

О. А. Макаренко, д.б.н., завідувач кафедри

Т. В. Гладкій, к.б.н., доцент

Г. В. Майкова, к.б.н., доцент

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра фізіології людини і тварин,

вул. Дворянська 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: makolga29@gmail.com

СТАН ЗУБО-ЩЕЛЕПНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ НА ТЛІ МОДЕЛЮВАННЯ ГЕПАТИТУ ТА ДИСБІОЗУ

Проведено дослідження стану зубів і ясен білих щурів на тлі розвитку експериментального токсичного гепатиту, дисбіозу та поєднанні цих патологій. Кожна з відтворених патологій супроводжувалась посиленням каріозного процесу і підвищенням ступеня запалення у яснах. Поєднання патологій призвело до розвитку більш значних порушень у порожнині рота тварин. Зроблено висновок, що дисбіоз посилює патологію печінки і як слідство підвищує інтенсивність каріозного процесу та посилює запалення ясен.

Ключові слова: дисбіоз; білі щури; токсичний гепатит; карієс; запалення ясен.

Функціональний стан печінки займає особливе місце у розвитку патологій різних систем, тому що печінка виконує ряд важливих функцій: регуляторні, метаболічні, антитоксичні та багато інших. Показано, що функціональна активність великих і малих слинних залоз, процеси мінералізації зубів і щелеп, оральна антимікробна система, майже всі види функціональної діяльності органів і тканин щелепно-лицьової системи залежать від стану гепато-біліарної системи [1, 2, 3, 11]. Порушення функції печінки позначаються на стані м'яких і твердих тканин порожнини рота, зумовлюючи в них розвиток запально-дистрофічних процесів, причиною яких є гепатогенний імунodefіцит, дисбіоз і дезорганізація метаболізму. У сукупності все це і визначає патогенез і клінічні прояви гепато-орального синдрому, що займає значне місце в загальній картині гепато-біліарних захворювань [1, 13]. Аналіз даних літератури дозволяє зробити висновок про тісний функціональний взаємозв'язок печінки і мікробіоти кишечника. Печінка впливає на склад мікробіоти кишечника через жовч, яка містить жовчні кислоти з антимікробними властивостями і здатністю гальмувати всмоктування ендотоксину з кишечника [8, 14]. Відомості про вплив поєднаної патології печінки і дисбіозу кишечника на органи і тканини ротової порожнини в доступній нам літературі обмежені.

Тому для з'ясування цього питання метою роботи було дослідження впливу поєднаної патології гепатиту та дисбіозу на стан зубів і ясен щурів.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на базі кафедри фізіології людини і тварин Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Експеримент проведено на 24 білих щурах самцях, віком 1 місяць. Тварин було поділено на 4 групи по 6 тварин: 1 – інтактна, тварини якої слугували контролем; 2 – щури, у яких відтворювали гепатит шляхом внутрішньочеревного введення гідразину сірчанокислого в дозі 50 мг/кг, двічі на тиждень, протягом 5 тижнів; 3 – щури, у яких 5 діб моделювали дисбіоз шляхом додавання 70 мг/кг лінкоміцину в питну воду; 4 – щури, у яких на останньому тижні формування токсичного гепатиту моделювали дисбіоз.

Тварин виводили з дослідження на 45 добу в стані глибокого тіопенталового наркозу (20 мг/кг внутрішньоочеревинно) шляхом тотального кровопускання з магістральних судин.

При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходились в стандартних умовах віварію згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, що використовуються для наукових цілей [12].

Оцінку ступеня каріозного процесу у щурів проводили на обох сторонах верхньої і нижньої щелепи за кількістю каріозних поразок та кількістю каріозних зубів на одну тварину й глибиною ураження зубів карієсом у балах [9].

Біохімічні дослідження активності ферментів проводили в сироватці крові і тканинах ясен. Гомогенати ясен готували з розрахунку 20 мг/мл 0,05 М трис-НСІ буфера. В сироватці крові визначали активність аланінамінотрансферази (АлАт,) лужної фосфатази (ЛФ) і вмісту холестерину, у яснах тварин – активність еластази і кислій фосфатази (КФ) за загальноприйнятими методиками [4, 7].

Статистичне опрацювання отриманих даних у серіях дослідів проводилось за методом Ст'юдента–Фішера, відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$. Дані наведено як середнє арифметичне значення та похибка середнього ($M \pm m$).

