



УКРАЇНА

(19) UA (11) 97038 (13) C2  
(51) МПК  
G01N 1/28 (2006.01)  
C12N 5/07 (2010.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ АБСОРБЦІЙНИХ ЕНТЕРОЦИТІВ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ ПТИЦІ ХІМІЧНИМ МЕТОДОМ

1

(21) а201009170

(22) 21.07.2010

(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл.№ 24, 2011 р.

(72) БУГАЙ АНДРІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ЦВІЛІХОВСЬКИЙ МИКОЛА ІВАНОВИЧ, БЕРЕЗА ВОЛОДИМИР ІЛІЧ, ДУЛЬНЄВ ПЕТРО ГЕОРГІЙОВИЧ

(73) ДУЛЬНЄВ ПЕТРО ГЕОРГІЙОВИЧ

(56) Barfull A, Garriga C, Mitjans M, Planas JM Ontogenetic expression and regulation of Na(+)-D-glucose cotransporter in jejunum of domestic chicken // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002 Mar;282(3):G559-64

Mac Donal O, Chediack JG, Caviedes-Vidal E. Isolation of epithelial cells, villi and crypts from small intestine of pigeons (*Columba livia*) // Biocell. 2008 Dec;32(3):219-27

Uni Z, Platin R, Sklan D. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus // J Comp Physiol B. 1998 May;168(4):241-7

Garriga C, Moreto M, Planas JM. Hexose transport in the apical and basolateral membranes of enterocytes in chickens adapted to high and low NaCl intakes // J Physiol. 1999 Jan 1;514 ( Pt 1):189-99

2

Coletto R, Bolufer J, Vazquez CM Taurocholate transport by brush border membrane vesicles from different regions of chicken intestine // Poult Sci. 1998 Apr;77(4):594-9

(57) Спосіб одержання абсорбційних ентероцитів порожньої кишки птиці, який **відрізняється** тим, що спочатку видаляють порожню кишку птиці, промивають її фізіологічним розчином NaCl-HEPES при pH 7,4 для видалення вмісту, після чого відділяють порожню кишку від брижі, визначають її загальну довжину, знаходять середину, від якої відміряють рівновіддалені точки у краніальному та каудальному напрямках та відрізають ділянку кишки, довжина якої складає третину від загальної, яку потім розрізають на фрагменти по 2-3 см, та розтинають вздовж, після чого підготовлені відрізки порожньої кишки інкубують протягом 20 хв. в розчині такого складу (мМ/л): NaCl – 80,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 3, тріс-HCl – 20, маніт – 37, ЕГТО – 0,1, натрію цитрат – 27, сироватковий альбумін – 1 мг/мл при 37 °C, при pH 7,4, при співвідношенні середовище інкубації/кишечник – 2 мл/г; після завершення інкубації ізольовані клітини із середовища осаджують центрифугуванням впродовж 3 хв. при 500 g із дворазовим промиванням розчином інкубації.

Винахід належить до галузі ветеринарії, зокрема до виділення абсорбційних клітин зі слизової оболонки порожньої кишки птиці як матеріалу для вивчення транспортних процесів.

Спосіб застосування заявлюваної схеми в літературі не описано.

Аналоги заявлюваної схеми відсутні, тому при пошуку і розробці ефективної методики виділення абсорбційних клітин курчат контролем-еталоном була методика виділення загальної фракції кишкових епітеліоцитів хімічним (цитрат/етилендіамінтетраоцтова кислота) методом. Вказана схема включає в себе такі етапи:

1) промивання ділянки порожньої кишки фізіологічним розчином (NaCl-HEPES, pH 7,4);

2) витримка промитої ділянки порожньої кишки 10 хв. в середовищі "А" такого складу (мМ): NaCl – 96; KCl – 1,5, натрію цитрату – 27; дигідрофосфату калію – 5,6, при 37°C, pH 7,3 (співвідношення середовище/кишечник – 2 мл/1 г);

3) витримка підготовленої ділянки порожньої кишки 15 хв. при постійному струшуванні в розчині "Б" такого складу (мМ): NaCl – 140; дигідрофосфат натрію – 16; етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТО) – 1,5; дитіотреїтол – 0,5, pH розчину "Б" 7,3, температура 37°C, співвідношення середовища до кишечника – 2 мл/1 г.

