

Назарчук Олександр Адамович - к.мед.н., старший викладач кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; nazarchukoa@gmail.com
Фаустова Марія Олексіївна - викладач кафедри мікробіології, вірусології та імунології ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія"; mashafaustova@ukr.net

©Бобир В.В., Понятовський В.А., Дюжикова О.М., Назарчук О.А., Настенко В.Б., Ширококов В.П.

УДК: 578.835.1:616.34-008.87-008.6

Бобир В.В.¹, Понятовський В.А.¹, Дюжикова О.М.¹, Назарчук О.А.², Настенко В.Б.¹, Ширококов В.П.¹

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (пр. Перемоги, 34, м. Київ, 03057, Україна)¹, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 Україна)²

ВПЛИВ КИШКОВОЇ МІКРОФЛОРИ НА ЗБЕРЕЖЕННЯ ІНФЕКЦІЙНОСТІ ЕНТЕРОВІРУСІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. В роботі наведені результати дослідження впливу бактеріальної мікрофлори кишківника на тривалість збереження інфекційності ентеровірусів в умовах *in vivo* та *in vitro*. За результатами дослідження показано здатність ентеровірусів зберігати інфекційну активність у фекальних масах тварин зі збереженою мікрофлорою та при антибіотикоіндукованому дисбіозі. Встановлено зв'язок між зростанням титру вірусів у фекальних масах тварин та наявністю мікроорганізмів. Доведено, підвищення життєздатності вірусу поліомієліту 1 типу (штам Lsc2ab) під час зберігання за умов присутності бактерій. Встановлено, що присутність *Vacillus subtilis* та *Lactobacillus plantarum* найкраще сприяє збереженню інфекційності вірусів до 60 діб. Сформульовано наукову гіпотезу про можливий противірусний ефект антибіотиків на фоні формування дисбіотичних станів.

Ключові слова: антибіотики, дисбіоз, ентеровіруси, інфекція, кишкова мікрофлора.

Вступ

Кишкова мікрофлора здатна суттєво впливати на фізіологічні функції організму людини. Разом з тим, при вираженій дії синантропних бактерій, роль вірусів, які присутні у шлунково-кишковому тракті в умовах гомеостазу, є не зовсім визначеною. Сьогодні, на прикладі норовірусів (MNV), зроблено припущення про здатність вірусів підтримувати гомеостаз кишківника, формувати імунітет його слизової оболонки та, можливо, компенсувати шкідливий вплив лікування антибіотиками [5].

Не зважаючи на значні обмеження в технічних можливостях, направлених на виявлення вірусів в шлунково-кишковому тракті, нещодавні метагеномні дослідження з використанням методу секвенування дозволили виявити існування складного кишкового вірому [11, 16]. Дослідники позиціонують його як вірусний компонент нормальної мікрофлори. До таких вірусів, крім норовірусів [7], які можуть залишатись в кишківнику після захворювання, відносять представників родини *Anelloviridae* *Circoviridae*, які виявляються у здорових осіб [10, 12], а також деякі некласифіковані віруси, у яких при секвенуванні нуклеотидна послідовність нуклеїнових кислот значно відрізняється від відомих нині вірусів [8, 9]. Аналіз кишкового вірому у макак-резус, інфікованих мавпячим вірусом імунодефіциту (SIV), показав, що багато вірусів присутні в низьких концентраціях і знаходяться під контролем імунної системи [3]. Сьогодні доказано, що інфікованість MNV вірусом (PHK (+) - вірусом з родини *Caliciviridae*) здатна запобігати розвитку гострих діарейних синдромів у мишей [4, 17]. PHK-віруси часто виявляються при безсимптомних формах у немовлят і дітей, а також в осіб після перенесеного гострого гастроентериту [1, 2].

Відомі наукові повідомлення, в яких йдеться про зниження частоти виділення ентеровірусів, норовірусів та реовірусів в осіб з вираженим дисбіозом кишківника на фоні ВІЛ/СНІД [13, 15]. Досліджуючи фекалії ВІЛ-інфікованих дітей, зроблено висновок, що такі кишкові віруси не є причиною розвитку діареї у цієї групи хворих [6]. Іншими вченими зафіксовано захисну роль кишкової мікробіоти при розвитку вірусних інфекцій. Наприклад, синантропна мікрофлора комарів роду *Aedes aegypti* побічно зменшує передачу вірусу Денге [18]. Припускають, що ендогенна бактеріальна флора стимулює противірусну імунну систему комарів. Крім того, за даними дослідників, видалення антибіотиками нормальної мікрофлори мишей підвищує сприйнятливість тварин до вірусу грипу типу А. Отже, все вищеперераховане вказує на складні взаємовідносини кишкової нормальної мікрофлори та вірусів у кишківнику людини і, безумовно, потребує глибоких фундаментальних досліджень.

