

Морфофункціональний стан келихоподібних клітин та зміни мікробіоти товстої кишки щурів при ожирінні

І.М. Варенюк, Т.М. Сергійчук, М.Е. Держинський

Київський національний університет імені Тараса Шевченка; e-mail: vareniuk_igor@yahoo.com

*Вивчали зміни основних різновидів муцинів у келихоподібних клітинах та мікробіоти товстої кишки у щурів при ожирінні. Для цього парафінові зрізи товстої кишки забарвлювали ШИК-методом (для виявлення у келихоподібних клітинах усіх муцинів), альціановим синім при рН 2,5 (кислих муцинів), параальдегідфуксином (сульфомуцинів), ШИК-методом та альціановим синім (для розділення нейтральних і кислих муцинів), альціановим синім та параальдегідфуксином (для розділення сіалової сульфомуцинів). Також на елективно-диференційних середовищах визначали кількісний і якісний склад різних представників мікробіоти у фекаліях. Показано, що ожиріння супроводжувалося гіпоплазією та гіпертрофією келихоподібних клітин у криптах товстої кишки. Кількість цих клітин зменшувалася за рахунок клітин-продуцентів змішаних муцинів з домінуванням кислих, а серед кислих – сульфомуцинів та змішаних сульфо- й сіаломуцинів. Це призводило до збільшення відсоткового вмісту продуцентів нейтральних, нейтрально-кислих муцинів та сіаломуцинів і одночасного зменшення кисло-нейтральних муцинів. Одночасно зменшувалася кількість цукролітичних бактерій роду *Bifidobacterium* та лактозо-ферментуючих *E. coli*, а також зросло число представників транзитної мікробіоти манітол-негативних стафілококів. Кількість *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* та дріжджоподібних грибів роду *Candida* не змінювалася.*

Ключові слова: ожиріння; товста кишка; келихоподібні клітини; муцини; мікробіота.

ВСТУП

За даними ВООЗ у світі ожиріння спостерігається у 13,1% дорослих і зростає у всіх регіонах світу, що є великою біомедичною проблемою практично для кожної країни. Однією з систем організму, яка зазнає відчутного впливу при розвитку ожиріння, є травна система, зокрема товста кишка. При ожирінні в кишечнику часто виникає хронічний субклінічний запальний процес низького рівня, порушується склад мікробіоти [1], змінюється моторика кишечника, підвищується його проникність [2].

Важливим клітинним компонентом слизової оболонки кишки є келихоподібні клітини (у товстій кишці розташовані у криптах, а у тонкій кишці – у криптах та ворсинах), які виробляють слиз. Останній

вкриває поверхню слизової оболонки і виконує захисну функцію (від інфекції, фізичних чи хімічних пошкоджень), сприяє проходженню матеріалів через травний тракт, бере участь у пристінковому травленні й всмоктуванні речовин, у створенні кишкового бар'єра та регулює кишкову проникність, є бар'єром для мікроорганізмів і середовищем для пристінкової мікрофлори [2, 3]. Основним компонентом слизу є муцини. Вони поділяються на нейтральні і кислі, а кислі можуть бути сульфатованими (сульфомуцини) або ж нессульфатованими і містити у своєму складі сіалові кислоти (сіаломуцини) [4]. Кожен з цих різновидів муцинів виконує й дещо інші функції. А тому важливий правильний баланс між кислими та нейтральними, сульфо- та сіаломуцинами.

Добре відомо, що ожиріння супроводжується певними змінами мікробіоти: збільшується кількість *Firmicutes* і зменшується *Bacteroidetes*, може змінюватися концентрація низки інших бактерій (*Faecalibacterium*, *Akkermansia*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*) та викликати дисбактеріоз, метаболічну мікробну ендотоксемію [5]. Не виключено, що однією з ключових причин таких змін мікробіоти при ожирінні можуть бути зміни балансу між основними різновидами муцинів. Імовірно, що саме зміни мікробіоти є одним з факторів, який призводить до зміни секреції різних типів муцинів. Це, в свою чергу, може викликати зміну проникності, запальну реакцію та подальші ускладнення в роботі товстої кишки.

Гістохімічні дослідження показали відносне виснаження сульфатованих муцинів товстої кишки (сульфомуцинів) при активному виразковому коліті [6]. При хворобі Крона і виразковому коліті спостерігалася гіперплазія слизової оболонки та підвищена секреція сіаломуцинів [7]. У пацієнтів з гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою підвищується вміст сіалових кислот [8]. При розвитку колоректального раку кишки онкогенна трансформація клітин товстої кишки супроводжується зростанням секреції сіаломуцинів внаслідок зменшення вмісту сульфомуцинів [9]. Тобто, якщо при ожирінні буде змінюватися баланс між основними різновидами муцинів, то це ще й може бути провокуючим фактором для розвитку коліту, раку кишки та інших серйозних патологій. Водночас у науковій літературі мало даних про зміни між вищезазначеними різновидами муцинів при ожирінні.

Метою нашого дослідження стало вивчення морфофункціонального стану келихоподібних клітин при ожирінні (схильності до гіпертрофії і гіперплазії, здатності синтезувати основні різновиди муцинів та ін.), а також зміни мікробіоти.

МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на самцях білих нелінійних щурів віком 6 тиж, масою 100–120 г на початок експерименту. Тварин утримували в стандартних умовах, з вільним доступом до їжі та води. Фотоперіод становив 12 год світло:12 год темрява (світловий період з 7:00 до 19:00). Контрольній групі тварин (n = 7) протягом 13 тиж давали стандартний комбікорм для щурів (калорійність – 3,81 ккал/г). Тварини дослідної групи (n = 10) перебували на висококалорійній дієті (склад: стандартний комбікорм для щурів – 60%, свинячий жир – 10%, курячі яйця – 10%, цукор – 9%, арахіс – 5%, сухе молоко – 5%, соняшникова олія – 1%; калорійність – 5,35 ккал/г [10]) впродовж 6 тиж (за цей час у тварин розвинулося ожиріння) та продовжували перебувати на цій самій дієті впродовж ще 7 тиж. Через 13 тиж від початку експерименту проводили аутопсію.

Для гістологічних досліджень брали зразки товстої кишки по 1 см кожен на відстані 3 см від анального отвору. Їх фіксували у метаКарнуа (суміш метилового спирту, хлороформу і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 6:3:1). Далі матеріал заливали у парафін за загальноприйнятою методикою [11], орієнтуючи зразки кишкової трубки вертикально і виготовляли поперечні зрізи товщиною 5 мкм. Зрізи забарвлювали за допомогою ШИК-реакції (для виявлення келихоподібних клітин-продуцентів усіх муцинів), альціановим синім при рН 2,5 (для виявлення келихоподібних клітин-продуцентів кислих муцинів), параальдегідфуксином (для виявлення келихоподібних клітин-продуцентів сульфомуцинів). Також зрізи забарвлювали комбінацією цих барвників: ШИК-реакції та альціанового синього (для розділення келихоподібних клітин-продуцентів нейтральних та кислих муцинів), альціанового синього та параальдегідфуксину (для розділення келихоподібних клітин-продуцентів сіаломуцинів та сульфомуцинів) [11, 12].

На препаратах, забарвлених ШИК-реакцією та альціановим синім, усі келихоподібні клітини поділяли на клітини лише з нейтральними муцинами (малинові), з нейтральними та кислими муцинами з домінуванням нейтральних, з нейтральними та кислими муцинами з домінуванням кислих, лише з кислими муцинами (голубі), (рис. 1, а–г). На препаратах, забарвлених альціановим синім та параальдегідфуксином, келихоподібні клітини поділяли на клітини лише з сіаломуцинами (голубі), з сіало- та сульфомуцинами (сині, або фіолетово-голубі), лише з сульфомуцинами (фіолетові), (див. рис. 1, д–є).

За допомогою мікроскопа Olympus BX41, суміщеного через фото-відео-камеру Olympus C-5050 Zoom з комп'ютером, виготовляли цифрові мікрофотографії слизової оболонки з криптами. На мікрофотографіях вимірювали площу крипти і підраховували кількість кожного різновиду келихоподібних клітин у цій крипти (забарвлених у відповідний колір відповідним барвником або їх комбінацією). У кожній крипти для келихоподібних клітин, що продукують певний різновид чи суміш різновидів муцинів, розраховували щільність розташування таких клітин (кількість келихоподібних клітин на одиницю площі крипти), а також – їхній відсотковий вміст у цій крипти.

На препаратах, забарвлених за допомогою ШИК-реакції, вимірювали площу перетину келихоподібних клітин (для 150 клітин у кожній групі). На препаратах, забарвлених

за допомогою ШИК-реакції та альціанового синього, розраховували загальну щільність розташування келихоподібних клітин, поділивши сумарну їх кількість у крипти на площу цієї крипти, а також площу перетину та щільність розташування келихоподібних клітин окремо на дні крипти.

Кількісний та якісний склад окремих, показових представників мікробіоти визначали висіванням відповідних 10-кратних розведень фекалій на диференційно-діагностичні середовища з селективними властивостями (Bifidobacterium Agar, MRS agar, Endo, Iron Sulphite Agar, Mannitol Salt Agar, Simmons Citrate Agar, Candida Agar, Blood Agar Base) виробництва «HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.» (Індія). Виділені мікроорганізми ідентифікували за морфологічними, тинкторіальними та фізіолого-метаболічними показниками (реакція на плазмокоагуляцію, ДНКазна активність, продукція лізоциму, фосфатази, чутливість до новобіцину – для відокремлення *S. aureus* від *S. saprophyticus*, оксидазний тест, тести на ферментацію вуглеводів, реакція Фогеса-Проскауера, тест на рухливість, утворення сірководню – для відокремлення лактозонегативної *E. coli* від умовно-патогенних ентеробактерій).

Обробку результатів проводили методами варіаційної статистики. Перевірку на їх підпорядкованість закону нормального розподілу проводили за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Результати представляли у вигляді середнього арифметичного та похибки середнього арифметичного. Визначали



Рис. 1. Келихоподібні клітини-продуценти різних типів муцинів: а – лише з нейтральними муцинами; б – з нейтральними та кислими муцинами з домінуванням нейтральних; в – з нейтральними та кислими муцинами з домінуванням кислих; г – лише з кислими муцинами; д – лише з сіаломуцинами; е – з сіало- та сульфомуцинами; є – лише з сульфомуцинами. Забарвлення: ШИК-реакція та альціановий синій (а–г), альціановий синій та параальдегідфуксин (д–є). Збільшення: об. $\times 100$, ок. $\times 10$

достовірність різниці між контрольною групою та групою тварин з ожирінням за допомогою критерію *t* Стьюдента для незалежних вибірок [13].

