

**МОДУЛЯЦІЯ ІМУНІТЕТУ ТА БАРСРНОЇ ФУНКЦІЇ
У ПРЕ- І ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ ТВАРИН.
РОЛЬ ЕНТЕРОЦИТІВ У ЗАБЕЗПЕЧЕННІ БАРСРНОЇ ФУНКЦІЇ
КИШЕЧНИКА У ПЛОДОВИЙ ПЕРІОД ОНТОГЕНЕЗУ ТВАРИН**

Масюк Д. М., Недзвєцький В. С., Кокарєв А. В.

ВСТУП

У перинатальний період онтогенезу ссавців зростання травного каналу відбувається алометрично¹. Швидкий розвиток кишечника плоду та новонародженого організму необхідний для задоволення потреб росту в ранньому віці та формування захисного бар'єру від зовнішніх ушкоджень, з якими стикається слизова оболонка кишечника. Плід отримує живлення через плаценту та захищений від шкідливих патогенів внутрішньоутробно, що призводить до розвитку кишечника у відносно сталому середовищі². Після народження тварин, слизова оболонка кишечника відповідає за всмоктування поживних речовин та забезпечує оптимальний баланс між шаром слизу, епітелієм кишечника та мікробіотою³. Ключовим компонентом кишкового бар'єру є шар стовпчастих епітеліальних клітин. Найпоширенішою епітеліальною клітиною є ентероцити, які підтримують функцію гомеостазу кишечника та формування механізмів сприйняття навколишнього середовища. Програмований характер слизових бар'єрів вимагає від систем виявлення змін у навколишньому середовищі та ініціювання адаптивних програм для пристосування до цих змін⁴. У цих процесах ключову роль відіграють процеси гідролізу, трансцелюлярного і парацелюлярного транспорту. У свою чергу, ці інтегративні процеси інтестинальної системи залежать від білків плазматичної мембрани ентероцитів. З одного боку, мембранні білки приймають участь у транцитозі поживних речовин і виведення продуктів метаболізму. З іншого боку, адгезивні білки утворюють щільні з'єднання у вигляді білкових

¹ Duque-Correa M.J., Codron D., Meloro C., McGrosky A., Schiffmann C., Edwards M.S., Clauss M. Mammalian intestinal allometry, phylogeny, trophic level and climate. *Proc Biol Sci.* 2021. Vol. 10, № 288(1944). P.20202888. doi: 10.1098/rspb.2020.2888.

² Frazer L.C., Good M. Intestinal epithelium in early life. *Mucosal Immunol.* 2022. Vol. 15, №6. P. 1181-1187. doi: 10.1038/s41385-022-00579-8.

³ Sugiharto S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *J Saudi Soc Agric Sci.* 2016. Vol. 15. P. 99–111 <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.06.001>

⁴ Mitson-Salazar A., Medzhitov R. Environmental sensing mechanisms in intestinal homeostasis. *J Allergy Clin Immunol.* 2022. Vol. 150, №3. P. 577-579. doi: 10.1016/j.jaci.2022.06.019

комплексів між епітеліальними клітинами кишечника⁵. Кишкові клітини утворюють перший захист від вторгнення потенційно шкідливих мікроорганізмів, антигенів і токсинів з просвіту кишечника. Знижена цілісність щільного з'єднання та пошкодження епітелію можуть, таким чином, призвести до «дірної кишки» та, ймовірно, є основними факторами зміни морфології кишкової стінки, запалення, системної інфекції та порушення всмоктування⁶. Однак самі по собі ентероцити утворюють моношар клітин, кишкову поверхню орієнтовану на зовнішнє середовище, формуючи механічний бар'єр. На базальній стороні ентероцити контактують з підслизовою оболонкою, що складається з гетерогенних популяцій імунних клітин у сполучній тканинній матриці. Кишкова поверхня являє собою як абсорбційну поверхню, так і бар'єр, і ці одночасні процеси регулюються ентероцитами. Як частина абсорбційного та травного механізмів, ентероцити мають ферменти на своїй поверхні, які виконують остаточне руйнування пептидів та полісахаридів, роблячи їх готовими до поглинання. Однак не тільки амінокислоти та дрібні пептиди можуть досягати ентероцитів, але й меншу кількість неушкоджених білків, які є антигенними. Ці білки/антигени, стійкі до травлення шлунка, ендочитуються ентероцитами, які розщеплюють їх у лізосомах. Для виконання своєї важливої функції ентероцити утворюють разом з мікробіотою, слизом, включаючи антимікробні пептиди, антитіла та імунокомпетентними клітинами у власній пластинці природний бар'єр кишечника який необхідний для запобігання параклітинному витоку антигенів та інших молекул через епітелій⁷.

Крім того, ентероцити є центром для природжених та адаптивних імунних реакцій⁸. Це дуже динамічні клітини, які знаходяться в постійному контакті з сусідніми клітинами та тканинами, активно спілкуючись з Т-клітинами, дендритними клітинами, гранулоцитами, моноцитами, макрофагами та тучних клітинами⁹.

Принагідно відмітити, що розуміння формування механізмів бар'єрної функції кишечника за якісними і кількісними показниками

⁵ Suzuki T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. *Anim Sci J*. 2020. Vol. 91, №1. e13357. doi: 10.1111/asj.13357

⁶ González-González M., Díaz-Zepeda C., Eyzaguirre-Velásquez J., González-Arancibia C., Bravo J.A., Julio-Pieper M. Investigating Gut Permeability in Animal Models of Disease. *Front Physiol*. 2019. Vol. 15, № 9. P. 1962. doi: 10.3389/fphys.2018.01962

⁷ Krstić Ristivojević M., Apostolović D., Smiljanić K. Enterocytes in Food Hypersensitivity Reactions. *Animals (Basel)*. 2021. Vol. 11, №9. P. 2713. doi: 10.3390/ani11092713.

⁸ Miron N., Cristea V. Enterocytes: active cells in tolerance to food and microbial antigens in the gut. *Clin Exp Immunol*. 2012. Vol. 167, №3. P. 405-412. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04523.x.

⁹ Shaykhiiev R., Bals R. Interactions between epithelial cells and leukocytes in immunity and tissue homeostasis. *J Leukoc Biol*. 2007. Vol. 82, №1. P. 1-15. doi: 10.1189/jlb.0207096.

поліпептидного складу мембран ентероцитів великої рогатої худоби протягом усього плодового періоду достатньо не висвітлена та потребує більш глибокого вивчення.

1. Характеристика мембранних білків інтестинального епітелія у ранній плодовий період онтогенезу

Плазматична мембрана епітелію клітини поділяється на два основні домени. Апікальна поверхня стикається з просвітом органу, а базолатеральна поверхня – з сусідніми епітеліальними клітинами. Потрібно зауважити, що апікальні та базолатеральні поверхні ентероцитів виконують не однакові функції і тому мають дуже різні білкові та ліпідні композиції. Апікальна поверхня спеціалізується на обміні субстратів із порожниною, тоді як базолатеральна поверхня взаємодіє з іншими клітинами і кров'яним руслом¹⁰.