Мета - з'ясувати вплив бактеріальної мікрофлори кишківника на тривалість збереження інфекційності ентеровірусів в умовах *in vivo* та *in vitro*.

Матеріали та методи

В якості експериментальної моделі використано лабораторних нелінійних білих мишей. Тварини утримувалися згідно "Стандартних правил по упорядкуванню, обладнанню і утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)" [21]. Досліди проводили з прототипним вакцинним штамом вірусу поліомієліту 1 типу (штам Lsc2ab). Титування вірусу проводили мікрометодом з використанням культури клітин HEp-2 [19] та

за здатністю до бляшкоутворення під бентонітовим покриттям [14]. Дослідна та контрольна група включали по 40 тварин.

Для формування дисбіотичних станів використано антибактеріальні препарати (ампіцилін, метронідазол та гентаміцин), які тваринам вводили внутрішньошлунково 1 раз на добу протягом 5 діб, одночасно з додаванням препаратів в поїлку [19]. Добова доза ампіциліну і метронідазолу складала по 10 мг/тварину, гентаміцину по 2,9 мг/тварину. Одночасно в поїлку з водою додавали зазначені антибіотики (по 1 г ампіциліну, 1 г метронідазолу та 290 мг гентаміцину на 1000 мл води).

Результати. Обговорення

Очевидно, вплив кишкового мікробіому на патогенез вірусних інфекцій, зокрема на реплікацію поліовірусу, може залежати від властивостей як мікробіоти, так і від властивостей самого вірусу. Першим нашим завданням було з'ясування можливості впливу представників нормальної мікрофлори на патогенність (інфекційність) вірусів в умовах *in vivo*. Для цього, тваринам зі штучно антибіотикоіндукованим дисбіозом та тваринам які не отримували антибіотики (контрольна група), перорально вводили вакцинний штам вірусу поліомієліту 1 типу (штам Lsc2ab), (об'ємом 200 мкл, титр вірусу становив $5,5 \cdot 10^{10}$). Через 2 та через 4 години забирали вміст нижніх відділів тонкого та товстого кишківника і проводили визначення інфекційного титру вірусів на культурах клітин HEp-2, Hela та L20B.

За результатами експериментальних досліджень, встановлено, що середній титр вірусів, виділених із тонкої кишки мишей з дисбіозом через 2 години після їх інфікування становить $1,42 \cdot 10^{10}$, натомість за даних умов середній титр вірусів, виділених із тонкої кишки мишей зі збереженою нормальною мікрофлорою становить $2,75 \cdot 10^{10}$ (табл. 1). Крім того, слід відмітити, що порівняльна чутливість досліджених культур клітин (HEp-2, Hela та L20B) до вірусу поліомієліту була приблизно однаковою, що свідчить про можливість використання будь якого типу з перелічених клітин для подібних досліджень (табл. 1).

Після 4 годин інфікування в тонкій кишці вцілому концентрація вірусів знижувалась. Середній титр вірусів, виділених з тонкої кишки мишей з дисбіозом після 4 год інфікування, становить $1,25 \cdot 10^{10}$, разом з тим у контрольній групі він складає $1,83 \cdot 10^{10}$.

Середній титр вірусів, виділених із товстої кишки мишей з дисбіозом через 2 години після їх інфікування при титруванні на різних культурах клітин, становить $1,17 \cdot 10^{10}$, натомість за даних умов середній титр вірусів, виділених з товстої кишки мишей із збереженою нормальною мікрофлорою, становить $1,83 \cdot 10^{10}$. Середній титр вірусів, виділених з товстої кишки мишей з дисбіозом після 4 год інфікування, становить $1,25 \cdot 10^{10}$, натомість у контрольній групі він складає $2,17 \cdot 10^{10}$.

Використано також *in vitro* аналіз інфекційності ентеровірусів, запропонований дослідниками з Техаського університету [14]. Відповідно до цього способу,

Таблиця 1. Інфекційні титри вірусу поліомієліту, виділеного з кишківника мишей.