РЕЗУЛЬТАТИ

У щурів з ожирінням знижувалася кількість келихоподібних клітин у криптах (рис. 2). Це може свідчити про загибель частини цих клітин або ж про зниження темпів їх утворення та диференціації. Вони збільшувалися в розмірах, що може бути проявом компенсаторної гіпертрофії в умовах зменшеної кількості цих клітин. При цьому малодиференційовані клітини, розташовані на дні крипт, мали однакові середні розміри у обох груп ($27,4 \pm 1,5$ мкм² у контрольній групі і $29,7 \pm 1,2$ мкм² у тварин з ожирінням). Достовірна різниця в розмірах виникала у диференційованих клітин (у тварин з ожирінням $86,1 \pm 2,9$ мкм², а у контрольних тварин $78,3 \pm 2,7$ мкм²). Отже, ожиріння супроводжується гіпоплазією та гіпертрофією келихоподібних клітин у криптах товстої кишки.

Морфологія келихоподібних клітин не зазнавала якісних змін при ожирінні, які

були б помітними на світлооптичному рівні (рис. 3). Їх розташування теж було подібним у тварин обох груп. На дні крипт знаходилися дрібні малодиференційовані келихоподібні клітини. Переважна їх більшість виробляла тільки кислі муцини. Ще декілька таких клітин могли знаходитися у самій верхній частині крипт. Загалом, приблизно 22 % келихоподібних клітин у крипті виробляли виключно кислі муцини (рис. 4). У середній та верхній частині крипт розташовані значно більші за розмірами диференційовані келихоподібні клітини. Вони зазвичай є продуцентами змішаних кислих та нейтральних муцинів; причому у 2/3 цих клітин (50–55 %) домінувало утворення кислих муцинів, а у 1/3 (18–22 %) – нейтральних (див. рис. 4). Зустрічалися лише поодинокі клітини (всього по декілька клітин на крипту, що становить 3–5 % від загальної кількості келихоподібних клітин), які виробляли тільки нейтральні муцини. Отже, переважна більшість келихоподібних клітин крипт синтезує лише кислі муцини або ж кислі муцини в комбінації з нейтральними.

При ожирінні зростав відсотковий вміст келихоподібних клітин, які виробляють

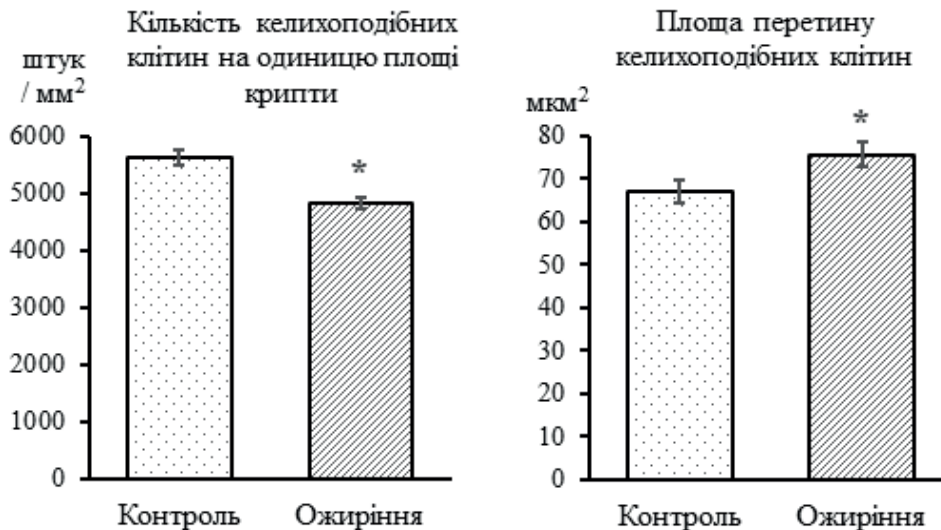


Рис. 2. Розміри та щільність розташування келихоподібних клітин товстої кишки у тварин з ожирінням. **P* < 0,05 порівняно з контрольною групою