Епітелій забезпечує взаємозв'язок між довкіллям, тобто зі зовнішнім світом і внутрішнім середовищем організму¹¹. Епітеліальні клітини відрізняються від інших типів клітин своєю організацією, яка забезпечує ряд унікальних фізіолого-біохімічних властивостей. Принагідно підкреслимо, що найбільш важливим є те, що закритий епітелій дозволяє регулювати обмін поживними речовинами і кінцевими продуктами обміну між внутрішнім та зовнішнім середовищами. Поляризовані епітеліальні клітини мають характерну апікально-базальну вісь полярності для векторного транспорту іонів і розчинених молекул, тоді, як мезенхімальні клітини, що мігрують і мають свою вісь полярності. Під час розвитку мезенхімальні клітини перетворюються в епітелій шляхом злипання в агрегати, які піддаються епітеліальній диференціації¹².

Апікальний і базолатеральний мембранні домени мають різну морфологію, що обумовлено їх функціями. Апікальний мембранний домен ентероцитів характеризується щітковим кордоном, що складається з мікрворсинок, які збільшують поверхню клітин і покращують абсорбційні та обмінні властивості тканини. На основі їх функціональних особливостей апікальний і базолатеральний домени

¹⁰ St Johnston D., Sanson B. Epithelial polarity and morphogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* 2011. Vol. 23, №5. P. 540-546. doi: 10.1016/j.ceb.2011.07.005.

¹¹ Yanaka S., Yogo R., Inoue R., Sugiyama M., Itoh S.G., Okumura H., Miyanoiri Y., Yagi H., Satoh T., Yamaguchi T., Kato K. Dynamic Views of the Fc Region of Immunoglobulin G Provided by Experimental and Computational Observations. *Antibodies (Basel).* 2019. Vol. 8, №3. P. 39. doi: 10.3390/antib8030039.

¹² Nelson W. James Remodeling Epithelial Cell Organization: Transitions Between Front Rear and Apical-Basal Polarity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009. Available from: doi:0.1101/cshperspect.a000513

мембрани складаються з різних білків і ліпідів¹³. На апікальній плазматичній мембрані клітин кишечника, наприклад, є багато гідролаз, у той же час, як інтегрини концентруються в базолатеральному домені і полегшують формування контактів клітин. Ця поляризована архітектура стабілізується в епітеліальних клітинах щільним комплексом сполук, який діє як бар'єр проти білкової або ліпідної дифузії з одного мембранного домену в інший. Відмінності в білковому і ліпідному складі двох мембранних доменів забезпечуються високоспецифічними механізмами¹⁴. Механізми, що забезпечують транспортування білків від транс-Гольджи мережі до плазматичної мембрани, можна розділити на кілька етапів: сегрегація білка або сортування, брунькування і транспортування везикул-носіїв, що виникають з транс-Гольджи мережа, трансляція вздовж внутрішньоклітинних шляхів, стикування і злиття з мембраною-мішенню¹⁵. Гетерогенність епітеліальних клітин можна пояснити гнучким фенотипом, вони націлені на білки різних мембранних доменів на основі типу клітин, їх локалізації і спеціалізації¹⁶.

Отже, функціональні властивості ентероцитів, що обумовлюють абсорбцію поляризацією цих клітин з утворенням макродомени плазмолемі – апікальної та базолатеральної мембран, які мають певні відмінності у хімічному складі їх бішару.

Визначення вмісту і складу структурних білків плазмолемі ентероцитів проводили за допомогою електрофорезу у ПААГ. Усього було виявлено та кількісно ідентифіковано 32 білкових фракції в межах молекулярних мас від 9,6 кДа до 300 кДа.

1.1. Динаміка концентрації структурних білків плазмолемі абсорбційних ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби у ранньому плодовому періоді

Усього в дослідженнях використано 30 плодів великої рогатої худоби (голштинської породи) віком від 2 до 4 місяців масою тіла 0,6–2,1 кг. Експериментальні дослідження проведено із дотриманням вимог Закону України № 3447-IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» та узгоджуються з основними принципами «Європейської

¹³ Rodriguez-Boulan E., Powell S.K. Polarity of epithelial and neuronal cells. *Annu Rev Cell Biol.* 1992. Vol. 8. P. 395-427. doi: 10.1146/annurev.cb.08.110192.002143.

¹⁴ Buczacki S. J. A., Zecchini H. I., Nicholson A. M., Russell R., Vermeulen L., Kemp R., Douglas J. Winton Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing Lgr5. *Nature.* 2013. Vol. 495. P. 65–69. <https://doi.org/10.1038/nature11965>

¹⁵ Delacour D., Cramm-Behrens C.I., Drobecq H., Le Bivic A., Naim H.Y., Jacob R. Requirement for galectin-3 in apical protein sorting. *Curr Biol.* 2006. Vol. 16, №4. P. 408-414. doi: 10.1016/j.cub.2005.12.046.

¹⁶ Rodriguez-Boulan E., Kreitzer G., Müsch A. Organization of vesicular trafficking in epithelia. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005. Vol. 6, №3. P. 233-247. doi: 10.1038/nrm1593.

конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), декларації «Про гуманне ставлення до тварин» (Гельсінкі, 2000) і Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001).

Після евтаназії плодів великої рогатої худоби розтинали черевну порожнину, виділяли порожню кишку. Відділяли брижу і визначали довжину та середину порожньої кишки, видаляли вміст, після чого відбирали частину (30 % від загальної довжини з середньої ділянки органу), яку використовували для одержання ізольованих ентероцитів. У дослідях використовували ділянку порожньої кишки раннього плодового періоду (плоди великої рогатої худоби 2–4-місячного віку) середньою довжиною 0,8 м; у пізній плодовий період (5–9-місячного віку) довжиною 1,7 м. Кишку вивертали слизовою оболонкою назовні або розрізали уздовж та ділили на невеликі сегменти по 7–10 смі ретельно промивали (4–5 разів) холодним (4–6 °С) середовищем такого складу: 120 мМ NaCl та 1 мМ HEPES за допомогою сухого трису довели рН середовища до 7,4 одиниць.

У якості прототипу виділення кишкових клітин використовували хімічний (цитрат/ЕДТА) метод, на основі якого розроблялася авторська модифікація методу¹⁷ отримання ізольованих ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби. Процес виділення ізольованих ентероцитів включав наступні етапи:

1. Промиту та вивернуту ділянку кишки поміщали в підготовлене середовище «А» (мМ: 96 NaCl; 27 натрію цитрату; 5,6 KH_2PO_4 ; 1,5 KCl) за температури 37 °С, рН середовища 7,3 одиниць (співвідношення середовища до кишечника відповідно 2 мл – 1 см) на 10 хв.

2. Середовище, разом із вмістом кишки, слизом та зруйнованими клітинами, зливали, а кишку поміщали в розчин «Б» (мМ: 140 NaCl; 16 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$; 1,5 ЕДТА; 0,5 дітіотрейтолу) на 15 хв за постійного струшування на водяній бані за температури 37 °С, рН середовища 7,0 одиниць.

3. Після завершення інкубації клітини осаджували методом центрифугування впродовж 3 хв за 500 g (2500–3000 об./хв) із дворазовим промиванням ізотонічним розчином натрію хлориду. Кінцевий осад розбавляли середовищем «Б».