		Культури клітин					
		HEp-2		Hela		L20B	
		ТК	ТСК	ТК	ТСК	ТК	ТСК
I	Через 2 год.	$2,5 \pm 0,14$	$1,0 \pm 0,4$	$2,75 \pm 0,14$	$2,25 \pm 0,28$	$3,0 \pm 0,2$	$2,25 \pm 0,13$
	Через 4 год.	$1,75 \pm 0,21$	$2,0 \pm 0,13$	$1,75 \pm 0,14$	$2,25 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,13$	$2,25 \pm 0,24$
II	Через 2 год.	$1,5 \pm 0,29$	$1,5 \pm 0,4$	$1,25 \pm 0,13$	$1,0 \pm 0,21$	$1,5 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,21$
	Через 4 год.	$1,0 \pm 0,14$	$1,5 \pm 0,3$	$1,25 \pm 0,12$	$1,0 \pm 0,23$	$1,5 \pm 0,28$	$1,25 \pm 0,29$

Примітки: I - миші зі збереженою мікрофлорою; II - миші з дисбіозом; ТК - тонкий кишківник; ТСК - товстий кишківник.

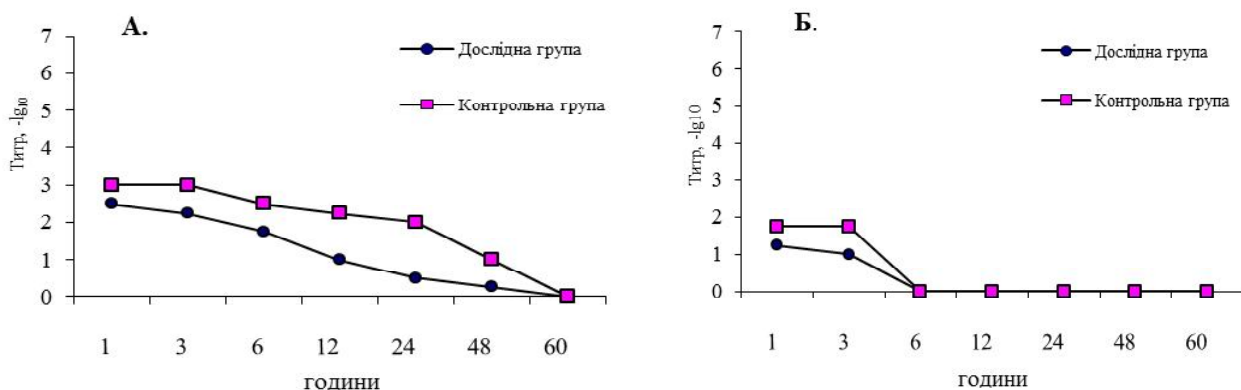


Рис. 1. Титр вірусів поліомієліту, виділених з фекальних мас; А - при зберіганні 37°C; Б - при зберіганні 40°C.

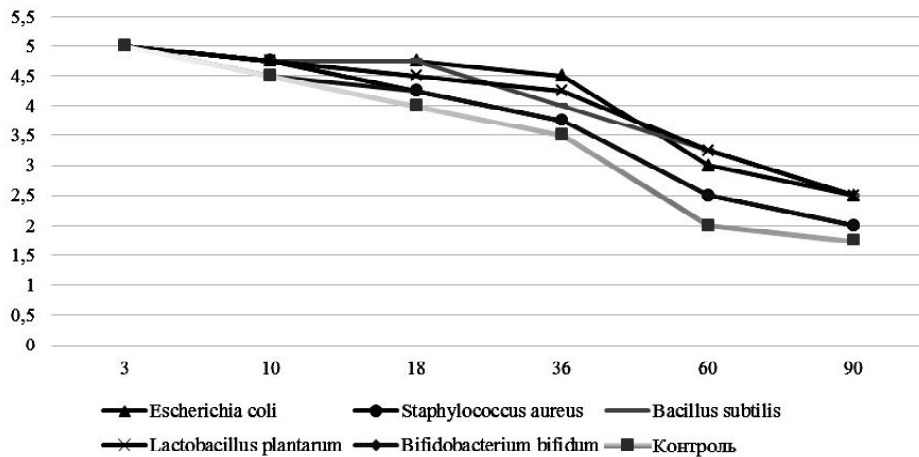


Рис. 2. Титр ентеровірусів після спільного зберігання з різними видами живих мікроорганізмів за температури +4°C.

