що більш виражений у товстій кишці, та мікроворсинками посмугованої облямівки. З одного боку, це може свідчити про важливість рецепторної функції при контакті з внутрішньокишковими агентами (для кишки характерний інтрамембранний муцин MUC1, MUC3, MUC4, MUC13, чи/або MUC17), а з іншого – про значну насиченість муцину різноманітними олігосахаридами.

При використанні сіалоспецифічного лектину SNA, для якого показана властивість взаємодії з малігнізованими ентероцитами товстої кишки людини, але не з товстою кишкою в умовах норми [27], нами задокументована реактивність секреторних гранул ентероцитів у більшості досліджуваних зразків, за виключенням людини. Згідно з нашими спостереженнями, взаємодія SNA з муциновими гранулами клітин кишки білого щура блокується при використанні 5% лактози [28]. Це свідчить, що у даному випадку місцем зв'язування SNA є скоріше залишки D-галактози, ніж NeuNAc(α 2-6)DGal.

Лектини AIA та RPBA, що мають подібну вуглеводну специфічність (AIA: Gal β 1-3GalNAc β 1- та GalNAc; RPBA: DGalNAc), виявляли і подібність у зв'язуванні з циторецепторами, хоча були і певні відмінності. Так, RPBA взаємодівав із секреторними гранулами келихоподібних клітин кишки коропа та товстої кишки голуба, для AIA така взаємодія була відсутня. RPBA має цікаві біологічні активності: коли його через рот вводили щурам у малих і середніх дозах, лектин діяв як ростовий фактор на тонку кишку, індуючи в ній гіперпластичний ріст шляхом стимуляції клітин крипт [29]. У наших дослідженнях у тонкій кишці білого щура RPBA забарвлював люменальну плазмалему стовпчастих та келихоподібних клітин, а також підмембранні цитоплазматичні глікокон'югати.

Лектин CCRA виявив низьку афінність до гістоструктур, обмежуючись зазвичай люменальною плазмалемою та надмембранним муциновим комплексом. Водночас виявлено забарвлення секреторних гранул ентероцитів тонкої кишки білого щура та колоноцитів товстої кишки жаби, а також циторецепторів у стовпчастих ентероцитах голуба. Це свідчить про слабку вираженість термінальної D-галактози у цих структурах.

Високий вміст муцинів у всіх відділах травного тракту різних видів хребетних пояснюється їх багатофункціональним значенням: захистом епітеліального вистелення від протеолітичного, бактерійного та механічного пошкодження, змащуванням поверхні слизової оболонки та підвищенням ефективності травлення [29].

Глікани кишки коропа виявили багато спільних ознак зі структурою гліканів ссавців. Зокрема, зі слизової оболонки кишки коропа було очищено два типи муцинових глікопротеїнів: тип-1, що мав молекулярну масу понад 2000 кДа і був високо глікозильованим; та тип-2, молекулярна маса якого лежала в діапазоні 70-700 кДа і який був менше глікозильованим. За допомогою лектинової гістохімії із застосуванням 8 лектинів було виявлено, що внутрішньоклітинні муцинові глікопротеїни епітеліоцитів містять головним чином N-ацетил-D-галактозамін та манозу, а люменальні (зовнішньоклітинні) муцинові глікопротеїни, крім того, містять сіалову кислоту. Фу-

коза при застосуванні лектину з *Ulex europaeus* в обох типах муцинів не була виявлена [24].

При дослідженні муцину тонкої кишки жаби *Rana ridibunda* за допомогою лектинів та реакцій на нейтральні та кислі вуглеводи (PAS-реакція, алціановий голубий, толуїдиновий синій, альдегід-фусцин, бромфеноловий голубий) було виявлено, що келихоподібні клітини реагували лише з лектином WGA і не реагували з DBA, UEA-1, Con A, PNA, а муцин також давав сильну PAS-позитивну реакцію. Було зроблено висновок, що в муцині тонкої кишки жаби переважають сіаловмісні та кислі вуглеводи, і в меншій мірі присутні нейтральні глікополімери з залишками N-ацетил- β -D-глюкозаміну [30].