Якість отриманих епітеліальних клітин оцінювали за морфологічними і функціональними показниками. Для цього застосовували такі методи: гістологічні (залиття в парафін,

¹⁷ Масюк Д. М., Цвіліховський М. І. Патент на корисну модель № 118133 Україна. G01N1/28. Спосіб фракціонування плазматичних мембран ізольованих ентероцитів. Заявник і патентовласник Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет. № u201700936; заявлено 02.02.2017; опубліковано 25.07.2017. Бюл. № 14.

фарбування гематоксиліном і еозином) для контролювання процесів виділення клітин із слизової оболонки тонкого кишечника, виявлення наявності агрегатів ентероцитів, характеристики їх структури, фарбування 0,1% розчином трипанового синього для визначення за допомогою світлової мікроскопії життєздатності ентероцитів (барвник проникав виключно в клітини, що загинули); визначення активності цитозольного ензиму лактатдегідрогенази (ЕС 1.1.1.27) в інкубаційному середовищі, як критерію цілісності плазматичної мембрани отриманих ізольованих ентероцитів тонкого кишечника; вимірювання концентрації загального білка, за методом Мюллера, на одиницю маси нативного кишечника для характеристики повноти виділення ентероцитів. Виділені клітини розфасовували в поліпропіленові флакони, позначали і зберігали в рідкому азоті за температури 196 °С упродовж 2–6 місяців для подальшого використання.

Для отримання апікальних і базолатеральних мембран із суспензії ізольованих ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби використовували методику диференціального центрифугування у власній модифікації¹⁸. Схема отримання мембранних фракцій включала наступні етапи:

1. Гомогенізація суспензії клітин у ножовому гомогенізаторі MPW-302 за швидкості обертання ножа 9,5 тис. об./хв упродовж 90 с у середовищі такого вмісту (мМ): 250 сахарози, 5 ЕДТА, 5 трис-НСІ буфер при температурі 4–6 °С, рН середовища 7,4 одиниць. Вимірювали концентрацію білка ентероцитів у середовищі гомогенізації.

2. Диференційне центрифугування за допомогою рефрижераторної ультрацентрифуги MSE High Speed 25 (Велика Британія). З метою очищення гомогенату від супутніх частин клітини та її органел (ядер, мітохондрій) і грубих мембранних фракцій його центрифугували за 10000 g упродовж 15 хв; далі проводили центрифугування супернатанту для виділення апікальної мембрани за 24000 g, а для базолатеральної – за 84000 g упродовж 60 хв кожно. Оцінку якості центрифугування проводили за активністю маркерних ензимів плазматичної мембрани ентероцитів та ступенем очистки мембранних фракцій відносно гомогенату.

3. Осади очищених фракцій апікальних і базолатеральних мембран ресуспендували у ізотонічному розчині натрію хлориду (за температури 4–6 °С, рН середовища 7,4 одиниць), які відразу використовували для дослідження поліпептидного складу або поміщали в поліпропіленові флакони і зберігали в рідкому азоті. Ступінь гомогенізації контролювали

¹⁸ Масюк Д. М., Цвіліховський М. І. Патент на корисну модель № 118136 Україна. G01N1/28, C12N5/07. Спосіб одержання ізольованих ентероцитів плодів великої рогатої худоби. Заявник і патентовласник Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет. № u201700936; заявлено 02.02.2017; опубліковано 25.07.2017. Бюл. № 14.

за допомогою мікроскопа Olimpus CH-20 у мазках, забарвлених за Романовським-Гімза, за збільшення в 1000 разів. Критерієм якості гомогенізації були наявність незруйнованих клітин (недостатня гомогенізація) чи відсутність вираженого осаду після центрифугування (10000 g) гомогенату (надмірна гомогенізація). Ефективність отримання мембранних фракцій плазмолемі ентероцитів здійснювали за вмістом у них білка. Оцінку ступеня очистки та забруднення мембранних препаратів здійснювали за активністю їх маркерних ензимів.

Дослідження вмісту і складу структурних білків плазмолемі ентероцитів проводили за допомогою методу електрофорезу у градієнтному поліакрил-амідному гелі 7–18 % за Laemmli з модифікаціями (Laemmli, 1970). Уміст концентруючого гелю: T=7–18% і C=0,8–2,5 %; 0,375 М трис-НСІ буфер (рН середовища 8,8 одиниць); 0,1 % ДСН; 0,025 % тетраетилендіаміну (ТЕМЕД); 0,025 % амонію персульфату (ПСА). У 18 % гель додавали гліцерин до кінцевої концентрації 5 % для запобігання нерівномірного набрякання гелю під час фарбування і знебарвлення та надання йому еластичності. Склад концентруючого гелю: T=4,5%, C=6%; 125 мМ трис-НСІ буфер (рН середовища 6,8 одиниць); 0,1% ДСН; 0,025% ТЕМЕД; 0,02 % ПСА.

Білкові проби вносили у буфері (рН 6,8 одиниць), що мав такий уміст: 1 М трис-НСІ, 5 % ДСН; 2% дитіотриітолу; 1 % 2-меркаптоетанолу; 30 % гліцерину; 0,001% бромфенолового синього. Загальна концентрація білка не перевищувала 100 мкг на один зразок. У якості електродного буферу використовували розчин, який містив 25 мМ трис-НСІ (рН середовища 8,3 одиниць); 0,192 М гліцину; 0,1 % ДСН. Розділення проводили за фіксованого струму і часу. Для фарбування поліпептидних зон гель фіксували упродовж 12–16 год за кімнатної температури в розчині 12, % трихлороцтової кислоти. Електрофореграми фарбували 0,1% розчином кумасі G-250, розчиненого у 50% розчині етанолу та 15% розчині оцтової кислоти протягом 12–16 год. Знебарвлення проводили у тому ж розчині, який не містив барвника. Гелі, які застосовували для імунохімічного виявлення Fc-γ-рецепторів після закінчення електрофорезу промивали у електродному буфері для вилучення надлишку ДСН.

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично: визначали середньо-арифметичну величину (M) та її похибку (m). Імовірність різниць середніх значень встановлювали за критерієм Стьюдента. Зміни показників вважали достовірними за $p \leq 0,05$ (в тому числі $p \leq 0,01$ і $p \leq 0,001$). Коефіцієнт кореляції (r) розраховували методом Пірсона за допомогою прикладного програмного комплексу «Microsoft Office Excel 2016».

У ранньому плодовому періоді (від 2- до 4-місячного віку плодів) у плазмолемі ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби

в апікальних і базолатеральних ділянках мембрани було виявлено 27 та 25 білкових фракцій, відповідно.