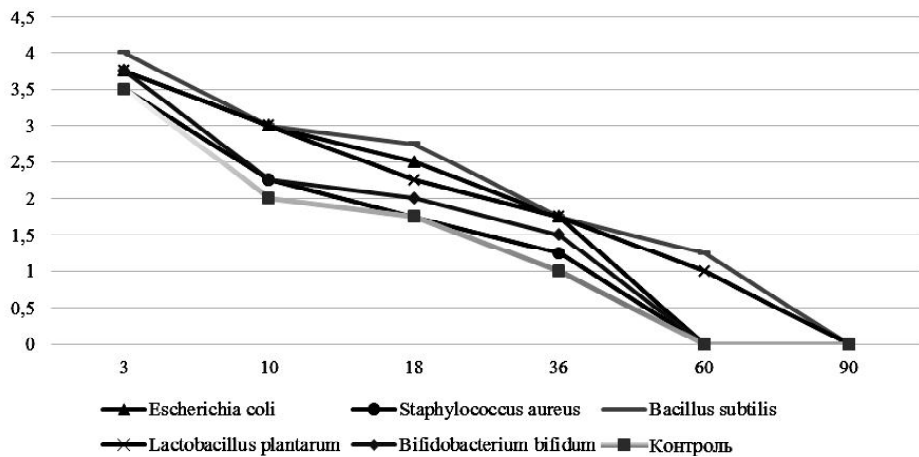


Рис. 3. Титр ентеровірусів після спільного зберігання з різними видами живих мікроорганізмів за температури +20°C.

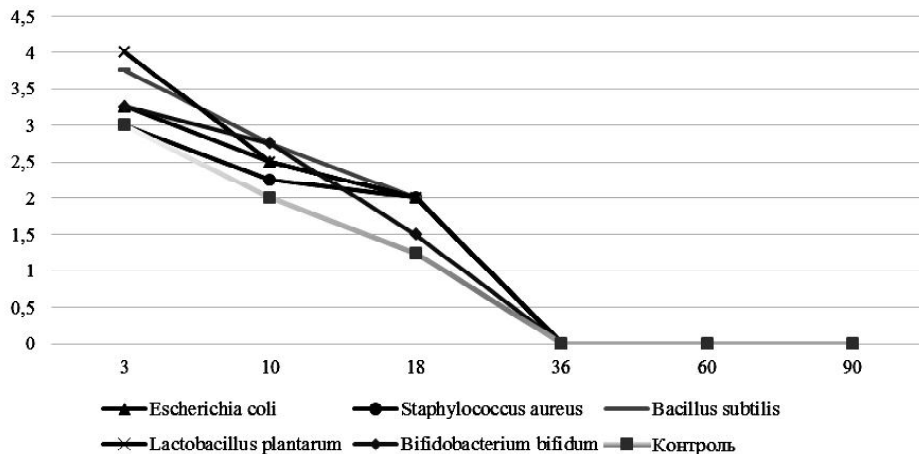


Рис. 4. Титр ентеровірусів після спільного зберігання з різними видами живих мікроорганізмів за температури +37°C.

кал інфікованих вірусом мишей з антибіотиноіндукованим дисбіозом, та мишей контрольної групи, гомогенізували та розводили в живильному середовищі 199, витримували при температурі 37° та 40°C, фільтру-

вали та титрували класичним мікрометодом [20]. Вихідний титр вірусу становив 5,5-Ig₁₀. В експерименті брали участь тварини, які отримували антибіотики (дослідна група), та ті, що не отримували антибіотики (контрольна група).

Отже, результати експерименту свідчать про те, що тривалість збереження інфекційної активності ентеровірусів у фекальних масах тварин як з непорушеною мікрофлорою (контрольна група) так і з антибіотиноіндукованим дисбіозом (дослідна група) статистично не відрізняється (рис. 1). Разом з тим, при періодичному контрольному титруванні зафіксовано, що титри досліджуваного вірусу були достовірно вищими в контрольній групі. Так, наприклад, на 48 годину збереження при температурі 37°C титр вірусу, який знаходився у фекальних масах тварин зі збереженою мікрофлорою становив 1±0,24-Ig₁₀, натомість у фекальних масах тварин з дисбіотичними порушеннями - 0,25±0,14-Ig₁₀ (P₁<0,01).