Дослідження травного тракту плазунів представляє собою інтерес у зв'язку з їх підвищеними адаптаційними можливостями як в умовах посиленого харчування, так і тривалого голоду, що, зокрема, передбачає зміни розміру і морфології травного каналу, його адсорбтивної здатності та ремоделювання мікрофлори. Водночас досі особливості гліканів травного тракту та будова муцинів кишки плазунів вивчалися відносно у небагатьох роботах. Зокрема виявлено, що келихоподібні клітини тонкої кишки вужа звичайного (*Natrix natrix*) багаті на сульфо- і сіаломуцини та залишки сіалової кислоти, що приєднані до субтермінальної галактози чи N-ацетил-D-галактозаміну. Означені муцини містили також залишки манози та/або глюкози. В товстій кишці келихоподібні клітини включали в основному сульфомуцини з гліканами насиченими залишками N-ацетил-D-глюкозаміну.

З літератури відомо, що різноманіття гліканів у товстій кишці менш виражено, ніж у тонкій. Водночас у ссавців (гризунів, зокрема) та у деяких рептилій (середземноморської черепахи, *Testudo graeca*) вуглеводний склад муцинів кишки різноманітніший ніж у вужа звичайного (зокрема, через відсутність в останнього фукозильованих залишків). Вуж звичайний, як більшість змії, є строго м'ясоїдним, на відміну від гризунів, ссавців, черепах, які є всеїдними або травоядними, що, можливо, відображається на структурі муцинів [31].

Фукозильовані залишки муцинів товстої кишки необхідні для підтримання мікрофлори, що забезпечує відщеплення фукозильних залишків від харчових мас [32]. Цікаво, що фукозильні залишки відсутні в ящірці прудкої, основу харчування якої складають майже виключно комахи [33]. Тож, ймовірно, відсутність фукозильних залишків пов'язана з дієтою, в якій відсутній даний вуглевод. Таким чином, різноманітність гліканів травного тракту хребетних тварин визначається низкою чинників – раціоном, умовами існування, взаємодією з мікрофлорою кишки [31, 34].

Висновки

1. Для кишки всіх видів хребетних характерна велика кількість муцину, що містить у своїй структурі кислі термінальні вуглеводні залишки (зокрема, сіалові кислоти), функція якого – захист епітеліального вистелення травного каналу та підвищення ефективності травлення. Виявлена різниця у зв'язуванні лектинів між товстою і тонкою кишкою більш виражена у вищих хребетних, що вказує на прогресуючу спеціалізацію від передніх до задніх відділів шлунково-кишкового тракту.

2. У залежності від харчової спеціалізації та умов існування в окремих хребетних тварин можуть бути відсутні ті чи інші вуглеводи, характе-

рні для ссавців. Зокрема, в складі термінальних залишків муцину келихоподібних клітин кишки коропа були відсутні залишки Gal β 1-3GalNAc β 1 та L-фукоза, а у складі муцинових гранул мідянки не виявлено залишків N-ацетил-D-глюкозаміну, які, правдоподібно, замінені на N-ацетил-D-галактозамін.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні змін, що відбуваються з термінальними вуглеводними рецепторами в умовах різної харчової спеціалізації та існування хребетних, що в контексті еволюційного розвитку сприятиме поглибленню уявлень щодо закономірностей глікозилювання.