Результати досліджень та їх обговорення

На тлі моделювання токсичного гепатиту й дисбіозу у всіх тварин відмічали зменшення рухової активності, розлади травлення. Після проведення анатомічного розтину у щурів дослідних груп було відмічено значне збільшення розміру печінки. У щурів з гепатитом органний індекс печінки збільшився на 21,0 % у порівнянні з контрольними тваринами, при дисбіозі – на 12,4 %, а при одночасному моделюванні обох патологій – на 40,1 %. Консистенція печінки була в'ялою. В той же час печінка щурів контрольної групи мала рівномірний колір і пружну консистенцію.

Підрахунок кількості й глибини каріозних порожнин зубів показав, що у контрольних тварин кількість каріозних порожнин на 1 щура дорівнювала 2,2, глибина ураження зубів карієсом у балах дорівнювала 2,3 (табл. 1).

У щурів, яким відтворювали гепатит, кількість каріозних порожнин і глибина ураження зубів карієсом зросла на 113 % у порівнянні з контролем. У дослідній групі щурів, яким моделювали дисбіоз, кількість каріозних порожнин збільшувалась не так виразно, як у щурів з експериментальним гепатитом, але все рівно збільшувалась на 52 % (табл. 1).

Таблиця 1

**Розвиток карієсу зубів у щурів
на тлі експериментального гепатиту та дисбіозу**

№	Групи щурів, n=6	Кількість каріозних порожнин, на 1 щура	Кількість каріозних зубів, на 1 щура	Глибина ураження зубів карієсом, бали
1	Інтактна (контроль)	2,2 ± 0,3	2,0 ± 0,2	2,3 ± 0,3
2	Гепатит	4,7 ± 0,6 P < 0,05	3,8 ± 0,4 P < 0,001	4,9 ± 0,6 P < 0,001
3	Дисбіоз	3,4 ± 0,5 P > 0,05	2,8 ± 0,4 P > 0,05	3,5 ± 0,6 P > 0,05
4	Гепатит + дисбіоз	5,0 ± 0,5 P < 0,001 P ₁ > 0,05	4,5 ± 0,5 P < 0,001 P ₁ > 0,05	5,7 ± 1,0 P < 0,001 P ₁ > 0,05

Примітка: P – достовірність відмінності середніх у порівнянні з контрольною групою;

P₁ – достовірність відмінності середніх у порівнянні з групою, в якій відтворювали гепатит.

У групи тварин, яким моделювали поєднану патологію, спостерігали також збільшення каріозних порожнин на 127 %, а глибина ураження зубів карієсом була на 148 % більшою, у порівнянні з контрольною групою (табл. 1).

Таким чином, за оцінкою інтенсивності карієсу зубів у дослідних групах, виявлено найвищий рівень інтенсивності каріозного процесу у щурів, яким моделювали експериментальний гепатит та дисбіоз одночасно.

На тлі розвинутого карієсу спостерігаються біохімічні зміни в тканинах, які оточують зуби. Відомо, що маркерами запалення в тканинах ясен є еластаза та кисла фосфатаза [9].

У контрольній групі активність еластази в гомогенатах ясен щурів дорівнювала 20,8 мк-кат/кг. Моделювання у щурів гепатиту та дисбіозу викликало зростання активності еластази на 26 % та 34 % відповідно, а моделювання дисбіозу на тлі експериментального гепатиту – на 67 % у порівнянні з контрольною групою (рис. 1). Зростання активності еластази у позаклітинному просторі розглядають як основну ланку патогенезу захворювань, пов'язаних з інфільтрацією тканин активованими нейтрофілами.

Активність кислої фосфатази також була значно підвищена у яснах щурів з гепатитом та дисбіозом. Якщо у контрольних тварин активність кислої фосфатази дорівнювала 22,0 нкат/кг, то при моделюванні токсичного гепатиту ак-

тивність кислої фосфатази зростає на 35 %. При відтворенні у щурів дисбіозу активність кислої фосфатази підвищувалась до 32,27 нкат/кг, тобто на 46 %. Що свідчить про руйнування лізосом і збільшення проникності мембран. При одночасному моделюванні гепатиту і дисбіозу спостерігали збільшення активності кислої фосфатази на 80 % (рис. 1).