Одержані результати дають підстави вважати, що вищий титр вірусів у фекальних масах тварин пов'язаний з присутністю мікроорганізмів, які формують нормальну мікрофлору кишківника тварин. В розрізі отриманих даних подальші дослідження були направлені на з'ясування питання впливу деяких мікроорганізмів бактеріальної природи на тривалість збереження інфекційності ентеровірусів в лабораторних умовах при різних температурах в умовах in vitro. Експерименти проводили з живими мікроорганізмами: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (УКМ В-5020), *Lactobacillus*

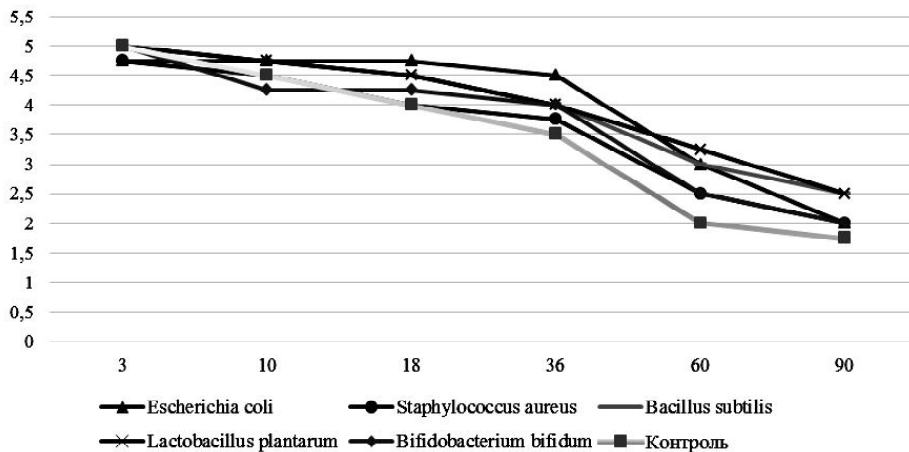


Рис. 5. Титр ентеровірусів після спільного зберігання з різними видами убитих мікроорганізмів за температури +4°C.

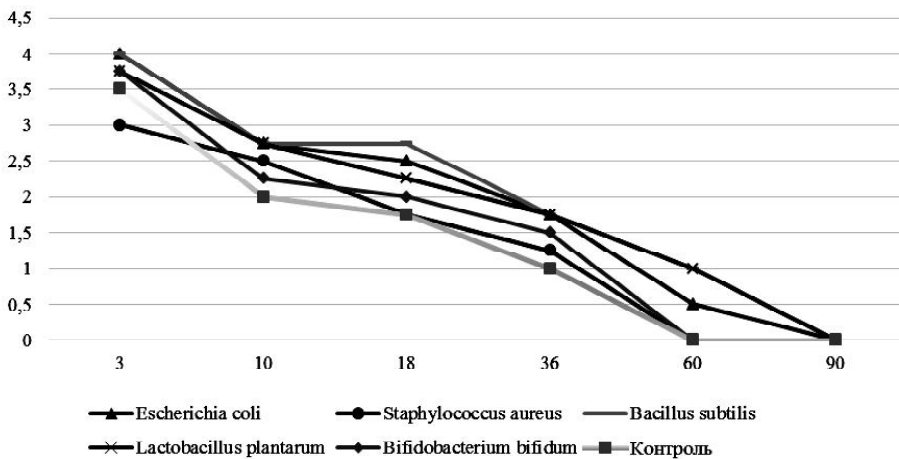


Рис. 6. Титр ентеровірусів після спільного зберігання з різними видами убитих мікроорганізмів за температури +20°C.

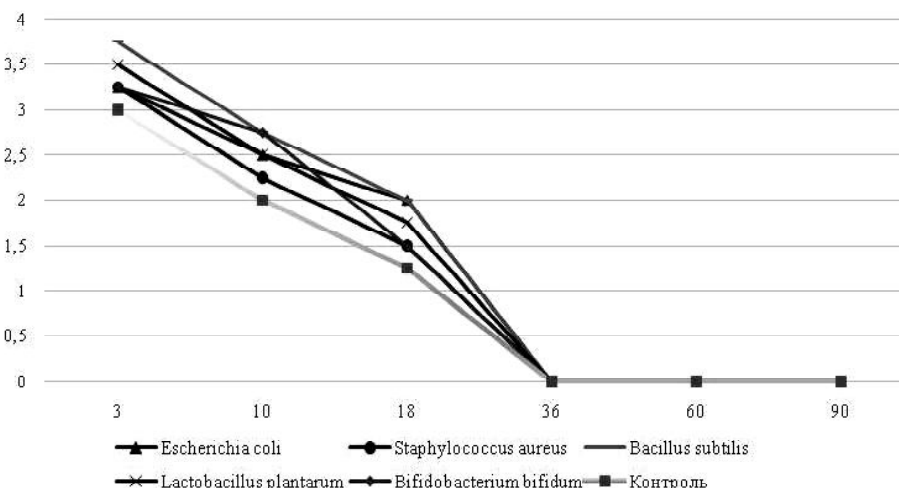


Рис. 7. Титр ентеровірусів після спільного зберігання з різними видами убитих мікроорганізмів за температури +37°C.