Після завершення інкубації ізольовані епітеліоцити порожньої кишки осаджують центрифугуванням впродовж 3 хв. при 500 g з дворазовою промивкою розчином „Б”.

(13) C2

(11) 97038

(19) UA

До основних недоліків даного способу виділення ентероцитів порожньої кишки належить отримання всіх клітин зі слизового шару порожньої кишки (власне ентероцити, слизові клітини, М-клітини, ентероендокринні клітини тощо), а також клітин з власної пластинки ворсинок порожньої кишки (фібробласти, лейкоцити, тощо). Також слід зазначити, що використання ЕДТО призводить до незворотної втрати транспортної функції плазмолемі, що унеможливорює вивчення транспортних процесів.

В основу винаходу поставлена задача створення ефективної схеми виділення фракції абсорбційних ентероцитів хімічним методом зі збереженням їх транспортних властивостей.

Поставлена задача досягається за рахунок застосування як хелатуючого агента етиленглікольдіамінтетраоцтова кислота (ЕГТО), скорочення часу інкубації відрізків порожньої кишки в розчині хелатуючого агента під контролем біохімічних та морфологічних критеріїв.

Для кращого розуміння опису матеріалів заявки наводиться конкретний приклад.

Приклад 1. Одержання ізольованих абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів для вивчення транспортних властивостей їх плазмолемі.

Об'єктом дослідження були курчата-бройлери кросу "Конкурент-3" 14-добового віку, які утримувались у клітках з 1-добового віку на збалансованому за всіма показниками раціоні, який змінювався згідно технологічного графіку. Евтаназію курчат проводили шляхом декапітації, вранці, без попереднього голодування, після чого видаляли порожню кишку, промивали її фізіологічним розчином (NaCl-HEPES, pH 7,4) для видалення вмісту. Для виділення ентероцитів порожню кишку відділяли від брижі, визначали її загальну довжину, знаходили середину, від якої відміряли рівновіддалені точки у краніальному та каудальному напрямках та відрізали ділянку кишки. При цьому довжина кишки складала третину від загальної. Отриману ділянку кишки розрізали на фрагменти по 2-3 см та розтинали вздовж. Підготовлені відрізки порожньої кишки інкубували протягом 90 хв. в розчині такого складу (мМ): NaCl - 80;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 3; тріс-НСІ - 20; маніт - 37; ЕГТО - 0,1; натрію цитрат -27; сироватковий альбумін - 1 мг/мл при 37 °С, pH 7,4 (співвідношення середовище інкубації/кишечник - 2мл/г). Після завершення інкубації ізольовані клітини із середовища осаджували центрифугуванням впродовж 3 хв. при 500 g із дворазовим промиванням розчином інкубації.

Результати досліджень показали, що виділення ентероцитів зі слизової оболонки курчат-бройлерів у середовище інкубації впродовж всього періоду спостереження відбувається нерівномірно (табл. 1). Це свідчить про різні властивості клітин та наявність осі «ворсинки-крипти». Так, на 5-й та 10-й хвилині інкубації відрізків порожньої кишки в середовищі виділення інтервальний та відсотковий вихід білку ентероцитів майже не відрізнявся, а на 20-у хвилину збільшився у 2,2 рази ( $P < 0,05$ ). При цьому, у період з 10-ї по 20-у хвилини інкубації виділилось 18 % від загальної кількості всіх

ентероцитів порожньої кишки, що є найбільшим значенням за весь період спостереження.

На 30-й хвилині інкубації відрізків порожньої кишки, незважаючи на збільшення концентрації білка ентероцитів в середовищі виділення, інтервальний та відсотковий вихід білка цих клітин зменшився на 39 % ( $P < 0,05$ ). Подібне явище ми пов'язуємо з більшою адгезивною здатністю базолатеральної мембрани ентероцитів цієї фракції. На 40-й хвилині інкубації відрізків порожньої кишки відмічалось невірогідне підвищення всіх показників, які характеризують вихід ентероцитів. Надалі, вихід білка ентероцитів на 50-у та 60-у хвилини інкубації невірогідно знижувався. При цьому, у проміжок часу від 50-ї до 60-ї хвилини він був мінімальний за весь період спостереження ( $4,27 \pm 0,10$  мг/г нативного кишечника). На 70-у хвилину інкубації відрізків порожньої кишки вихід ентероцитів збільшився, в порівнянні з показником попереднього часового інтервалу, у 2,7 рази ( $P < 0,05$ ). Надалі, до 90 хв., вихід білка ентероцитів знижувався, при чому на 90-у хвилину він склав лише  $1,04 \pm 0,24$  мг/г нативного кишечника, що схоже з показниками, отриманими на 60-у хвилину.