1.2. Динаміка концентрації поліпептидів апікальних мембран ентероцитів у ранньому плодовому періоді

За даними електрофорезу в поліакриламідному гелі в апікальних мембранах ентероцитів 2-місячних плодів великої рогатої худоби виявлено 25 білкових фракцій з молекулярними масами від 9,6 до 205 кДа (рис. 1.1). Потрібно відзначити, що більшість із виявлених білкових фракцій мають низьку та середню молекулярну масу. Зокрема, білків з молекулярними масами 9,6–14,2 кДа було $9,06 \pm 0,08\%$; 15,5 кДа – $5,91 \pm 0,05\%$; 17 кДа – $2,47 \pm 0,03\%$; 21 кДа – $5,81 \pm 0,04\%$; 22,5 кДа – $6,10 \pm 0,05\%$; 26 кДа – $5,15 \pm 0,02\%$; 29 кДа – $2,78 \pm 0,03\%$; 31 кДа – $3,28 \pm 0,02\%$; 33 кДа – $4,15 \pm 0,02\%$; 35 кДа – $6,02 \pm 0,02\%$; 37 кДа – $3,33 \pm 0,01\%$; 39 кДа – $6,04 \pm 0,02\%$. Білків з більшими молекулярними масами виявлено значно менше: 43 кДа – $3,33 \pm 0,02\%$; 46 кДа – $3,99 \pm 0,02\%$; 52 кДа – $6,16 \pm 0,03\%$; 57 кДа – $4,23 \pm 0,02\%$; 63 кДа – $4,19 \pm 0,02\%$; 72 кДа – $3,02 \pm 0,01\%$; 75 кДа – $2,77 \pm 0,01\%$; 87 кДа – $3,32 \pm 0,02\%$. Слід відзначити, що білкових фракцій з молекулярними масами 100 кДа і більше загалом виявлено лише $8,89 \pm 0,06\%$, а саме: 100 кДа – $1,15 \pm 0,01\%$; 120 кДа – $2,07 \pm 0,01\%$; 155 кДа – $2,11 \pm 0,02\%$; 170–185 кДа – $1,45 \pm 0,01\%$; 205 кДа – $2,11 \pm 0,01\%$ (рис. 1.2). Високомолекулярних білків в апікальній мембрані ентероцитів порожньої кишки 2-місячних плодів великої рогатої худоби з молекулярними масами більше 205 кДа за результатами електрофорезу виявлено не було.

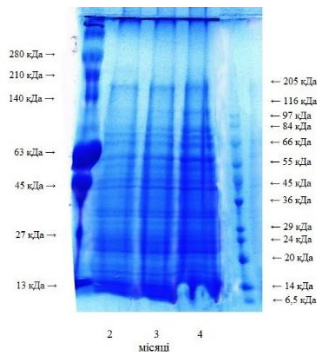


Рис. 1.1. Результати електрофорезу у градієнтному поліакриламідному гелі 7–18% апікальних мембран ентероцитів плодів великої рогатої худоби у ранньому плодовому періоді

Отже, за результатами сканування гелів та аналізу за допомогою спеціалізованого софту даних електрофорезу білків апікальних мембран ентероцитів 2-місячних плодів великої рогатої худоби виявлено 25 поліпептидних фракцій з молекулярними масами від 9,6 до 205 кДа з переважанням умісту низькомолекулярних білків.

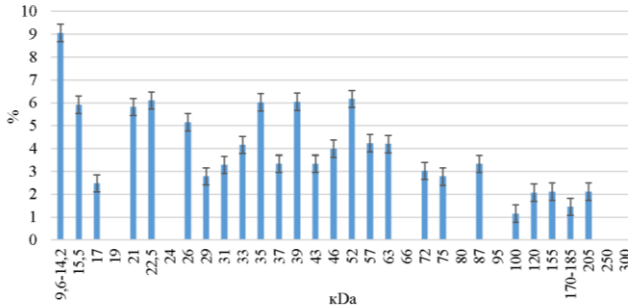


Рис. 1.2. Структурні білки апікальної мембрани ентероцитів порожньої кишки 2-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m; \%; n=6$

Потрібно відзначити, що вміст низькомолекулярних поліпептидів апікальної мембрани ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби з 2 – до 3-місячного віку істотно не змінюється (рис. 1.3). Окремо потрібно відзначити збільшення відносного вмісту білків з молекулярними масами 29 кДа (y 1,21 раз; $p \leq 0,001$) та зменшення відсотку білків з молекулярною масою 21 кДа, 26 кДа та 43 кДа у 1,27 раз; $p \leq 0,001$, 1,15 раз; $p \leq 0,01$ та 1,11 раз; $p \leq 0,05$, відповідно.

Поряд із цим, змінювалися не лише співвідношення високомолекулярних білків апікальних мембран ентероцитів порожньої кишки плодів до 3-місячного віку, але й були визначені нові поліпептидні фракції. Зокрема, в апікальних мембранах ентероцитів порожньої кишки 3-місячних плодів корів з'являються білки з молекулярними масами 250 кДа та 300 кДа $0,45 \pm 0,01\%$ та $0,88 \pm 0,01\%$, відповідно, яких не було у мембранах ентероцитів плодів 2-місячного віку. Крім цього, вміст білкових фракцій з молекулярними масами 100 кДа, 120 кДа та 155 кДа з 2– до 3-місячного віку плодів збільшується в 1,43 ($p \leq 0,001$), 1,18 ($p \leq 0,01$) та 1,61 раз ($p \leq 0,001$), відповідно. Однак, концентрація білків з молекулярними масами 170–185 кДа зменшується в 1,20 раз ($p \leq 0,001$), а 205 кДа в 1,29 раз ($p \leq 0,001$) за вказаний період досліджень.

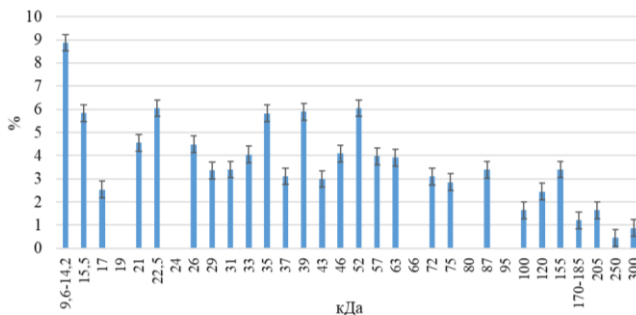


Рис. 1.3. Структурні білки апікальної мембрани ентероцитів порожньої кишки 3-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m; \% ; n=6$

Надалі, з 3- до 4-місячного віку плодів корів (рис. 1.4), відносний уміст низькомолекулярних поліпептидів з молекулярними масами 9,6–14,2 кДа в апікальній мембрані ентероцитів порожньої кишки істотно зменшується (в 1,34 раза; $p \leq 0,001$), тоді як вміст білків з молекулярною масою 17 кДа збільшується в 1,62 раза ($p \leq 0,001$).

Виділяємо також достовірне зменшення відсотку білків з молекулярними масами 22,5 кДа (в 1,09 раза; $p \leq 0,05$), 75 кДа (в 1,18 раза; $p \leq 0,01$), 120 кДа (в 1,14 раза; $p \leq 0,01$) та 300 кДа (в 1,16 раза; $p \leq 0,01$). Очевидно, що зменшення частини цих білків у апікальній мембрані ентероцитів плодів відбувається за рахунок зростання відсотку поліпептидів з молекулярними масами 37 кДа (в 1,22 раза; $p \leq 0,001$), 87 кДа (в 1,18 раза; $p \leq 0,01$) та 100 кДа (у 1,13 раза; $p \leq 0,05$).