Літературні джерела References

1. Narimatsu H. Development of basic tools for glycoscience and their application to cancer diagnosis: A 10-year strategy of the research center for medical glycoscience of AIST. *Synthesiology*. 2012 Jan; 5(3):190-203.
2. Schultz MJ, Swindall AF, Bellis SL. Regulation of the metastatic cell phenotype by sialylated glycans. *Cancer Metastasis Rev*. 2012 Dec;31(3-4):501-18. doi: 10.1007/s10555-012-9359-7.
3. Boland CR, Chen YF, Rinderle SJ, Resau JH, Luk GD, Lynch HT, Goldstein IJ. Use of the lectin from *Amaranthus caudatus* as a histochemical probe of proliferating colonic epithelial cells. *Cancer Res*. 1991 Jan 15;51(2):657-65.
4. Brinck U, Bosbach R, Korabiowska M, Schauer A, Gabius HJ. Histochemical study of expression of lectin-reactive carbohydrate epitopes and glycoligand-binding sites in normal human appendix vermiformis, colonic mucosa, acute appendicitis and colonic adenoma. *Histol Histopathol*. 1996 Oct;11(4):919-30.
5. Antonyuk RV, Lutsik OD. [Lectinohistochemical research of colon in humans at normal and at neoplastic process using lectins specific for T antigen and N-acetylglucosamine]. *World of Medicine and Biology* 2015;(2):73-8. Ukrainian.
6. Coetzee HL, Kotzé SH, Lourens N. Characterization of mucus glycoproteins in the intestinal mucosa of the African elephant (*Loxodonta africana*) following lectin histochemistry. *Onderstepoort J Vet Res*. 1995 Sep;62(3):187-92.
7. Suprasert A, Fujioka T, Yamada K. The histochemistry of glycoconjugates in the colonic epithelium of the chicken. *Histochemistry*. 1987;86(5):491-7.
8. Madrid JF, Ballesta J, Castells MT, Marin JA, Pastor LM. Characterization of glycoconjugates in the intestinal mucosa of vertebrates by means of lectin histochemistry. *Acta Histochem Cytochem*. 1989; 22:1-14.
9. McGuckin MA, Lindén SK, Sutton P, Florin TH. Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat Rev Microbiol*. 2011 Apr;9(4):265-78. doi: 10.1038/nrmicro2538.
10. Kim YS, Ho SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep*. 2010 Oct;12(5):319-30. doi: 10.1007/s11894-010-0131-2.
11. Matsuo K, Ota H, Akamatsu T, Sugiyama A, Katsuyama T. Histochemistry of the surface mucous gel layer of the human colon. *Gut*. 1997 Jun;40(6):782-9.
12. Larsson JM, Karlsson H, Sjövall H, Hansson GC. A complex, but uniform O-glycosylation of the human MUC2 mucin from colonic biopsies analyzed by nanoLC/MSn. *Glycobiology*. 2009 Jul;19(7):756-66. doi: 10.1093/glycob/cwp048.
13. Nakane PK, Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugation. *J Histochem Cytochem*. 1974 Dec;22(12):1084-91.
14. Antonyuk VA, Yashchenko AM. [Conjugation of lectins with horseradish peroxidase: optimization of the method]. *Clinical and Laboratory Diagnostic*. 1996; 3:51-2. Ukrainian.
15. Lutsyk AD, Detiuk TS, Lutsyk MD. [Lectins in histochemistry]. Lviv: Vyshcha Shkola; 1989. 144 p. Russian.
16. Antonyuk VO. [Lectins and their resources]. Lviv: Kvant; 2005. 554 p. Ukrainian.
17. Kovtun MF. Comparative anatomy of vertebrates. Kharkiv: Vyshcha Shkola; 2003. Part 2. 272 p. Ukrainian.
18. Mazon AF, Huising MO, Taverne-Thiele AJ, Bastiaans J, Verburg-van Kemenade BM. The first appearance of Rodlet cells in carp (*Cyprinus carpio* L.) ontogeny and their possible roles during stress and parasite infection. *Fish Shellfish Immunol*. 2007 Jan-Feb;22(1-2):27-37.
19. Karam SM. Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut. *Front Biosci*.

1999 Mar 15;4:D286-98.

20. Lin Yan, Xiao Qiu-Zhou. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*). *Aquaculture* 2006; 256(1-4):389-94.

21. Imagawa T, Hashimoto Y, Kon Y, Sugimura M. Lectin histochemistry as special markers for rodlet cells in carp, *Cyprinus carpio* L. *J.Fish Disease* 1990; 13(6):537-40. DOI: 10.1111/j.1365-2761.1990.tb00814.x

22. Kingsbury BF. The histological structure of the enteron of *Necturus maculates*. *Proc Am Microscop Soc.* 1894;16(1):19-64. DOI: 10.2307/3220718.