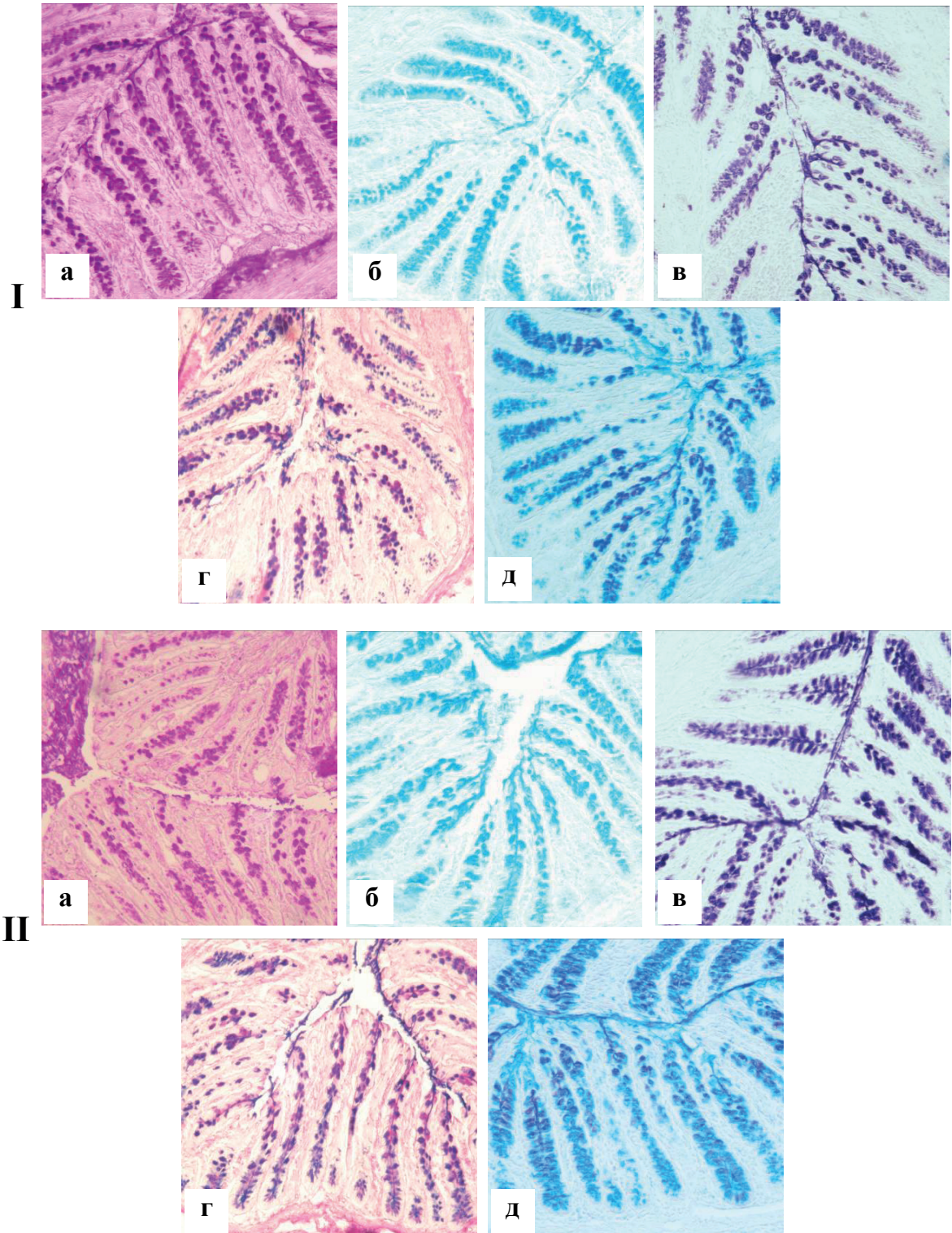


Рис. 3. Келихоподібні клітини шурів контрольної групи (I) та з ожирінням (II): а – ШИК-реакція, б – альціановий синій, в – параальдегідфуксин, г – ШИК-реакція та альціановий синій, д – альціановий синій та параальдегідфуксин. Збільшення: об. $\times 10$, ок. $\times 10$

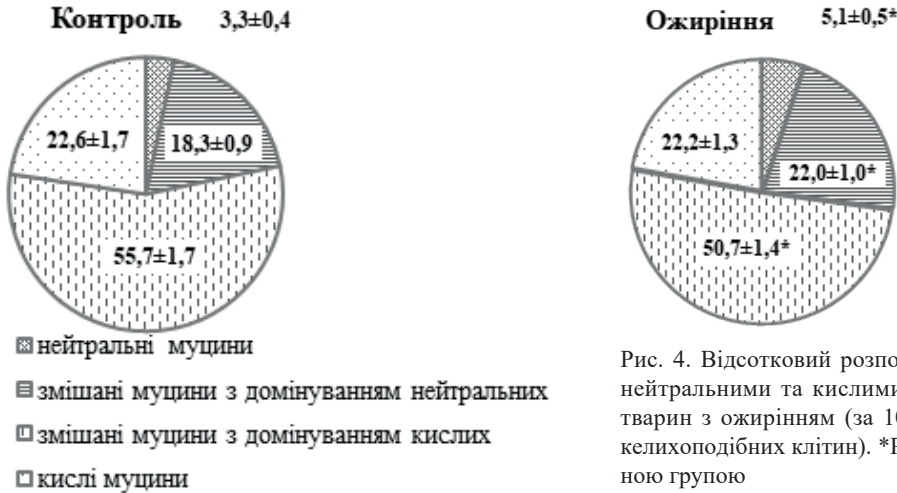


Рис. 4. Відсотковий розподіл келихоподібних клітин з нейтральними та кислими муцинами у товстій кишці тварин з ожирінням (за 100% прийнято кількість всіх келихоподібних клітин). *P < 0,05 порівняно з контрольною групою

нейтральні муцини або змішані з їх домінуванням, знижувався – у продуцентів змішаних муцинів з переважанням кислих і не змінювався у тих, які виробляють виключно кислі муцини (див. рис. 4).