Таким чином, динаміка відшарування ентероцитів зі слизової оболонки порожньої кишки курчат-бройлерів характеризується нерівномірністю з наявністю 3-х піків максимуму - на 20-у, 40-у та 70-у хвилини та мінімуму - на 60-у та 90-у хвилини.

З метою контролю за чистотою одержаних у процесі виділення фракцій клітин, а також їх функціональної характеристики, використовується визначення активності маркерних ферментів зрілих абсорбційних ентероцитів - лужної фосфатази (ЛФ), сахарази (Сах), амінопептидази (АП). Проте, вірогідні маркерні властивості має не показник окремого ферменту, а їх поєднання. Це зумовлено зміною ферментативного спектру плазмолемі абсорбційних ентероцитів при їх подальшій диференціації, а отже і міграції у напрямку до верхівки ворсинки. В цьому ракурсі додаткову складність щодо валідації маркерних показників абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів має диференціація ентероцитів не лише у криптах, а й відсутність змін активності ЛФ у осі «ворсинки-крипти». Тому ми досліджували показники активності ЛФ та Сах гомогенату ентероцитів, які виділялись в інкубаційне середовище у вказані часові параметри.

Так, кумулятивна активність ЛФ знижувалась впродовж всього терміну виділення клітин слизової оболонки порожньої кишки курчат-бройлерів (рис. 1), що може вказувати на зниження ступеня диференціації ентероцитів у осі «ворсинки-крипти». Окремо слід виділити значне зниження цього показнику на 10-й хвилині інкубації - у 4,2 рази ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з 5-ю хвилиною інкубації та підвищення на 20-й хвилині інкубації - на 7% ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з 10-ю хвилиною.

Динаміка інтервальної активності ЛФ характеризується поступовим зниженням від 5-ї до 90-ї хвилин інкубації відрізків порожньої кишки з наявністю 3-х піків максимуму: на 5-у, 20-у та 40-у хвилини (див. рис. 1). Оскільки ЛФ тонкого кишечника локалізується не тільки в плазмолемі, а й в ендоп-

лазматичній сітці, ми вважаємо, що основним джерелом ферменту є лізовані диференційовані ентероцити, які розташовані на верхівці ворсинок і часто знаходяться в стані апоптозу.

На 10-й хвилині інкубації відрізків порожньої кишки курчат-бройлерів інтервальна активність ЛФ знизилась у 4,2 рази ( $P < 0,05$ ), а на 20-у хвилину - підвищилась майже у 3,0 рази ( $P < 0,05$ ). Ми вважаємо, що саме за 20 хв. інкубації відбувається відшарування основної маси абсорбційних ентероцитів, які розташовані у верхній третині ворсинок. Аналогічна локалізація ЛФ встановлена за допомогою гістохімічних методик у дванадцятипалій кишці курей.

На 30-й хвилині інкубації інтервальна активність ЛФ знизилась на 44 % ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з 20-ю хвилиною інкубації, що може вказувати на меншу ступінь диференціації фракції клітин, отриманих за цей часовий інтервал. На 40-у хвилину інкубації відрізків порожньої кишки, інтервальна активність ЛФ знизилась на 44 % ( $P < 0,05$ ), а на 50-у хвилину підвищилась на 12 % ( $P < 0,05$ ), що може бути обумовлено присутністю іншого ізоциму цього ферменту в плазмолемі отриманої фракції клітин. Надалі описаний показник знижується у 35,0 разів ( $P < 0,05$ ), що вказує на виділення в середовище з 50 хвилиною інкубації мало- та недиференційованих клітин.

Динаміка кумулятивної та інтервальної активності Сах гомогенату ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів (рис. 2) має ті ж тенденції, що і встановлена для ЛФ. Це вказує на наявність чіткої сформованої осі «ворсинки-крипти» в порожній кишці курей.

Так, кумулятивна активність Сах гомогенату ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів поступово знижувалась впродовж всього часу виділення. При цьому найбільш значне зниження цього показника відмічалось з 5-ї по 20-у хвилину інкубації (в 4 рази,  $P < 0,05$ ).