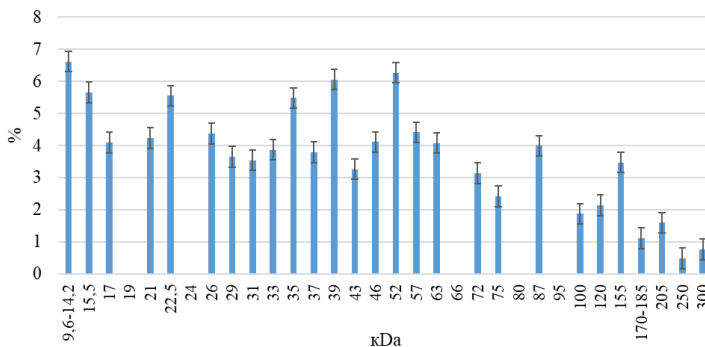


Рис. 1.4. Структурні білки апікальної мембрани ентероцитів порожньої кишки 4-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m; \% ; n=6$

Отже, за даними електрофорезу білків в апікальних мембранах ентероцитів плодів великої рогатої худоби у ранній плодовий період розвитку вказує на динамічні зміни їх поліпептидного складу. Зокрема, в апікальних мембранах ентероцитів відбувається деяке зменшення вмісту низькомолекулярних білкових фракцій та збільшення – високомолекулярних. Крім цього, з 3-місячного віку плодів з'являються високомолекулярні фракції поліпептидів з молекулярними масами 250 кДа та 300 кДа, які в апікальних мембранах ентероцитів 2-місячних плодів були відсутні.

1.3. Динаміка концентрації поліпептидів базолатеральних мембран ентероцитів у ранньому плодовому періоді

У базолатеральних мембранах ентероцитів порожньої кишки 2-місячних плодів великої рогатої худоби виявлено 23 білкових фракції з молекулярними масами від 9,6 до 120 кДа (рис. 1.5). Окремо, потрібно відзначити відсутність поліпептидних фракцій з молекулярними масами 22,5 кДа, 37 кДа, 155 кДа та 170–185 кДа, які наявні в апікальних мембранах цих ентероцитів. Натомість у базолатеральній мембрані ентероцитів наявні білки з молекулярними масами 19 кДа, 24 кДа та 66 кДа.

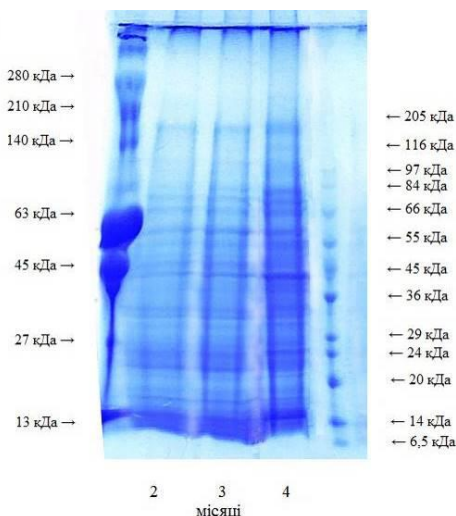


Рис. 1.5. Результати електрофорезу у градієнтному поліакриламідному гелі 7–18% базолатеральних мембран ентероцитів плодів великої рогатої худоби у ранньому плодовому періоді

Більшість з виявлених білкових фракцій мають низьку та середню молекулярну масу (9,6–39 кДа – 59,1%). Так, білків з молекулярними масами 9,6–14,2 кДа було $5,81 \pm 0,04\%$; 15,5 кДа – $12,20 \pm 0,11\%$; 17 кДа – $8,94 \pm 0,09\%$; 19 кДа – $2,64 \pm 0,03\%$; 21 кДа – $5,99 \pm 0,06\%$; 24 кДа – $6,00 \pm 0,05\%$; 26 кДа – $5,43 \pm 0,03\%$; 29 кДа – $3,77 \pm 0,03\%$; 31 кДа – $3,03 \pm 0,02\%$; 33 кДа – $4,69 \pm 0,04\%$; 35 кДа – $3,57 \pm 0,02\%$; 39 кДа – $4,05 \pm 0,03\%$. Білків з молекулярними масами від 40 до 100 кДа виявлено лише 36,1%, серед яких: 43 кДа – $4,89 \pm 0,02\%$; 46 кДа – $3,05 \pm 0,02\%$; 52 кДа – $1,20 \pm 0,01\%$; 57 кДа – $5,71 \pm 0,04\%$; 63 кДа – $5,98 \pm 0,03\%$; 66 кДа – $5,98 \pm 0,03\%$; 69 кДа – $3,79 \pm 0,02\%$; 72 кДа – $3,33 \pm 0,03\%$; 75 кДа – $2,55 \pm 0,03\%$; 87 кДа – $3,47 \pm 0,03\%$. Слід відзначити, що білкових фракцій з молекулярними масами 100 кДа і більше виявлено в сумі лише 5,91%: 100 кДа – $2,15 \pm 0,01\%$ та 120 кДа – $3,76 \pm 0,03\%$ (рис. 1.6). Високомолекулярних білків у базолатеральній мембрані ентероцитів порожньої кишки 2-місячних плодів великої рогатої худоби з молекулярними масами більше 120 кДа за результатами електрофорезу, на відміну від апікальної мембрани, виявлено не було.

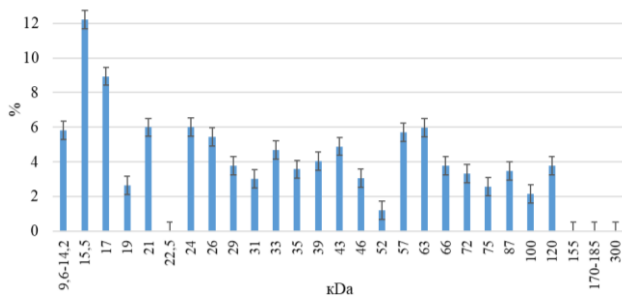


Рис. 1.6. Структурні білки базолатеральної мембрани ентероцитів порожньої кишки 2-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m$; %; $n=6$

Уміст поліпептидів базолатеральної мембрани ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби з 2– до 3-місячного віку зазнає деяких змін, однак вони стосуються лише кількісного вмісту, тоді, як їх якісний склад достовірно не змінюється (рис. 1.7). Слід відзначити збільшення у базолатеральній мембрані ентероцитів до 3-місячного віку плодів великої рогатої худоби відсотку білків з молекулярними масами 46 кДа та 52 кДа в 1,16 ($p \leq 0,001$) та 2,08 рази ($p \leq 0,001$), відповідно, порівняно з цими показниками 2-місячних плодів. Причём, відбувається зменшення вмісту білків з молекулярними масами 15,5 кДа в 1,35 рази ($p \leq 0,001$), 24 кДа в 1,15 рази ($p \leq 0,001$), 29 кДа в 1,30 рази ($p \leq 0,001$),

39 кДа в 1,27 раза ($p \leq 0,001$), 63 кДа в 1,17 раза ($p \leq 0,01$), 72 кДа в 1,18 раза ($p \leq 0,01$) та 75 кДа в 1,25 раза ($p \leq 0,001$).

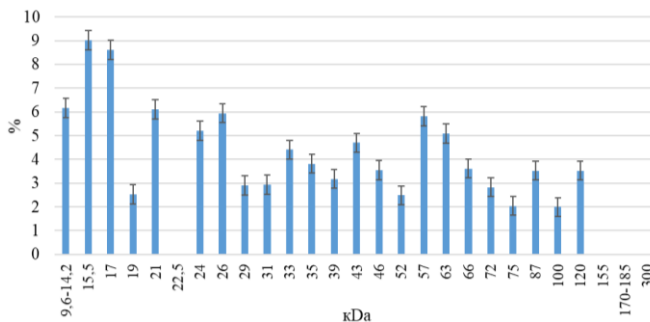


Рис. 1.7. Структурні білки базолатеральної мембрани ентероцитів порожньої кишки 3-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m; \%$; $n=6$

У ході подальшого розвитку, з 3- до 4-місячного віку плодів великої рогатої худоби, змінюються не лише співвідношення високомолекулярних білків базолатеральних мембран ентероцитів, але і з'являються нові поліпептидні фракції (рис. 1.8). Так, у базолатеральних мембранах ентероцитів порожньої кишки 4-місячних плодів великої рогатої худоби, з'являються білки з молекулярними масами 22,5 кДа – $4,55 \pm 0,05\%$ та 155 кДа – $0,43 \pm 0,02\%$.