тягом 45 хв. Концентрацію мікробних клітин визначали за допомогою оптичного стандартумутності (ОСО - 42-28085 на 10 ОД), виробництва ДІСК імені Л.А. Тарасовича). Концентрація бактеріальних клітин складала 10^8 КУО/мл.

Після зберігання вірусу поліомієліту 1 типу (штам Lsc2ab) разом з мікроорганізмами, суміш фільтрували і фільтратом інфікували культури клітин, контролем слугували віруси який знаходився в аналогічних умовах, без присутності вищезгаданих мікроорганізмів.

Результати досліджень, представлені на рисунках 2-7 в цілому свідчать про зростання виживання ентеровірусів в умовах присутності мікроорганізмів бактеріальної природи. Разом з тим, слід відмітити, що на збереження інфекційності ентеровірусів позитивно впливає наявність як живих, так і інактивованих бактерій. Найбільш виражену різницю в титрах спостерігали при спільному зберіганні вірусів і бактерій при температурі +20°C (рис. 3 та 6). Найкраще сприяє збереженню інфекційності вірусів присутність в матеріалі таких мікроорганізмів, як *Bacillus subtilis* та *Lactobacillus plantarum*. При спільному зберіганні вірусів та даних видів мікробів віруси здатні виживати до 60 діб, в той час, як у контролі за зазначених умов присутності інфекційного вірусу знайдено не було.

При співкультивуванні вірусів та бактерій за +4°C достовірної різниці у збереженні інфекційності відмічено не було.

При +37°C краще ентеровіруси зберігались за умов присутності в матеріалі таких мікроорганізмів, як *Bacillus subtilis* та *Escherichia coli*.

plantarum (8P-A3), *Bifidobacterium bifidum* (№ 791) та інактивованими шляхом автоклавування при 1 атм про-

Висновки та перспективи подальших розробок

1. На противагу вже відомої користі, яку має нормальна мікрофлора, показано здатність вірусів використовувати кишковий мікробом для забезпечення збереження своєї інфекційності. Сформульовано наукову гіпотезу про можливий противірусний ефект за рахунок пригнічення антибіотиками нормальної мікрофлори.

Вивчення механізмів сприяння мікробіомом розвитку вірусних захворювань може ініціювати розробку нових ефективних противірусних стратегій. Для визначення особливостей взаємовідносин між вірусами і бактеріями під час розвитку інфекційного процесу, а також аналізу, чи можуть інші вірусні та бактеріальні агенти утворювати своєрідний симбіотичний зв'язок в організмі людини, необхідні подальші дослідження.