Слід зазначити, що показники інтервальної активності Сах значно перевищують показники кумулятивної активності цього ферменту. Відмічений феномен відрізняється від такого для ЛФ і свідчить про вищу сахаразну активність ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів у порівнянні з фосфомоноестеразою. Динаміка інтервальної активності Сах характеризується нерівномірністю і наявністю 2-х піків максимуму - на 20-у та 60-у хвилини інкубації. Найменше значення цього показника встановлено на 5-10-й, 40-50-й та 70-90-й хвилинах інкубації. При цьому мінімальні значення інтервальної активності Сах відповідають максимальному значенню цього показника ЛФ, що підтверджує дещо різний ензимний склад плазмолемі ентероцитів порожньої кишки, які знаходяться на різних етапах диференціації. Підтвердженням цього явища можна вважати відсутність єдиної направленості корелятивного зв'язку між показниками інтервальної активності ЛФ та Сах ентероцитів порожньої кишки впродовж всього періоду виділення цих клітин.

Найбільше значення інтервальної активності Сах відмічено на 20-у хвилину інкубації відрізків порожньої кишки, що співпадає з найбільшим зна-

ченням цього показника ЛФ. Це свідчить про те, що клітини, які виділяються у часовий інтервал 10-20 хвилин є поліфункціональними абсорбційними ентероцитами, оскільки на даному етапі диференціації вони суміщають високу сахаразну та фосфомоноестеразну активність.

Після 20-ї хвилини інкубації відрізків порожньої кишки курчат-бройлерів інтервальна активність Сах різко знижувалась: на 30-у хвилину - на 26 % ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з 20-ю хвилиною, а на 40-у хвилину - у 4,0 рази ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з 30-ю хвилиною, залишаючись майже незмінною і на 50 хв. Це свідчить про виділення зі слизової оболонки порожньої кишки менш диференційованих клітин.

На 60-у хвилину виділення ентероцитів зі слизової оболонки порожньої кишки курчат-бройлерів інтервальна активність Сах збільшилась у 3,7 рази ( $P < 0,05$ ), що може свідчити про високий ступінь диференціації цих клітин. На 70-у хвилину інкубації відрізків порожньої кишки кумулятивна активність Сах знизилась у 4,5 рази ( $P < 0,05$ ) і до 90-ї хвилини вірогідно не змінювалась.

Особливу увагу слід приділити низькій інтервальній активності ЛФ і Сах на 50-й хвилині інкубації відрізків порожньої кишки курчат-бройлерів, при чому цей показник обох ферментів максимально наближений до такого на 90-й хвилині інкубації. Також, слід зазначити, що епітеліоцити порожньої кишки, отримані на 60-й та 90-й хвилинах, виділялися зі слизової оболонки в найменшій кількості серед усіх фракцій -  $4,27 \pm 0,10\%$  та  $4,43 \pm 1,01\%$  (див. табл. 1). Тому передбачається, що отримані на 50-й хвилині виділення ентероцити, за функціональними властивостями та ступенем диференціації схожі з криптальними клітинами, які виділяються на 90-й хвилині. Не виключено, що місце локалізації на ворсинці ентероцитів, отриманих на 50-й хвилині інкубації, є додатковим місцем проліферації цього типу клітин. Дане твердження, в певній мірі, підтверджує встановлений факт диференціації ентероцитів не лише у криптах. Фізіологічне пояснення цьому феномену можна знайти у значній довжині ворсинок порожньої кишки курей та нетривалим періодом життя ентероцитів. Тобто, якщо б проліферація ентероцитів порожньої кишки курей відбувалась лише у криптах, то можливо ці клітини не встигали за свій життєвий цикл (впродовж терміну диференціації) пройти шлях від крипти до верхівки ворсинок. Крім того, ми не виключаємо, що розташування двох просторово віддалених локусів диференційованих ентероцитів на ворсинках порожньої кишки курчат-бройлерів забезпечує більш ефективні процеси пристінкового травлення.

Таким чином, встановлення сахаразної та фосфомоноестеразної активності ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів вказує на наявність двох фракцій клітин, які є диференційованими ентероцитами, а також передбачається наявність двох локусів проліферації ентероцитів.

Отримані результати свідчать про посилення цитолізу ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів в середовищі виділення зі збільшенням терміну інкубації, на що вказує підвищення активності ЛДГ.