У разі ожиріння зменшувалася кількість келихоподібних клітин. Кількість келихоподібних клітин, що продукують змішані муцини з домінуванням кислих, знижувалася при ожирінні; водночас у тих, що синтезують інші різновиди муцинів достовірно не змінювалося (табл. 1). Отже, зниження загальної кількості келихоподібних клітин відбувається за рахунок клітин-продуцентів змішаних кисло-нейтральних муцинів.

Далі було проаналізовано відсотковий розподіл келихоподібних клітин-продуцентів основних різновидів кислих муцинів: сульфомуцинів та сіаломуцинів. На препаратах,

забарвлених альціановим синім та параальдегідфуксином, можна бачити, що на дні крипти розташовані дрібні келихоподібні клітини (див. рис. 3). Майже всі вони забарвлені лише альціановим синім у голубий колір, а отже продукують сіаломуцини. Вище розташовуються більші клітини, близько половини є продуцентами сіаломуцинів, ще частина синтезує обидва типи кислих муцинів, і менше ніж 10% – сульфомуцини (див. рис. 3). З діаграм на рис. 5 видно, що при ожирінні відсотковий вміст клітин, які виробляють сульфомуцини, а також клітин, які продукують обидва типи кислих муцинів, знижується. При цьому на 10% зростає відсотковий вміст келихоподібних клітин, які синтезують сіаломуцини.

Аналіз щільності розташування келихоподібних клітин, що синтезують різні

Таблиця 1. Щільність розташування келихоподібних клітин, що продукують кислі та нейтральні муцини у щурів з ожирінням

Схема досліджу	Кількість клітин на одиницю площі крипти, мм ²			
	лише з нейтральними муцинами	зі змішаними муцинами з домінуванням нейтральних	зі змішаними муцинами з домінуванням кислих	лише з кислими муцинами
Контроль	189 ± 24	1003 ± 50	3141 ± 121	1284 ± 107
Ожиріння	241 ± 28	1046 ± 50	2454 ± 88*	1081 ± 72

Примітка: тут і в табл. 2 і 3 *P < 0,05 порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2. Щільність розташування келихоподібних клітин, що продукують різні різновиди кислих муцинів у щурів з ожирінням

Схема досліджу	Кількість клітин на одиницю площі крипти, мм ²		
	з сіаломуцинами	зі змішаними сульфота сіаломуцинами	з сульфомуцинами
Контроль	2365 ± 110	2380 ± 72	481 ± 29
Ожиріння	2490 ± 103	1725 ± 77*	335 ± 35*

різновиди кислих муцинів показав, що кількість продуцентів виключно сіаломуцинів не змінюється. Водночас число клітин, які виробляють виключно сульфомуцини, знижується. Також зменшується кількість клітин-продуцентів змішаних сіало- та сульфомуцинів (табл. 2). Отже, кількість келихоподібних клітин-продуцентів кислих муцинів знижується за рахунок клітин-продуцентів сульфомуцинів та клітин-продуцентів змішаних сульфо- й сіаломуцинів, котрі призводить до зміни відсоткового вмісту між келихоподібними клітинами, що виробляють сіаломуцини і келихоподібними клітинами, що продукують сульфомуцини.

І наостанок, було підраховано щільність розташування келихоподібних клітин окремо на дні крипти. Показано, що цей параметр у контрольній групі становить 7974 ± 361 клітин/мм², а при ожирінні – 8056 ± 490 клітин/мм²; достовірні відмінності відсутні. Отже, на етапах утворення та ранніх етапах диференціації кількість келихоподібних

клітин у криптах товстої кишки у тварин з ожирінням є нормальною. Це дає змогу припустити, що зниження загальної кількості келихоподібних клітин, яке спостерігається при ожирінні, стається внаслідок порушення чи сповільнення наступних етапів диференціації цих клітин.

Паралельно зі зміною кількісного і якісного складу муцинів слизового шару спостерігаються і кількісні зміни окремих представників просвітної мікробіоти товстої кишки при ожирінні (табл. 3). Так, кількість облигатно-анаеробних цукролітичних бактерій родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* знижувалася на 1-2 порядки порівняно з контролем. Також достовірні зміни спостерігали у щурів з ожирінням щодо кількості кишкових паличок, зокрема кількість лактозо-ферментуючих *E. coli* знижувалась з $\lg 7,3 \pm 0,5$ до $\lg 2,9 \pm 0,1$ КУО/г, а протеолітичних (лактозо-неферментуючих) штамів – менш ніж на один порядок. Щодо представників транзитної мікробіоти, то в



Рис. 5. Відсотковий розподіл келихоподібних клітин з сіаломуцинами та сульфомуцинами у товстій кишці тварин з ожирінням (за 100% прийнято кількість келихоподібних клітин, що продукують кислі муцини). *P < 0,05 порівняно з контрольною групою

Таблиця 3. Зміни кількості (lg КУО/г) просвітної (фекальної) мікробіоти товстої кишки щурів при ожирінні