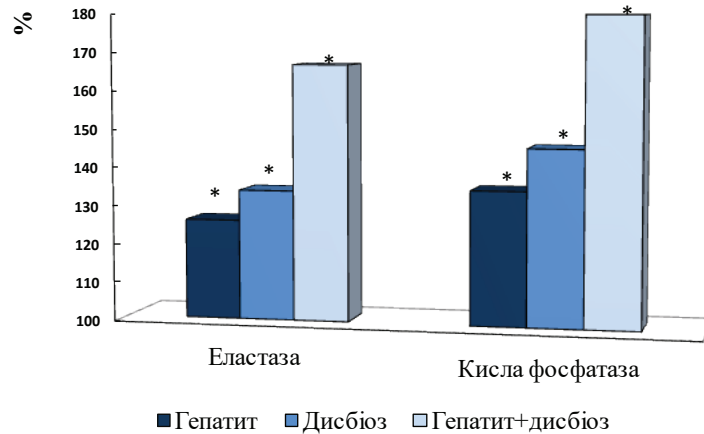


Рис. 1. Показники активності еластази й кислої фосфатази в гомогенатах ясен щурів (у % від контролю)

Примітка: * – $P < 0,05$ достовірність відмінності середніх у порівнянні з контрольною групою

Ступінь розвитку гепатиту та пошкодження печінки визначають за ступенем підвищення активності амінотрансфераз [6].

У контрольних тварин активність АлАТ дорівнювала 0,56 мк-кат/л (табл. 2). При моделюванні у щурів експериментального гепатиту та дисбіозу активність АлАТ збільшилась на 30 % та 14 % відповідно у порівнянні з контрольною групою. Оскільки АлАТ міститься в цитоплазмі печінкових клітин, підвищення її активності свідчить про цитолітичний синдром. Причому він у більшій мірі виражений у тварин яким відтворювали дисбіоз на тлі розвинутого гепатиту. У цих тварин активність ферменту збільшилась на 62 %.

Активність ЛФ у сироватці крові контрольних тварин сягала 2,84 мк-кат/л (табл. 2). У сироватці крові щурів, яким моделювали гепатит, рівень активності ферменту підвищувався на 53 %. Що, очевидно, вказує на поступове збільшення кількості зруйнованих гепатоцитів. У групи щурів, яким моделювали дисбіоз, активність ЛФ збільшилась на 41%. При одночасному моделюванні експериментального гепатиту та дисбіозу активність ЛФ зростала на 85 %. (табл. 2). Збільшення активності ЛФ може свідчити про існування процесів деструкції гепатоцитів та внутрішньопечінкового холестазу, які виникають внаслідок порушення архітекtonіки печінки.

Таблиця 2

**Активність деяких ферментів та вміст холестерину
у сироватці крові щурів при моделюванні токсичного гепатиту та дисбіозу**

№	Групи щурів, n=6	Активність АлАТ, мк-кат/л	Активність ЛФ, мк-кат/л	Вміст холестерину, ммоль/л
1	Інтактна (контроль)	0,56 ± 0,04	2,84 ± 0,23	2,25 ± 0,24
2	Гепатит	0,73 ± 0,04 P < 0,01	4,35 ± 0,30 P < 0,001	3,13 ± 0,28 P < 0,05
3	Дисбіоз	0,64 ± 0,06 P > 0,05	4,02 ± 0,19 P < 0,01	2,98 ± 0,25 P < 0,05
4	Гепатит + дисбіоз	0,91 ± 0,04 P < 0,001 P ₁ < 0,01	5,27 ± 0,28 P < 0,001 P ₁ < 0,05	3,86 ± 0,47 P < 0,001 P ₁ > 0,05

Примітка: P – достовірність відмінності середніх при порівнянні з контрольною групою
P₁ – достовірність відмінності середніх у порівнянні з групою, в якій відтворювали гепатит.

Так як печінка виконує значну роль у ліпідному обміні, то патологія печінки може супроводжуватися порушенням ліпідного обміну. У контрольній групі вміст холестерину в сироватці крові дорівнював 2,25 ммоль/л. При моделюванні у щурів експериментального гепатиту рівень холестерину збільшився на 39 %, а при моделюванні дисбіозу – на 32 % у порівнянні з контрольною групою (табл. 2).