Потрібно, крім іншого, відзначити достовірне збільшення у базолатеральних мембранах ентероцитів із 3– до 4-місячного віку плодів білкових фракцій з молекулярними масами 19 кДа, 29 кДа та 31 кДа в 1,10 ($p \leq 0,05$), 1,14 ($p \leq 0,01$) та 1,27 раза ($p \leq 0,001$), відповідно. Поряд із цим, у вказаний період досліджень відбувається зменшення у базолатеральній мембрані ентероцитів умісту білків з молекулярними масами 15,5 кДа в 1,33 ($p \leq 0,001$), 17 кДа в 1,21 ($p \leq 0,001$), 24 кДа в 1,17 ($p \leq 0,01$), 35 кДа в 1,15 ($p \leq 0,01$), 39 кДа в 1,24 ($p \leq 0,001$), 43 кДа в 1,11 ($p \leq 0,05$), 72 кДа в 1,13 ($p \leq 0,05$), 87 кДа в 1,30 раза ($p \leq 0,001$).

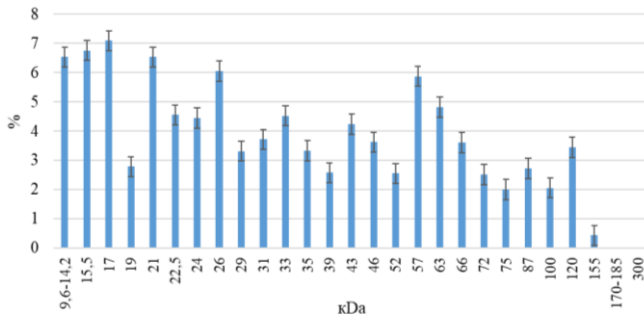


Рис. 1.8. Структурні білки базолатеральної мембрани ентероцитів порожньої кишки 4-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m$; %; $n=6$

Отже, аналіз результатів досліджень білків базолатеральних мембран ентероцитів порожньої кишки великої рогатої худоби в ранньому плодовому періоді розвитку вказує на динамічні зміни їх фракційного складу. В базолатеральних мембранах ентероцитів відбувається зменшення вмісту низькомолекулярних білкових фракцій та, з 4-місячного віку плодів великої рогатої худоби з'являються високомолекулярні фракції поліпептидів з молекулярними масами 22,5 кДа та 155 кДа, які відсутні в базолатеральних мембранах ентероцитів 2– та 3-місячних плодів великої рогатої худоби.

2. Відношення вмісту окремих структурних білків на різних полюсах плазмолемі ентероцитів у ранньому плодовому періоді

Динаміка відношень умісту окремих білкових фракцій в апікальній та базолатеральній мембрані ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби протягом раннього плодового періоду істотно змінюється. Це вказує на інтенсивність механізму дозрівання та формування полярих клітин у відповідні стадії плодового періоду. Як зазначалось раніше, на окремих полюсах плазмолемі ентероцитів уміст поліпептидів неоднаковий.

У 2-місячних плодів у апікальній мембрані ентероцитів відсутні білки з молекулярними масами 19 кДа, 24 кДа та 66 кДа, тоді, як у базолатеральній мембрані відсутні білки з молекулярними масами 22,5 кДа, 155 кДа, 170–185 кДа та 205 кДа. Хоча решта фракцій поліпептидів на різних полюсах плазмолемі ентероцитів є однаковими за молекулярними масами, їх уміст в апікальній і базолатеральній мембранах істотно різниться (рис. 1.9).

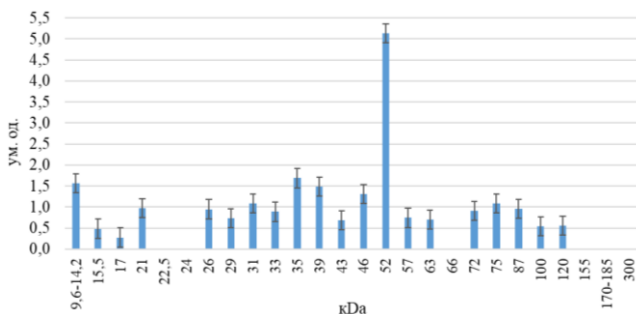


Рис. 1.9. Відношення умісту структурних білків на різних полюсах плазмолемі ентероцитів у 2-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m$; ум. од.; $n=6$

У апікальній мембрані ентероцитів достовірно більший уміст білків з низькими молекулярними масами 9,6–14,2 кДа (в 1,56 раза; $p \leq 0,001$), тоді, як у базолатеральній мембрані достовірно більший уміст білків з молекулярними масами 15,5 кДа (в 2,06 раза; $p \leq 0,001$) та 17 кДа (в 3,62 раза; $p \leq 0,001$).

Потрібно відзначити, що в базолатеральній мембрані ентероцитів, порівняно з апікальною, більший відносний уміст білків з молекулярними масами 29 кДа (в 1,36 раза; $p \leq 0,001$), 33 кДа (в 1,13 раза; $p \leq 0,01$), 43 кДа (в 1,47 раза; $p \leq 0,001$), 57 кДа (в 1,35 раза; $p \leq 0,001$), 63 кДа (в 1,43 раза; $p \leq 0,001$), 72 кДа (в 1,10 раза; $p \leq 0,05$), 100 кДа (в 1,87 раза; $p \leq 0,001$) та 120 кДа (в 1,82 раза; $p \leq 0,001$). Натомість, в апікальній мембрані ентероцитів порожньої кишки 2-місячних плодів великої рогатої худоби достовірно більший уміст білків з молекулярними масами 35 кДа (в 1,69 раза; $p \leq 0,001$), 39 кДа (в 1,49 раза; $p \leq 0,001$), 46 кДа (в 1,31 раза; $p \leq 0,001$) та 52 кДа (в 5,13 раза; $p \leq 0,001$).

Результати проведеного дослідження довели, що з 2– до 3-місячного віку плодів великої рогатої худоби відбувається певна зміна розподілу поліпептидних фракцій між різними полюсами поліпептидів і лише відсоток поліпептидів з молекулярними масами 87 кДа та 33 кДа достовірно не різняться на різних полюсах мембран ентероцитів (рис. 1.10).

Так, на апікальній мембрані ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби до 3-місячного віку збільшується уміст білків з молекулярними масами 75 кДа, 39 кДа та 31 кДа, і стає більше в 1,40 ($p \leq 0,001$), 1,85 ($p \leq 0,001$) та в 1,16 раза ($p \leq 0,001$), відповідно, від такого в базолатеральній мембрані цих клітин. Відсоток білків з молекулярними масами 15,5 кДа, 100 кДа та 120 кДа хоча і збільшується в апікальній мембрані, однак залишається достовірно меншим від такого

в базолатеральній мембрані в 1,55 ($p \leq 0,001$), 1,21 ($p \leq 0,001$) та 1,44 рази ($p \leq 0,001$), відповідно.