Динаміка кумулятивної та інтервальної активності ЛДГ в середовищі інкубації відрізків порожньої кишки має одну тенденцію (див. рис. 3), чим вона відрізняється від встановленої динаміки активності ЛФ та Сах.

Кумулятивна активність ЛДГ в середовищі виділення ентероцитів порожньої кишки має найбільші значення на 5-й та 70-90-й хвилинах. Ці дані можуть свідчити про значну нестійкість клітин, отриманих у вказані часові періоди.

Інтервальна активність ЛДГ має більш виражену динаміку, ніж кумулятивна. При цьому слід відмітити значне зниження цього показника від 5-ї до 10-ї хвилин інкубації - в 11,0 разів ( $P < 0,05$ ), що підтверджує наше передбачення про виділення у перші 5 хвилин значної кількості клітин у стані апоптозу. Надалі інтервальна активність ЛДГ збільшувалась, найбільш виражено на 40-й та 50-й хвилинах інкубації - у 2,6 разу ( $P < 0,05$ ) та 2,3 разу ( $P < 0,05$ ), відповідно, у порівнянні з попередніми часовими інтервалами. Отримані дані можуть вказувати на значне посилення цитолізу ентероцитів в середовищі виділення і недоцільність їх відбору для отримання мембранних фракцій після 50-ї хвилини інкубації.

Використання морфологічних методів дослідження для контролю за отриманням ізольованих епітеліальних клітин дозволяє підтвердити ряд передбачень, висунутих при встановленні ферментативних властивостей клітинних фракцій. Для цієї мети, паралельно з відбором суспензії клітин із середовища інкубації, ми проводили відбір фрагментів порожньої кишки для виготовлення гістопрепаратів (див. рис. 4).

При цьому встановлено поступове відшарування ентероцитів зі слизової оболонки порожньої кишки, оскільки час є основним лімітуючим фактором у вивільненні епітеліоцитів за напрямком осі «ворсинки-крипти». Так, морфологічно помітним відшарування ентероцитів порожньої кишки було вже на 5-й хвилині інкубації відрізків порожньої кишки курчат-бройлерів: за цей період у середовищі виділення вивільнилися клітини з верхівок ворсинок. На 10-й хвилині інкубації відрізків порожньої кишки процес відшарування ентероцитів продовжився. Слід зазначити, що при цьому не відбувалось морфологічно вираженої руйнації власної пластинки ворсинок порожньої кишки, завдяки чому не відбувається забруднення суспензії ентероцитів іншими клітинними елементами.

У період з 10-ї по 20-у хвилини інкубації вивільнення епітеліоцитів в середовище виділення є більш помітним, що співпадає з показниками інтервального виходу білка ентероцитів (див. табл. 1). При цьому, за 20 хв. інкубації відрізків порожньої кишки в середовище виділились ентероцити з верхньої третини ворсинок, які за даними інтервальної активності ЛФ та Сах (див. рис. 2 та 3) можна класифікувати як поліфункціональні абсорбційні ентероцити.

Надалі відшарування ентероцитів із підслизової основи ворсинок порожньої кишки відбувалось за описаною тенденцією, причому до 50-ї хвилини інкубації на підслизовій основі залишились клітини, що розташовані в нижній третині ворсинок. Тому, за даними інтервальної активності ЛФ та Сах, ми можемо вважати, що термінальна зона епітеліоцитів, розташованих у нижній половині ворсинок порожньої кишки курчат-бройлерів може бути представлена недиференційованими клітинами, які проліферуються і мігрують при цьому у напрямку верхівок ворсинок.

Ті клітини, що вивільнилися в середовище виділення з 50-ї по 60-у хвилини інкубації відрізків порожньої кишки мають високу сахаразну активність (див. рис. 2) і розташовані у нижній третині ворсинок. Тому, цей локус можна вважати додатковим місцем розташування абсорбційних ентероцитів на ворсинці. Наше передбачення щодо зрілості даної фракції клітин підтверджується значним підвищенням активності ЛДГ в середовищі виділення на 60-у хвилину інкубації відрізків порожньої кишки, що може вказувати на значну кількість апоптозних ентероцитів.

Із 70-ї хвилини інкубації відрізків порожньої кишки курчат-бройлерів починається виділення в середовище малодиференційованих кристальних клітин (див. рис. 2), що підтверджується низькими показниками активності ЛФ та Сах.