У щурів, яким моделювали дисбіоз на тлі експериментального гепатиту, вміст холестерину у сироватці крові суттєво збільшився – на 71 %, що може бути наслідком глибоких дистрофічних процесів у печінці та порушенням синтетичної активності гепатоцитів.

Таким чином, на підставі проведених досліджень можна заключити, що як гідразин, так і лінкоміцин викликають порушення функції печінки та розвиток дисбіозу, але найбільші зміни досліджуваних показників відбувалися при одночасному моделюванні гепатиту та дисбіозу.

Одночасно з порушеннями роботи печінки спостерігалися патологічні зміни у порожнині рота щурів, а саме зареєстровано підвищення поразки зубів карієсом і запалення ясен у щурів.

Найбільш виражене запалення ясен спостерігалось при моделюванні поєднаної патології гепатиту та дисбіозу. Встановлений факт можна пояснити зниженням антимікробної функції печінки [8, 14]. Печінка є одним з найважливіших бар'єрів на шляху проходження мікробів і їх токсинів з кишечника через лімфатичну і кровоносну системи. Порушення бар'єрної функції печінки викликає появу умовно-патогенних і патогенних бактерій в системі гемоциркуляції з подальшим інфікуванням різних органів, в тому числі і тканин ротової порожнини. Ця обставина дуже сильно ускладнює перебіг стоматологічних захворювань [5, 10].

Висновки

1. Експериментальне моделювання у щурів як гідрозинного гепатиту, так і дисбіозу за допомогою лінкоміцину призводило до зростання глибини ураження зубів карієсом, кількості каріозних порожнин та каріозних зубів у 1,5–2 рази.
2. При формуванні гепатиту та дисбіозу у гомогенатах ясен щурів значно підвищувалась активність маркерів запалення – еластази та кислій фосфатази.
3. Найбільші погіршення показників активності маркерів запалення у яснах спостерігались за поєднаної патології.
4. Одночасне моделювання гепатиту й дисбіозу призводило до збільшення активності «печінкових» маркерів запалення (активність аланінаміно-трансферази і лужної фосфатази) і порушенню ліпідного обміну (збільшення в крові вмісту холестерину).
5. Дисбіоз посилює патологію печінки і підвищує запалення ясен.

Стаття надійшла до редакції 12.01.2019

Список використаної літератури

1. Бабий И. Л. Поражение слизистой оболочки полости рта при заболеваниях различных органов и систем у детей / И. Л. Бабий, Е. А. Калашникова // *Здоровье ребенка*. – 2011. – № 2 (29). – С. 90–91.
2. Белобородова Э. И. Соматические проявления у больных хроническими вирусными гепатитами / Э. И. Белобородова, Е. Г. Ламброва, Е. В. Белобородова, В. Л. Останько, А. С. Алексеева, Т. П. Калачова, И. К. Лившиц // *Клиническая медицина*. – 2010. – Т. 88, № 5. – С. 42–45.
3. Васильев А. Ю. Стоматологический статус больных с хроническими диффузными заболеваниями печени / А. Ю. Васильев, Л. М. Шевченко, Н. А. Постнова [и др.] // *Стоматология*. – 2004. – Т. 83, № 3. – С. 64–67.
4. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: [Справочное пособие] / А. М. Горячковский. – Одеса: Екологія, 2005. – 616 с.
5. Гостищев В. К. Бактериальная транслокация в условиях острой непроходимости кишечника / В. К. Гостищев, А. Н. Афанасьев, Ю. М. Круглынский, Д. Н. Сотников // *Вестник РАМН*. – 2006. – № 9–10. – С. 34–38.
6. Королева М. В. Фармакоэпидемиологическая и клинико-лабораторная характеристика лекарственно-индуцированного поражения печени при туберкулезе / М. В. Королева // *Журнал инфектологии*. – 2015. – Т. 7, № 14. – С. 44–50.
7. Левицкий А. П. Метод определения активности эластазы и ее ингибиторов: метод, рекомендации / А. П. Левицкий, А. П. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.
8. Левицкий А. П. Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. – Одеса: КП «Одеська міська друкарня», 2011. – 141 с.
9. Левицкий А. П. Методы экспериментальной стоматологии. Учебно-методическое пособие / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, С. А. Демьяненко. – Симферополь: Тарпан, 2018. – 77 с.
10. Петухов В. А. Нарушения функций печени и дисбиоз при липидном дистресс-синдроме Савельева: современный взгляд на проблему / В. А. Петухов, Л. А. Стернина, А. Е. Травкин // *Гепатология*. – 2004. – Т. 6, № 6. – С. 406.
11. Савичук Н.О. Стан стоматологічного здоров'я у дітей з хронічними вірусними гепатитами / О. Н. Савичук, Л. В. Корнієнко // *Дентальные технологии*. – 2008. – № 2 (37). – С. 23–27.
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasburg. Council of Europe, 1986. – №123. – 51 p.
13. Morgan X. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome / X. Morgan, N. Segata, C. Huttenhower // *Trends in Genetics*. – 2013. – V. 29, № 1. – P. 51–58.
14. Quigley E. The gut microbiota and the liver. Pathophysiological and clinical implications / E. Quigley, E. Murphy, C. Stanton // *J. Hepatol.* – 2013. – Vol. 58. – P. 1020 – 1027.