Схема досліджу	Мікроорганізм								
	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	(лактозо-ферментуючі)	<i>Escherichia coli</i> (лактозо-не-ферментуючі)	Умовно патогенні ентеробактерії	<i>Clostridium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (мані-тол-позитивні)	<i>Staphylococcus sp.</i> (мані-тол-негативні)	<i>Candida</i>
Контроль	9,2 ± 0,4	9,0 ± 0,7	7,3 ± 0,5	6,5 ± 0,4	< 1	2,9 ± 0,7	4,0 ± 0,2	3,7 ± 0,4	5,7 ± 0,8
Ожиріння	7,3 ± 0,2*	8,3 ± 0,6	2,9 ± 0,1*	5,7 ± 1,0	< 1	2,9 ± 0,1	4,5 ± 0,9	5,5 ± 0,4*	5,3 ± 0,2

нашому дослідженні спостерігали достовірне зростання кількості манітол-негативних стафілококів (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*) з lg 3,7 ± 0,4 до lg 5,5 ± 0,4 КУО/г. Кількість представників роду *Clostridium*, виду *Staphylococcus aureus* та дріжджеподібних грибів роду *Candida* залишалися у межах контрольних значень.

Отже, зміни при ожирінні в келихоподібних клітинах крипт товстої кишки супроводжуються певними трансформаціями просвітної мікробіоти.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Ми в своїх дослідженнях показали зниження кількості келихоподібних клітин у криптах товстої кишки при розвитку ожиріння, викликаного споживанням висококалорійної дієти. Hussain і співавт. [14] зазначили, що прийом дієти з високим вмістом жиру в свинячому білку зменшував кількість келихоподібних клітин і пригнічував експресію Muc2 у товстій кишці, що погіршувало слизовий бар'єр. Водночас слід враховувати і показану нами гіпертрофію келихоподібних клітин при ожирінні, яка може частково компенсувати зниження продукції муцинів внаслідок зниження кількості келихоподібних клітин.

Зміни кількості келихоподібних клітин-продуцентів нейтральних і кислих (сульфомуцинів і сіаломуцинів) при ожирінні вивчали Truter і співавт. [4]. Автори пока-

зали домінування келихоподібних клітин-продуцентів змішаних (кислих і нейтральних) муцинів у товстій кишці, переважання продуцентів кислих муцинів над нейтральними, а також зниження кількості продуцентів нейтральних муцинів і відсутність достовірних змін продуцентів сіаломуцинів та сульфомуцинів (хоча і є тенденція до зниження останніх) при ожирінні. Отримані ними дані частково відрізняються від наших результатів, що зумовлює необхідність подальших досліджень у цьому напрямку.

Описані нами перебудови в келихоподібних клітинах без сумніву призводять до змін кількісного і якісного складу слизового шару товстої кишки, що може бути передумовою для розвитку подальших порушень у функціонуванні товстої кишки: підвищення проникності кишечника, виникненні запальної реакції, трансформації якісного складу мікробіоти із-за зміни хімічних компонентів слизового шару (тобто, середовища, в якому вони живуть).

У наших попередніх дослідженнях показано зростання вмісту прозапальних цитокінів та зниження антизапальних цитокінів у крові при ожирінні [15]. Іншими дослідниками встановлено, що структурні зміни кишкового епітелію у відповідь на дієту можуть викликати метаболічну ендотоксемию, пов'язану з припливом запальних бактеріальних фрагментів у циркуляцію через порушений кишковий бар'єр, яка призводить до вироблення численних проза-

пальних цитокінів і, отже, до низького рівня системного запалення [16]. Зниження ступеня запалення фармакологічними препаратами підвищує вміст у тканинах кислих муцинів (сульфомуцинів та сіаломуцинів), а часом – і нейтральних муцинів [17–19]. Збільшення кількості келихоподібних клітин і продукції муцинів у кишці старих тварин з ожирінням під впливом метформіну зменшує проникність кишечника і ступінь запалення [20]. Зменшення кількості келихоподібних клітин, що виділяють нейтральні муцини, яке спостерігається при старінні, супроводжується більшою схильністю до ожиріння [21]. Отже, наші результати та дані, отримані іншими авторами, підтверджують думку, що структурно-функціональні зміни келихоподібних клітин, які спостерігаються при ожирінні, створюють передумови для підвищення проникності кишечника та розвитку там запальної реакції.

Оскільки було показано, що при коліті також зменшується кількість сульфомуцинів і зростає кількість сіаломуцинів [6, 7], то продемонстровані нами аналогічні зміни при ожирінні можна розглядати і як додатковий чинник ризику для розвитку цієї патології. Так, миші з дефіцитом гена *Rapss2* (кодує ключовий фермент, що бере участь у процесах сульфатації), демонстрували знижений вміст сульфомуцинів в кишечнику, і при цьому мали підвищену чутливість до коліту та раку товстої кишки через пошкодження кишкового бар'єра слизової оболонки, збільшення проникності кишечника та бактеріальної інфільтрації [22]. Знижений вміст сульфомуцинів, який спостерігається при виразковому коліті, корелює зі ступенем запалення [23]. Виявлено негативну кореляцію між кількістю сульфатованих муцинів і кількістю бактерій *Desulfovibrio* [23] та позитивну – між вмістом сульфатованих муцинів і кількістю бактерій *Akkermansia muciniphila* [24]. Зменшена кількість *Akkermansia muciniphila* корелювала з більш високими показниками запалення [24]. Зміна

мікробного складу за допомогою пробіотиків здатна нормалізувати запалення у щурів з ожирінням, знижуючи концентрацію прозапальних цитокінів та підвищуючи – антизапальних цитокінів [25].