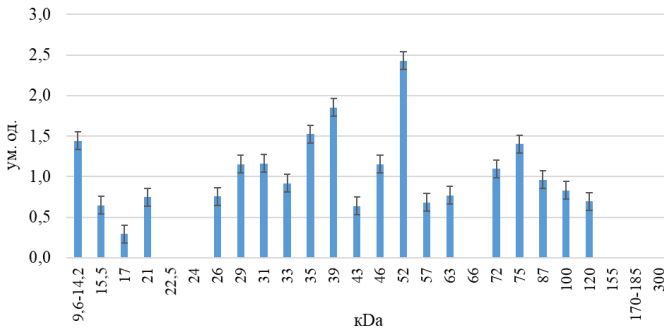


Рис. 1.10. Відношення вмісту структурних білків на різних полюсах мембран ентероцитів у 3-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m; \%$; $n=6$

Поряд із цим, вміст поліпептидних фракцій в апікальній мембрані ентероцитів 3-місячних плодів з молекулярними масами 9,6–14,2 кДа, 35 кДа достовірно не змінюється і залишається більшим у 1,44 ($p \leq 0,001$) та в 1,52 рази ($p \leq 0,001$), відповідно, до такого в базолатеральній мембрані. Варто відзначити, що вміст білкових фракцій з молекулярними масами 29 кДа та 72 кДа у 2-місячному віці плодів переважав на базолатеральній мембрані ентероцитів, тоді як, у плодів 3-місячного віку вміст цих білків був вже більшим в 1,15 ($p \leq 0,05$) та 1,10 рази ($p \leq 0,05$) в апікальній мембрані ентероцитів, відповідно.

У базолатеральній мембрані ентероцитів вміст поліпептидних фракцій з молекулярними масами 17 кДа, 43 кДа, 57 кДа та 63 кДа з 2- до 3-місячного віку плодів великої рогатої худоби достовірно не змінюється, однак залишається більшим у 3,40 ($p \leq 0,001$), 1,57 ($p \leq 0,001$), 1,47 ($p \leq 0,001$) та 1,30 рази ($p \leq 0,001$), відповідно, порівняно з показниками вмісту цих поліпептидів у апікальній мембрані ентероцитів. Незважаючи на те, що вміст білкових фракцій з молекулярними масами 21 кДа та 26 кДа на різних полюсах плазмолемі ентероцитів 2-місячних плодів достовірно не відрізнявся, доведено, що в 3-місячному віці плодів відносний вміст цих білків стає достовірно більшим в 1,32–1,34 рази ($p \leq 0,001$) на базолатеральній мембрані.

У базолатеральній мембрані ентероцитів порожньої кишки 4-місячних плодів великої рогатої худоби з'являються білки з молекулярними масами 22,5 кДа та 155 кДа, однак їх вміст більший у 1,22 ($P \leq 0,001$) та 8,07 рази ($p \leq 0,001$) в апікальній мембрані ентероцитів (рис. 1.11). Уміст

поліпептидних фракцій в апікальній мембрані ентероцитів 4-місячних плодів з молекулярними масами 29 кДа, 35 кДа, 39 кДа, 46 кДа, 52 кДа, 72 кДа та 75 кДа істотно не змінюється і залишається більшим у 1,10 ($p \leq 0,05$), 1,65 ($p \leq 0,001$), 2,36 ($p \leq 0,001$), 1,14 ($p \leq 0,01$), 2,46 ($p \leq 0,001$), 1,25 ($p \leq 0,001$) та 1,21 рази ($p \leq 0,001$) за такої у базолатеральній мембрані. Потрібно відзначити, що хоча концентрація білкових фракцій з молекулярними масами 9,6–14,2 кДа та 31 кДа у 3-місячному віці плодів переважає на апікальній мембрані, згодом, у плодів 4-місячного віку відносний уміст цих фракцій достовірно не відрізняється на різних полюсах плазмолемі ентероцитів.

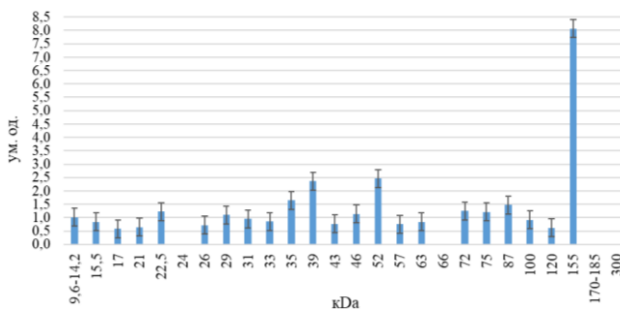


Рис. 1.11. Відношення вмісту структурних білків на різних полюсах мембран ентероцитів у 4-місячних плодів великої рогатої худоби, $M \pm m$; %; $n=6$

У базолатеральній мембрані ентероцитів плодів великої рогатої худоби вміст поліпептидних фракцій з молекулярними масами 15,5 кДа, 17 кДа, 43 кДа, 21 кДа, 26 кДа, 43 кДа, 57 кДа, 63 кДа 100 кДа та 120 кДа з три– до 4-місячного віку істотно не змінюється, однак залишається більшим у 1,20 ($p \leq 0,001$), 1,73 ($p \leq 0,001$), 1,54 ($p \leq 0,001$), 1,38 ($p \leq 0,001$), 1,30 ($p \leq 0,001$), 1,33 ($p \leq 0,001$), 1,18 ($p \leq 0,01$), 1,10 ($p \leq 0,05$) та 1,61 рази ($p \leq 0,001$), відповідно, до цих показників у апікальній мембрані ентероцитів. Показово, що вміст білкових фракцій із молекулярною масою 22,5 кДа в апікальній і базолатеральній мембранах ентероцитів 3-місячних плодів великої рогатої худоби достовірно не відрізняється, однак уже в 4-місячному їх віці достовірно більшим у 1,17 рази ($p \leq 0,05$) на базолатеральній мембрані клітин.

ВИСНОВКИ

У ранній плодовий період великої рогатої худоби визначені динамічні зміни білкового складу апікальних і базолатеральних мембран ентероцитів порожньої кишки. Так, у 2-місячних плодів мембранні білки характеризуються на апікальній мембрані – 25 білкових фракцій з молекулярною масою від 9,6 до 205 кДа; на базолатеральній мембрані –

23 білкові фракції з молекулярною масою від 9,6 до 120 кДа; в апікальних мембранах наявні поліпептидні фракції з молекулярною масою 22,5 кДа, 37, 155 та 170–185 кДа, що відсутні у базолатеральних мембранах, і, навпаки, – в базолатеральних мембранах наявні білки з молекулярною масою 19 кДа, 24 та 66 кДа, що відсутні в апікальних мембранах. У ранній плодовий період відбуваються динамічні зміни поліпептидного складу апікальних та базолатеральних мембран ентероцитів плодів великої рогатої худоби, зокрема, змінюється їх співвідношення та перерозподіл між полюсами цих клітин. В апікальних мембранах ентероцитів у 3-місячних плодів великої рогатої худоби ідентифіковані високомолекулярні фракції поліпептидів з молекулярною масою 250 та 300 кДа. В базолатеральній мембрані ентероцитів 4-місячних плодів зменшується вміст низькомолекулярних білкових фракцій та з'являються високомолекулярні поліпептиди з молекулярною масою 155 кДа.