О. А. Макаренко, Т. В. Гладкий, А. В. Майкова

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра физиологии человека и животных,

ул. Дворянская, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: makolga29@gmail.com

СОСТОЯНИЕ ЗУБОЧЕЛЮСТНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС НА ФОНЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЕПАТИТА И ДИСБИОЗА

Резюме

Проблема: влияние нарушения функции печени на состояние твердых и мягких тканей ротовой полости.

Цель: изучение состояния зубочелюстной системы у крыс на фоне экспериментального дисбиоза и токсического гепатита.

Методика. Исследование проведено на крысах самцах, возрастом 1 месяц. Контрольная группа – интактные животные. Моделирование гепатита (2 группа) осуществляли путем внутрибрюшного введения сернокислового гидразина (50 мг/кг дважды в неделю) на протяжении 5 недель, дисбиоз (3 группа) формировали путем добавления линкомицина (70 мг/кг в питьевую воду), крысам 4 группы на последней неделе формирования гепатита для моделирования дисбиоза добавляли линкомицин.

Оценку степени кариозного процесса проводили по методике А. П. Левицкого, в тканях десен определяли активность эластазы и кислой фосфатазы, в сыворотке – активность аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и количество холестерина.

Основные результаты. Экспериментальное моделирование у крыс как гидразинового гепатита, так и дисбиоза приводило к нарушению работы печени. Одновременно наблюдались патологические изменения в полости рта, а именно увеличение интенсивности кариесного процесса и повышение активности маркеров воспаления (эластазы и кислой фосфатазы) в деснах крыс. Наиболее выраженное воспаление десен наблюдалось при объединении патологий.

Одновременное моделирование дисбиоза и гепатита сопровождалось увеличением активности «печеночных» маркеров воспаления (аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы) и увеличением в крови содержания холестерина.

Выводы: дисбиоз усиливает патологию печени и повышает степень воспаления в деснах крыс.

Ключевые слова: дисбиоз; белые крысы; токсический гепатит; кариес; воспаление десен

O. A. Makarenko, T. V. Gladkyi, A. V. Maikova

Odesa Mechnykov National University,
Department Of Human And Animal Physiology
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail makolga29@gmail.com

THE CONDITION OF THE DENTOALVEOLAR SYSTEM OF RATS AT THE BACKGROUND OF HEPATITIS AND DYSBIOSIS MODELLING

Abstract

Problem: impact of liver malfunction on the condition of hard and soft tissues of the oral cavity.

Aim: to study the condition of the dentoalveolar system in rats at the background of experimental dysbiosis and toxic hepatitis.

Methods. The research was carried out in 1-month old male rats. Intact animals served as the control group. Hepatitis modelling (group 2) was performed by intra-abdominal introduction of hydrazine sulphate (50 mg/kg twice a week) for 5 weeks, dysbiosis (group 3) was formed by adding lincomycin (70 mg/kg into potable water), rats from group 4 were given lincomycin at the last week of hepatitis formation to model dysbiosis.

Estimation of caries process was performed by the method of A. P. Levytskyi, the activity of elastase and acid phosphatase was determined in the tissues of gums, and the activity of alanine aminotransferase, acid phosphatase and amount of cholesterol – in the serum.

Main results. Experimental modelling in rats of both hydrazine hepatitis and dysbiosis resulted in the liver malfunction. Simultaneously, pathological changes in the oral cavity, namely increase of caries process intensity and growth of activity of inflammation markers (elastase and acid phosphatase) in the rats' gums were observed. The most expressed inflammation of gums was observed when the pathologies were combined.