Нами продемонстровано, що найбільш виражені зміни мікробіоти спостерігаються саме серед представників, чия життєдіяльність залежить від складу муцинів приєпітеліального слизу (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*). З іншого боку, саме цукролітичні представники мікробіоти здійснюють найбільш вагомий вплив на стан епітеліального бар'єра через продукцію коротколанцюгових жирних кислот. Отже, зміна балансу між основними різновидами муцинів може викликати різні зсуви в мікробіоті кишечника; не виключено також, що саме вони є одним з чинників, які викликають відповідні трансформації в роботі келихоподібних клітин. Порушення кишкової мікробіоти та проникності кишечника розглядаються як потенційні тригери запалення при ожирінні [1].

Таким чином, ожиріння супроводжується цілою низкою структурно-функціональних перебудов у келихоподібних клітинах товстої кишки та змінами у кількісному складі мікробіоти, які можуть провокувати подальші відхилення від нормальної роботи товстої кишки, що зумовлює пошук терапевтичних засобів для корекції вищеописаних ефектів.

ВИСНОВКИ

1. Ожиріння призводить до гіпертрофії та гіпоплазії келихоподібних клітин у крипах товстої кишки.

2. При ожирінні знижується кількість келихоподібних клітин, що виробляють змішані кисло-нейтральні муцини з домінуванням кислих. Це призводить до збільшення відсоткового вмісту продуцентів нейтральних та змішаних нейтрально-кислих муцинів і одночасного зменшення виробників змішаних кисло-нейтральних муцинів.

3. Ожиріння викликає зниження кількості та відсоткового вмісту келихоподібних клітин-продуцентів сульфомуцинів та змішаних сульфо- й сіаломуцинів, а також – до збільшення відсоткового вмісту клітин-продуцентів сіаломуцинів.

4. При ожирінні зменшується кількість цукролітичних бактерій роду *Bifidobacterium* та лактозо-ферментуючих *E. coli*, а також – зростає число представників транзитornoї мікробіоти манітол-негативних стафілококів. Кількість *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* та дріжджеподібних грибів роду *Candida* не змінюється.

5. Вищезазначені зміни можуть створювати передумови для розвитку запалення при ожирінні, провокувати інші відхилення від нормальної роботи товстого кишечника, що зумовлює пошук терапевтичних засобів для корекції цих змін.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

I.M. Vareniuk, T. M. Serhiichuk, M.E. Dzerzhynsky

MORPHO-FUNCTIONAL STATUS OF GOBLET CELLS AND CHANGES IN THE COLONIC MICROBIOTA DURING OBESITY IN RATS

*Taras Shevchenko National University of Kyiv;
e-mail: vareniuk_igor@yahoo.com*

Changes between the main types of mucins in the goblet cells and colonic microbiota in obese rats were studied. Paraffin histological slides of the colon of control and obese rats were stained with periodic Schiff (to visualize all mucins in the goblet cells), alcian blue with pH 2.5 (to visualize acidic mucins), aldehyde fuchsin (to visualize sulphomucins), alcian blue and periodic Schiff (to distinguish between neutral and acidic mucins), alcian blue and aldehyde fuchsin (to distinguish between sialo- and sulphomucins). Also, the composition of microbiota in feces was determined on selective and differential media. It has been shown, that obesity is accompanied by

hypoplasia and hypertrophy of goblet cells in the crypts of the colon. The decrease in the total number of goblet cells in obese animals occurs due to cells producing mixed mucins with a predominance of acidic mucins, as well as cells producing sulphomucins or mixed sulphomucins and sialomucins. As result, the percentage of goblet cells producing neutral, mixed neutral-acidic or sialomucins increases. The percentage of cells producing acidic-neutral mucins, sulfomucins or mixed sialo- and sulfomucins decreases. At the same time, the number of *Bifidobacterium* and lactose-fermenting *E. coli* (sacrolytic bacteria) decreases in feces. The number of mannitol-negative staphylococci (transient microbiota) increases. The number of *Clostridium*, *Staphylococcus aureus* and yeast-like fungi *Candida* does not change.

Keywords: obesity; colon; goblet cells; mucins; microbiota.