Також необхідно відзначити, що на 60-у хвилину інкубації відрізків порожньої кишки курчат-бройлерів починається деструктуризація ворсинок, що проявляється закругленням їх верхньої частини. Надалі вказана тенденція посилюється, відмічається агрегація ворсинок на 80-у хвилину інкубації та їх руйнація на 90-у хвилину інкубації. Описані явища призводять до забруднення ентероцитарних фракцій клітинами, що розташовані у власній пластинці ворсинок порожньої кишки (фіброblastи, лейкоцити, тощо).

Таблиця 1

Вихід білка ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів в залежності від часу інкубації в середовищі виділення,  $M \pm m$ ,  $n = 4$

Час інкубації, хв.	Білок ентероцитів, мг/г нативного кишечника	Інтервальний вихід білка ентероцитів, мг/г нативного кишечника	Вихід білка ентероцитів за часом, %
5	1,87±0,08	1,87±0,08	7,97±0,38
10	3,77±0,10*	1,90±0,03	8,12±0,18
20	8,01±0,17*	4,25±0,23*	18,12±0,87*
30	10,60±0,15*	2,59±0,11*	11,07±0,53*
40	13,72±0,11*	3,12±0,26	13,34±1,16
50	16,30±0,09*	2,58±0,11	11,02±0,46
60	17,30±0,11*	1,00±0,02*	4,27±0,10*
70	19,96±0,15*	2,66±0,13*	11,35±0,59*
80	22,37±0,10*	2,42±0,08	10,31±0,33
90	23,41±0,14*	1,04±0,24*	4,43±1,01*

Примітка: \* - дані вірогідні ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з попереднім часовим відрізком

Джерела інформації:

1. Barfull, A. Ontogenetic expression and regulation of Na<sup>+</sup>-D-glucose cotransporter in jejunum of domestic chicken / A. Barfull, C Garriga, M. Mitjans // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. - 2002. - V. 282 (3). - P. 559-564.

2. Barker, N. The intestinal stem cell / N. Barker, M. van de wetering, H. Clevers // Genes & Development. - 2008. - V. 22. - P. 1856-1864.

3. Cartwright, I. Isolated rabbit enterocytes as a model cell system for investigations of chylomicron assembly and secretion / I. Cartwright, J. Higgins // J. Lipid. Res. - 1999. - V. 40. - P. 1357-1365.

4. Fan, M. Enterocyte digestive enzyme activity along the crypt-villus and longitudinal axes in the neonatal pig small intestine / M. Fan, B. Stoll, R. Jiang et al // J. Anim. Sci. - 2001. - V. 79 (2). - P. 371-381.

5. Ferrer, R. Hexose transport across the apical and basolateral membrane of enterocytes from different regions of the chicken intestine / R. Ferrer,

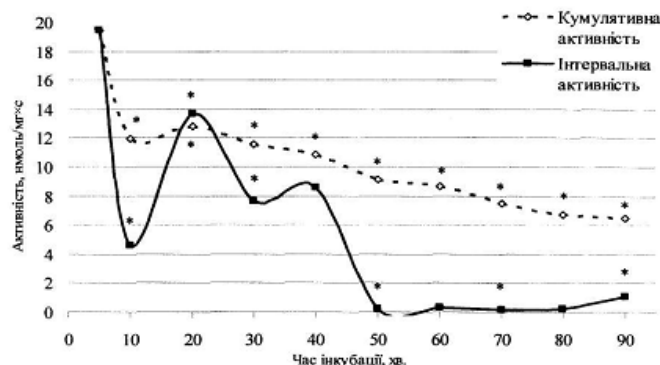
M. Gil, M. Moreto et al // Pflugers Arch. - 1994. - V. 426. - P. 83-88.

6. Grey, R. Distribution of leucil naphthylamidase and alkaline phosphatase on the villi of the chick duodenum / R. Grey, T. LeCount // J. Histochem. Cytochem. - 1970. - V. 18, (6). - P. 416-423.

7. Mac Donal, O. Isolation of epithelial cells, villi and crypts from small intestine of pigeons (Columba livia) / O. Mac Donal, J. Chediack, E. Caviedes-Vidal // Biocell. - 2008. - V. 32 (3). - P. 219-227.