Список посилань

- Grohmann, G. R., Glass, I., Gold, J., James, M., Edwards, P., Gold, J... Monroe, S. S. (1991). Outbreak of human calicivirus gastroenteritis in a day-care center in Sydney, Australia. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 544-550.
- Hanahan, D., & Weinberg R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
- Handley, S. A., Thackray, L. B., Zhao, G., & Bushman, F. D. (2012). Pathogenic simian immunodeficiency virus infection is associated with expansion of the enteric virome. *Cell*, 151, 253-266.
- Karst, S. M., Wobus, C. E., Lay, M., Davidson, J., & Virgin, H. W. (2003). STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science*, 299, 1575-1578.
- Kernbauer, E., Ding, Y., & Cadwell, K. (2014). An enteric virus can replace the beneficial function of commensal bacteria. *Nature*, 516, 94-98.
- Liste, M. B., Natera, I., Suare, J. A., Pujol, F. H., Liprandi, F., & Ludert, J. E. (2000). Enteric Virus Infections and Diarrhea in Healthy and Human Immunodeficiency Virus-Infected Children. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(8), 2873-2877.
- Michael, C. (2014, January 22). Purdy Viruses may play unexpected role in inflammatory bowel diseases. Retrieved from <http://news.wustl.edu/news/Pages/27891.aspx>.
- Minot, S., Sinha, R., Chen, J., Li, H., Keilbaugh, S. A., Wu, D. G... Bushman, F. D. (2011). The human gut virome: inter-individual variation and dynamic response to diet. *Genome Research*, 21, 1616-1625.
- Modi, S. R., Lee, H. H., Spina C. S., & Collins J. J. (2013). Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome. *Nature*, 499, 219-222.
- Ninomiya, M., Takahashi, M., Nishizawa, T., Shimosegawa T., & Okamoto H. J. (2008). Development of PCR assays with nested primers specific for differential detection of three human anelloviruses and early acquisition of dual or triple infection during infancy. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, 507-514.
- Norman, J. M., Handley, S. A., & Virgin, H. W. (2014). Kingdom-agnostic metagenomics and the importance of complete characterization of enteric microbial communities. *Gastroenterology*, 146, 1459-1469.
- Ott, C., L. Duret, L., Chemin, I., Trlpo, C., Mandrand, B., & Komurian-Pradel F. (2000). Use of a TT virus ORF1 recombinant protein to detect anti-TT virus antibodies in human sera. *Journal of General Virology*, 81, 2949-2958.
- Mangafas, N., Marios, L., Lazanas, M., & Levidiotou-Stefanou, S. (2004). Enteroviral Infection in Greek AIDS Patients. *Molecular Diagnosis*, 8(1), 11-16.
- Sharon, K. K., Gavin, T. B., & Chris, A. E. (2011). Intestinal microbiota promote enteric virus replication and systemic pathogenesis. *Science*, 334(6053), 249-252.
- Shirobokov, V. P., Bobyr, V. V., Doan, S. I., Shcherbinskaya, A. M. & Ponyatovski V. A. (2012). Enteric viruses have spread the word HIV-infected. *Preventive medicine*, 1(17), 22-25.
- Virgin, H. W. (2014). The virome in mammalian physiology and disease. *Cell*, 157, 142-150.
- Wobus, C. E., Karst, S. M., Thackray, L. B., Chang, K., Sosnovtsev, S. V., Belliot, G... Virgin, H. W. (2004). Replication of norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. *PLoS Biology*, 2(12), 2076-2084.
- Xi, Z., Ramirez, J. L., & Dimopoulos, G. (2008). The *Aedes aegypti* toll pathway controls dengue virus infection. *PLoS Pathogens*, 4(2), 12.
- Бобир, В. В., Понятовський, В. А., Дюжикова, О. М., & Ширококов, В. П. (2015). Способи моделювання дисбіотичних порушень на лабораторних тваринах. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 24, 230-233.
- ВООЗ. (2005). Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита. Женева.
- Про захист тварин від жорстокого поводження. №3447-15 § розд. 27 ст. 230 (2006).

Бобир В.В., Понятовский В.А., Дюжикова Е.М., Назарчук А.А., Настенко В.Б., Ширококов В.П. ВЛИЯНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ НА СОХРАНЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОСТИ ЭНТЕРОВИРУСОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В работе приведены результаты исследования влияния бактериальной микрофлоры кишечника на продолжительность сохранения инфекционности энтеровирусов в условиях *in vivo* и *in vitro*. По результатам исследования показана способность энтеровирусов сохранять инфекционную активность в фекальных массах животных с сохраненной микрофлорой и при антибиотикоиндуцированном дисбиозе. Установлена связь между ростом титра вирусов в фекальных массах животных и наличием микроорганизмов. Доказано повышение жизнеспособности вируса полиомиелита 1 типа (штамм Lsc2ab) во время хранения в условиях присутствия бактерий. Установлено, что присутствие *Vacillus subtilis* и *Lactobacillus plantarum* лучше способствует сохранению инфекционности вирусов до 60 суток. Сформулирована научная гипотеза о возможном противовирусном эффекте антибиотиков на фоне формирования дисбиотических состояний.

Ключевые слова: антибиотики, дисбиоз, энтеровирусы, инфекция, кишечная микрофлора.

Bobyr V.V., Ponyatovsky V.A., Dyuzhikova O.M., Nazarchuk O.A., Nastenko V.B., Shirobokov V.P. INFLUENCE OF THE INTESTINAL MICROBIOTA TO THE REPRODUCTION OF ENTEROVIRUSES IN THE EXPERIMENT

Summary. *The results of the study of the influence of bacterial microflora of the intestine on the duration of the preservation of enterovirus infectivity in in vivo and in vitro conditions are presented in this work. According to the results of the study, the ability of enteroviruses to maintain infectious activity in fecal masses of animals with preserved microflora and in conditions of antibiotic induced dysbiosis has been shown. The connection between the growth of virus titres in fecal masses of animals and the presence of microorganisms has been established. Increased viability of the polio virus of type 1 (Lsc2ab strain) has been shown during storage in the presence of bacteria. The presence of Bacillus subtilis and Lactobacillus plantarum has been established to the best contributing in maintaining the infectivity of viruses to 60 days. The scientific hypothesis about the possible antiviral effect of antibiotics on the background of formation of dysbiotic states has been formulated.*

Key words: *antibiotics, dysbiosis, enteroviruses, infection, intestinal microflora.*

Рецензент - д.мед.н., проф. Г.К. Палій

Стаття надійшла до редакції 21.04.2017 р.