АНОТАЦІЯ

Розвиток функцій кишечника обумовлений динамічною експресією відповідних мембранних білків епітеліальних клітин, які забезпечують одночасно транспорт поживних речовин та міцність інтестинального бар'єру. Бар'єрна функція кишечника регулюється вмістом білків міжклітинної адгезії епітеліоцитів. Порушення щільності інтестинального бар'єру спричиняє проникнення широкого кола мікроорганізмів, включаючи ентеропатогенні збудники. Для оцінки бар'єрної функції кишечника пропонується визначення вмісту молекулярних маркерів міжклітинної адгезії ентероцитів, екстрацелюлярного матриксу, а також, продукція цитокінів та маркерів програмованої загибелі клітин. Комплексна оцінка вмісту молекулярних маркерів функціонального стану інтестинальної системи використовується як для вивчення механізмів патогенезу, так і для з'ясування можливостей кишечника забезпечувати надійний бар'єр. Незважаючи на значний прогрес у вивченні корисних для інтестинальної системи властивостей жирних кислот, залишаються нерозкритими молекулярні та клітинні механізми їх дії як на бар'єрну функцію кишечника, так і складові цієї фундаментальної для забезпечення здоров'я функції. Таким чином, розуміння молекулярних механізмів дії розвитку функцій кишечника в онтогенезі дозволить розробити ефективну стратегію підтримки здоров'я кишечника продуктивних тварин та засоби ефективного тваринництва відповідно сучасним вимогам у країнах Європи.

Література

1. Duque-Correa M.J., Codron D., Meloro C., McGrosky A., Schiffmann C., Edwards M.S., Clauss M. Mammalian intestinal allometry,

phylogeny, trophic level and climate. *Proc Biol Sci.* 2021. Vol. 10, № 288(1944). P.20202888. doi: 10.1098/rspb.2020.2888.

2. Frazer L.C., Good M. Intestinal epithelium in early life. *Mucosal Immunol.* 2022. Vol. 15, №6. P. 1181-1187. doi: 10.1038/s41385-022-00579-8.

3. Sugiharto S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *J Saudi Soc Agric Sci.* 2016. Vol. 15. P. 99–111 <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.06.001>

4. Mitson-Salazar A., Medzhitov R. Environmental sensing mechanisms in intestinal homeostasis. *J Allergy Clin Immunol.* 2022 Vol. 150, №3. P. 577-579. doi: 10.1016/j.jaci.2022.06.019.

5. Suzuki T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. *Anim Sci J.* 2020. Vol. 91, №1. e13357. doi: 10.1111/asj.13357.

6. González-González M., Díaz-Zepeda C., Eyzaguirre-Velásquez J., González-Arancibia C., Bravo J.A., Julio-Pieper M. Investigating Gut Permeability in Animal Models of Disease. *Front Physiol.* 2019. Vol. 15, № 9. P. 1962. doi: 10.3389/fphys.2018.01962

7. Krstić Ristivojević M., Apostolović D., Smiljanić K. Enterocytes in Food Hypersensitivity Reactions. *Animals (Basel).* 2021. Vol. 11, №9. P. 2713. doi: 10.3390/ani11092713.

8. Miron N., Cristea V. Enterocytes: active cells in tolerance to food and microbial antigens in the gut. *Clin Exp Immunol.* 2012. Vol. 167, №3. P. 405-412. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04523.x.

9. Shaykhiev R., Bals R. Interactions between epithelial cells and leukocytes in immunity and tissue homeostasis. *J Leukoc Biol.* 2007. Vol. 82, №1. P. 1-15. doi: 10.1189/jlb.0207096.

10. St Johnston D., Sanson B. Epithelial polarity and morphogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* 2011. Vol. 23, №5. P. 540-546. doi: 10.1016/j.ceb.2011.07.005.

11. Yanaka S., Yogo R., Inoue R., Sugiyama M., Itoh S.G., Okumura H., Miyanoiri Y., Yagi H., Satoh T., Yamaguchi T., Kato K. Dynamic Views of the Fc Region of Immunoglobulin G Provided by Experimental and Computational Observations. *Antibodies (Basel).* 2019. Vol. 8, №3. P. 39. doi: 10.3390/antib8030039.

12. Nelson W. James Remodeling Epithelial Cell Organization: Transitions Between Front Rear and Apical–Basal Polarity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009. Available from: doi:0.1101/cshperspect.a000513.

13. Rodriguez-Boulan E., Powell S.K. Polarity of epithelial and neuronal cells. *Annu Rev Cell Biol.* 1992. Vol. 8. P. 395-427. doi: 10.1146/annurev.cb.08.110192.002143.

14. Buczacki S. J. A., Zecchini H. I., Nicholson A. M., Russell R., Vermeulen L., Kemp R., Douglas J. Winton Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing Lgr5. *Nature.* 2013. Vol. 495. P. 65–69. <https://doi.org/10.1038/nature11965>

15. Delacour D., Cramm-Behrens C.I., Drobecq H., Le Bivic A., Naim H.Y., Jacob R. Requirement for galectin-3 in apical protein sorting. *Curr Biol*. 2006. Vol. 16, №4. P. 408-414. doi: 10.1016/j.cub.2005.12.046.

16. Rodriguez-Boulan E., Kreitzer G., Müsch A. Organization of vesicular trafficking in epithelia. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005. Vol. 6, № 3. P. 233-247. doi: 10.1038/nrm1593.

17. Масюк Д. М., Цвіліховський М. І. Патент на корисну модель № 118133 Україна. G01N1/28. Спосіб фракціонування плазматичних мембран ізольованих ентероцитів. Заявник і патентовласник Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет. № u201700936; заявлено 02.02.2017; опубліковано 25.07.2017. Бюл. № 14.

18. Масюк Д. М., Цвіліховський М. І. Патент на корисну модель № 118136 Україна. G01N1/28, C12N5/07. Спосіб одержання ізольованих ентероцитів плодів великої рогатої худоби. Заявник і патентовласник Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет. № u201700936; заявлено 02.02.2017; опубліковано 25.07.2017. Бюл. № 14.

Information about the authors:

Masiuk Dmytro Mykolayovych,

Doctor of Veterinary Sciences, Professor
Head of the Department of Physiology,
Animal Biochemistry and Laboratory Diagnostics,
Dnipro State Agrarian and Economic University,
25, Serhiia Yefremova str., Dnipro, 49600, Ukraine

Nedzvetsky Victor Stanislavovych,

Doctor of Biological Sciences, professor
Vice-director of Scientific Research Center of Biosafety and
Environmental Control Agro-Industrial Complex,
Dnipro State Agrarian and Economic University,
25, Serhiia Yefremova str., Dnipro, 49600, Ukraine

Kokariiev Andrii Viktorovych,

Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor,
Head of the Department of Immunochemical
and Molecular Genetic Analysis,
Scientific Research Center of Biosafety
and Environmental Control Agro-Industrial Complex,
Dnipro State Agrarian and Economic University,
25, Serhiia Yefremova str., Dnipro, 49600, Ukraine