8. Nordstrom, C. Quantitative determinations of enzymes in different parts of the villi and crypts of rat small intestine. Comparison of alkaline phosphatase, disaccharidases and dipeptidases / C. Nordstrom, A. Dahlqvist, L. Josefsson // J. Histochem. Cytochem. - 1968. - V. 15. - P. 713-728.

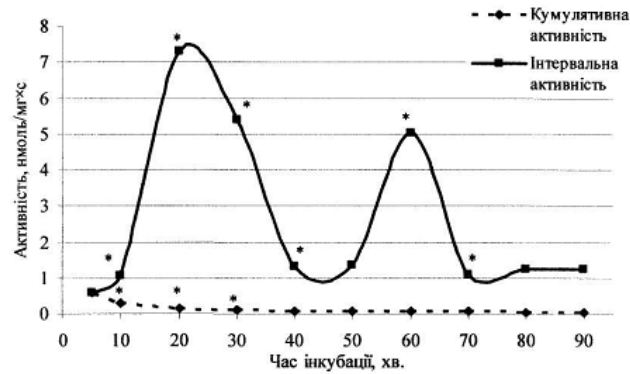
9. Uni, Z. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus / Z. Uni, R. Platin, D. Sklan // J. Comp. Physiol. - 1998. - V. 168 (4). - P. 241-247.



Кумулятивна та інтервальна активність лужної фосфатази гомогенату ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів в залежності від часу інкубації, нмоль/мг×с, ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ ).

Примітка: \* - дані вірогідні ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з попереднім часовим відрізком

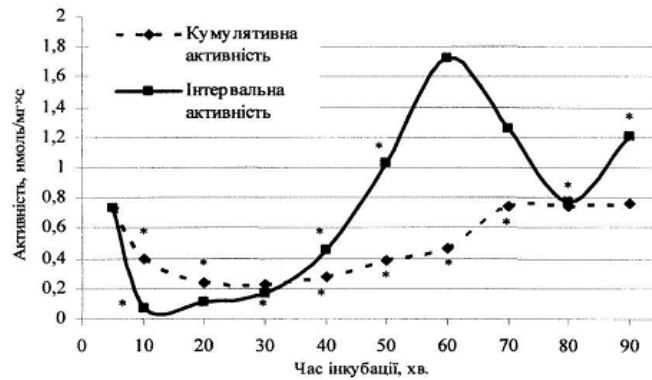
Рис. 1



**Кумулятивна та інтервальна активність сахарози гомогенату ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів в залежності від часу інкубації, нмоль/мг×с, ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ ).**

Примітка: \* - дані вірогідні ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з попереднім часовим відрізком

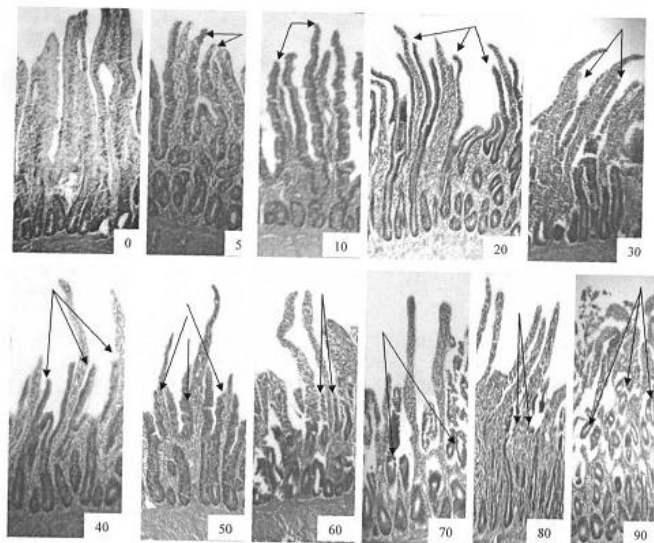
Рис. 2



**Кумулятивна та інтервальна активність лактатдегідрогенази в середовищі виділення ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів в залежності від часу інкубації, нмоль/мг×с, ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ ).**

Примітка: \* - дані вірогідні ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з попереднім часовим відрізком

Рис. 3



Гістопрепарати відрізків порожньої кишки курчат-бройлерів до початку інкубації (0 хв) та на різних часових проміжках інкубації (5-90 хв). Забарвлення гематоксиліном та еозином,  $\times 100$ . Стрілками показано термінальні зони епітеліальної тканини: 5-60 хв - епітелій ворсинок; 70-90 хв. - епітелій крипт.

Рис. 4