Бобир Віталій Васильович - к.мед.н., доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; vitaliboby@ukr.net

Понятовський Вадим Анатолійович - асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; vadpon@yandex.ru

Дюжикова Олена Михайлівна - к.мед.н., доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; narinede@mail.ru

Назарчук Олександр Адамович - к.мед.н., старший викладач кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; +38(097)7293761; nazarchukoa@gmail.com

Настенко Володимир Борисович - асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; encelades@rambler.ru

Широбоков Володимир Павлович - академік НАН та НАМН України, заслужений діяч науки і техніки України, д.мед.н., проф., завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; v.p.shyrobokov@gmail.com

© Комнацька К.М., Черешнюк І.Л., Ходаківська О.В., Ходаківський О.А.

УДК: 617.7-001.31:612.018:615.217:519.67

Комнацька К.М.^{1,2}, Черешнюк І.Л.^{1,2,3}, Ходаківська О.В.⁴, Ходаківський О.А.^{1,4}

Навчально-науково-дослідна лабораторія з доклінічної оцінки нових лікарських засобів та біологічно-активних сполук "Фармадар" (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, Україна), Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова: кафедра очних хвороб²; науково-дослідний центр³; кафедра фармакології⁴ (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА АНТИАПОПТОТИЧНОЇ ТА АНТИНЕЙРОГЛІОПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ У МЕЛАТОНІНУ ТА ЦИТИКОЛІНУ НА КЛІТИНИ СІТКІВКИ ПРИ КОНТУЗІЙНІЙ ТРАВМІ ОКА ЗА ДАНИМИ ПРОТОВОКОВОЇ ЦИТОМЕТРІЇ

Резюме. *В даній роботі, використовуючи протоковий цитометричний аналіз, здійснено порівняльну оцінку впливу мелатоніну і цитиколіну на перебіг апоптотичних процесів в клітинах сітківки у кролів на тлі модельної контузії ока за наявності фрагментованою ядерною ДНК. Паралельно, переслідувалась мета виявити їх можливу антинейрогліопрولیферативну активність. Встановлено, що мелатонін терапевтично-ефективною дозою 10 мг/кг доведено, за величиною антиапоптотичного ефекту, який розраховано виходячи із кількості клітин в сітківці, ядерна ДНК яких має ознаки фрагментації, переважає цитиколін (250 мг/кг), в середньому, у 1,55 рази, $p < 0,05$. Аналогічна терапія контузії ока у кролів досліджуваними препаратами, профілакувала та обмежувала явища нейрогліальної проліферації, що знайшло своє віддзеркалення у достеменно меншій кількості клітин, ДНК яких знаходиться на стадії поділу, при переважанні мелатоніну над цитиколіном, у середньому, в 1,55 рази, $p < 0,05$.*

Ключові слова: *мелатонін, цитиколін, апоптоз, ретинопротекція, контузія ока, протокова цитометрія.*

Вступ

Пілотна скринінгова оцінка наявності та величини нейроретинопротективної активності у мелатоніну довела не тільки нові фармакодинамічні аспекти препарату, а й дозволила встановити умовно-ефективну терапевтичну дозу, яка забезпечує окреслений вид фармакологічного ефекту, як складову більш ширшого феномену - офтальмопротективної дії препарату на зоровий аналізатор [1, 2, 7]. Після припинення впливу травмуючого агента, первинне вогнище деструктивно-

дегенеративних ретинальних змін в сітківці є гетерогенним та неоднорідним. В його утворенні приймають участь два основних типи елімінації необоротно пошкоджених клітинних елементів без чітких демаркаційних розмежувань - апоптоз та некроз (некробіоз). На попередньому етапі, використовуючи можливості імуноферментного аналізу, нам вдалось провести визначення в крові параметру активності маркера деструкції мембран нейронів гангліозного шару сітківки - нейрон-спе-