REFERENCES

1. Cox AJ, West NP, Cripps AW. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3(3):207-15.
2. Portincasa P, Bonfrate L, Khalil M, Angelis M, Calabrese FM, D'Amato M, Wang DQ, Di Ciaula A. Intestinal barrier and permeability in health, obesity and NAFLD. *Biomedicines.* 2021;10(1):83.
3. Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut.* 2020; 69(12):2232-43.
4. Truter D, Strijdom H, Everson F, Kotze SH. Mucin secreting cells in the stomach and colon are altered by combination antiretroviral treatment in an obese rat model. *Acta Histochem.* 2017;119(2):122-8.
5. Tseng CH, Wu CY. The gut microbiome in obesity. *J Formos Med Assoc.* 2019;118 Suppl 1:S3-S9.
6. Rhodes JM, Gallimore R, Elias E, Kennedy JF. Faecal sulphatase in health and in inflammatory bowel disease. *Gut.* 1985;26(5):466-9.
7. Allen DC, Connolly NS, Biggart JD. Mucin profiles in ulcerative colitis with dysplasia and carcinoma. *Histopathology.* 1988;13(4):413-24.
8. Zub RI, Bychkova SV, Bychkov MA. Content of sialic acid and pepsin in saliva and gastric juice of patients with diseases of stomach and esophagus. *Fiziol Zh.* 2017;63(6):99-105.
9. Habib NA, Dawson PM, Bradfield JW, Williamson RC, Wood CB. Sialomucins at resection margin and likelihood of recurrence in colorectal carcinoma. *Br Med J. (Clin Res Ed).* 1986;293(6546):521-3.
10. Shen X-H, Tang Q-Y, Huang J, Cai W. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. *Exp Biol Med (Maywood).* 2010;235:47-51.
11. Suvarna K, Layton C, Bancroft JD. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 7th ed. Churchill Livingstone: Elsevier; 2013.
12. Rieger J, Drewes B, Hunigen H, Plendl J. Mucosubstances

- in the porcine gastrointestinal tract: Fixation, staining and quantification. *Eur J Histochem.* 2019;63(2):3030.
13. Glantz SA. *Primer of biostatistics.* New York: McGraw-Hill. 2011.
 14. Hussain M, Ijaz UM, Ahmad MI, Khan IA, Brohi SA, Shah AU, Shinwari KI, Zhao D, Xu X, Zhou G, Li C. Meat proteins in a high-fat diet have a substantial impact on intestinal barriers through mucus layer and tight junction protein suppression in C57BL/6J mice. *Food Funct.* 2019;10(10):6903-14.
 15. Kalmukova OO, Yurchenko AV, Savchuk AM, Dzerzhynsky ME. Changes in the inflammatory status in white adipose tissue of rats with diet-induced obesity at different regimens of melatonin administration. *Cytolog Genetics.* 2020;54(1):38-47.
 16. Mohammad S, Thiemermann C. Role of metabolic endotoxemia in systemic inflammation and potential interventions. *Front Immunol.* 2021;11:594150.
 17. Bonassa CE, Pereira JA, Campos FG, Rodrigues MR, Sato DT, Chaim FD, Martinez CA. Tissue content of sulfomucins and sialomucins in the colonic mucosa, without fecal stream, undergoing daily intervention with sucralfate. *Acta Cir Bras.* 2015;30(5):328-38.
 18. Alves AJ Junior, Pereira JA, Pansani AH, Magro DO, Coy CS, Martinez CA. Tissue sulfomucin and sialomucin content in colon mucosa without intestinal transit subjected to intervention with *Curcuma longa* (curcumin). *Acta Cir Bras.* 2017;32(3):182-93.
 19. Martinez CAR, Campos FG, Kanno DT, Meneses EC, Matijascic GM, Goto EFK, Pereira JA. Enemas with mesalazine increase the tissue contents of mucins in the colonic mucosa devoid of fecal stream. *Acta Cir Bras.* 2019;34(4):e201900406.
 20. Ahmadi S, Razazan A, Nagpal R, Jain S, Wang B, Mishra SP, Wang S, Justice J, Ding J, McClain DA, Kritchevsky SB, Kitzman D, Yadav H. Metformin reduces aging-related leaky gut and improves cognitive function by beneficially modulating gut microbiome / goblet cell / mucin axis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2020;75(7):e9-e21.
 21. Rubio C, Lizarraga E, Alvarez-Cilleros D, Perez-Pardo P, Sanmartin-Salinas P, Toledo-Lobo MV, Alvarez C, Escriva F, Fernandez-Lobato M, Guijarro LG, Valverde AM, Carrascosa JM. Aging in male Wistar rats associates with changes in intestinal microbiota, gut structure, and cholecystokinin-mediated gut-brain axis function. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2021;76(11):1915-21.
 22. Xu P, Xi Y, Zhu J, Zhang M, Luka Z, Stolz DB, Cai X, Xie Y, Xu M, Ren S, Huang Z, Yang D, York JD, Ma X, Xie W. Intestinal sulfation is essential to protect against colitis and colonic carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2021;161(1):271-86.e11.
 23. Lennon G, Balfe A, Bambury N, Lavelle A, Maguire A, Docherty NG, Coffey JC, Winter DC, Sheahan K, O'Connell PR. Correlations between colonic crypt mucin chemotype, inflammatory grade and *Desulfovibrio* species in ulcerative colitis. *Colorectal Dis.* 2014;16(5):O161-9.
 24. Earley H, Lennon G, Balfe A, Coffey JC, Winter DC, O'Connell PR. The abundance of *Akkermansia muciniphila* and its relationship with sulphated colonic mucins in health and ulcerative colitis. *Sci Rep.* 2019;9(1):15683.
 25. Falalyeyeva TM, Leschenko IV, Beregova TV, Lazarenko LM, Savchuk OM, Sichel LM, Tsyryuk OI, Vovk TB, Spivak MYa. Probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria alter pro- and anti-inflammatory cytokines production in rats with monosodium glutamate-induced obesity. *Fiziol Zh.* 2017;63(1):17-25.

*Матеріал надійшов
до редакції 17.01.2023*