Simultaneous modelling of dysbiosis and hepatitis was accompanied by increase in the activity of "liver" markers of inflammation (alanine aminotransferase and acid phosphatase) and increase of the amount of cholesterol in blood.

Conclusions: dysbiosis enhances the liver pathology and increases the degree of inflammation in rats' gums.

Key words: dysbiosis; white rats; toxic hepatitis; caries; gum inflammation.

References

1. Babij I. L., Kalashnikova E. A. (2011) «*Lesions of the oral mucosa in diseases of various organs and systems in children*» [«Porazhenie slizistoj obolochki polosti rta pri zbolevaniyah razlichnyh organov i sistem u detej»], *Child health*, 2(29), p 90-91.
2. Beloborodova E. I., Lambrova E. G., Beloborodova E. V., Ostan'ko V. L., Alekseeva A. S., Kalachova T. P., Livshic I. K. (2010) «*Somatic manifestations in patients with chronic viral hepatitis*» [«Somaticheskie proyavleniya u bol'nyh hronicheskimi virusnymi gepatitami»], *Clinical medicine*, 88, 5, pp. 42-45.
3. Vasil'ev A. YU. Shevchenko L. M., Postnova N. A. (2004) «*Dental status of patients with chronic diffuse liver diseases*» [«Stomatologicheskij status bol'nyh s hronicheskimi diffuznymi zbolevaniyami pecheni»], *Dentistry*, 83, 3, pp. 64-67.

4. Horiachkovskii A. M. (2005) *Clinical Biochemistry in laboratory diagnostics* [Klinicheskaia biokhimiia v laboratornoi diahnostike], Odessa, Ecology, 616 p.
5. Gostishchev V. K., Afanas'ev A. N., Kruglyanskij YU. M., Sotnikov D. N. (2006) «*Bacterial translocation in conditions of acute intestinal obstruction*» [«Bakterial'naya translokaciya v usloviyah ostroj neprohodimosti kishhechnika»], *Bulletin of RAMS*, 9-10., pp. 34-38.
6. Koroleva M. V. (2015) «*Pharmacoepidemiological and clinical laboratory characteristics of drug-induced liver damage in tuberculosis*» [«Farmakoepidemiologicheskaya i kliniko-laboratornaya harakteristika lekarstvenno-inducirovannogo porazheniya pecheni pri tuberkuleze»], *Journal of Infectology*, 7, 14, pp. 44 – 50.
7. Levickij A. P., Stefanov A. P. (2002) *Method for determining the activity of elastase and its inhibitors* [Metod opredeleniya aktivnosti elastazi i ee ingibitorov: metod. Rekomendacii], Kiev, HCF, p. 15.
8. Levickij A. P., Dem'yanenko S. A., Cisel'skij YU. V. (2011) *Antimicrobial liver function* [Antimikrobnaya funkciya pecheni], Odesa, Odeska mska drukarnya, p. 141.
9. Levickij A. P., Makarenko O. A., Dem'yanenko S. A. (2018) *Methods experimental dentists. Teaching guide* [Metody eksperimental'noj stomatologi. Uchebno-metodicheskoe posobie], Simferopol, Tarpan, p. 77.
10. Petuhov V. A., Sternina L. A., Travkin A. E. (2004) *Liver dysfunctions and dysbiosis in the Savelyev lipid distress syndrome: a modern view of the problem* [Narusheniya funkcij pecheni i disbioz pri lipidnom distress-sindrome Savel'eva: sovremennyj vzglyad na problem], *Hepatology*, 6, 6, p. 406.
11. Savichuk N. O., Kornienko L. V. *The camp of dental health in children with chronic hepatitis* [Stan stomatologichnogo zdorov'ya u ditej z hronichnimi virusnimi gepatitami], *Dental technologies*, 2 (37), pp. 23-27.
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986), Strasbourg. Council of Europe, 123, 51 p.
13. Morgan X., Segata N., Huttenhower C. (2013) «Biodiversity and functional genomics in the human microbiome», *Trends in Genetics*, 29, 1, pp. 51-58.
14. Quigley E. Murphy E., Stanton C. (2013) «The gut microbiota and the liver. Pathophysiological and clinical implications», *J. Hepatol*, 58, pp. 1020 – 1027.