23. Cummings RD, Pierce JM. *Handbook of glycomics*. Amsterdam: Academic Press/Elsevier; 2009. 489 p.

24. Neuhaus H, Van der Marel M, Caspari N, Meyer W, Enss ML, Steinhagen D. Biochemical and histochemical study on the intestinal mucosa of the common carp *Cyprinus carpio* L., with special consideration of mucin glycoproteins. *J Fish Biol.* 2007; 70(5):1523-34. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2007.01438.x

25. Yamashita K, Hitoi A, Kobata A. Structural determinants of Phaseolus vulgaris erythroagglutinating lectin for oligosaccharides. *J Biol Chem.* 1983 Dec 25;258(24):14753-5.

26. Lutsyk AD, Bankston PW. [Heterogeneity of rat cellular subset as detected by lectin-gold probes]. *Acta Medica Leopoliensia.* 1997;(1-2):70-8. Ukrainian.

27. Sata T, Roth J, Zuber C, Stamm B, Heitz PU. Expression of alpha 2,6-linked sialic acid residues in neoplastic but not in normal human colonic

mucosa. A lectin-gold cytochemical study with *Sambucus nigra* and *Maackia amurensis* lectins. *Am J Pathol.* 1991;139:1435-48.

28. Antonyuk RV, Yashchenko AM, Preima CI. [Possibility of lectins application for drug targeting to carbohydrate determinants of large intestine]. *Prakticheskaia fitoterapiia.* 2009;1:24-6. Russian.

29. Rabijns A, Verboven C, Rougé P, Barre A, Van Damme EJ, Peumans WJ, De Ranter CJ. Structure of a legume lectin from the bark of Robinia pseudoacacia and its complex with N-acetylgalactosamine. *Proteins.* 2001 Sep 1;44(4):470-8.

30. Sancar-Bas S, Kaptan E, Sengezer-Inceli M, Sezen A, Us H. Glycoconjugate histochemistry in the fungic stomach and small intestine of the frog (*Rana ridibunda*) *IUFS J Biol.* 2009; 68(2):93-104.

31. Scillitani G, Mentino D, Liquori GE, Ferri D. Histochemical characterization of the mucins of the alimentary tract of the grass snake, *Natrix natrix* (Colubridae). *Tissue Cell.* 2012 Oct;44(5):288-95. doi: 10.1016/j.tice.2012.04.006.

32. Becker DJ, Lowe JB. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals. *Glycobiology.* 2003 Jul;13(7):41R-53R.

33. Ferri D, Liquori GE. Characterization of secretory cell glycoconjugates in the alimentary tract of the ruin lizard (*Podarcis sicula campestris* De Betta) by means of lectin histochemistry. *Acta Histochem.* 1992;93(1):341-9.

34. Costello EK, Gordon JJ, Secor SM, Knight R. Postprandial remodeling of the gut microbiota in Burmese pythons. *ISME J.* 2010 Nov;4(11):1375-85. doi: 10.1038/ismej.2010.71.

Антонюк Р.В., Луцик А.Д. Лектиновая гистохимия углеводных детерминант кишечника представителей разных классов позвоночных.

Реферат. С использованием 9 лектинов, меченых пероксидазой, изучали углеводные детерминанты кишечника человека (*Homo sapiens*), белой крысы (*Rattus norvegicus* f. *Domesticus*), голубя сизого (*Columba livia*), медянки обыкновенной (*Coronella austriaca*), лягушки травяной (*Rana temporaria*), карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*), принадлежащих к разным классам позвоночных, с целью выявления закономерностей перестройки углеводных рецепторов в контексте эволюционного развития. Проведенное исследование показывает, что общим для кишечника всех видов позвоночных является значительное количество муцина, содержащего кислые терминальные углеводы, в частности, сialовые кислоты. Разнообразие и различия в структуре гликанов пищеварительного тракта позвоночных, возможно, определяется рядом факторов – рационом, условиями существования, взаимодействием с микрофлорой кишечника.

Ключевые слова: лектиновая гистохимия, кишечник, позвоночные, углеводные детерминанты.