

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"¹ (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 наявною 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-

цифічної енолази, та опосередковано окреслити масштаби некробіозу в нейронах гангліозного шару сітківки [3, 7]. Аналізувати окреслені зміни, саме в такому аспекті, є всі підстави, оскільки провідна морфологічна ознака некрозу - це порушення цілісності мембранної стінки, що і обумовлює потрапляння енолази у поза-нейрональний простір, а вже з відти - у кров. Звісно, некротичні явища відбуваються не лише в нейронах сітківки, а мають місце і у інших структурних елементах зорового аналізатора. Нажаль, для нас є недоступним коло можливостей при диференціації некробіозу нейронів серед таких змін з-поміж решти високоспеціалізованих клітин ока. Однак, подібна верифікація доступна для конкурентного різновиду клітинної смерті - апоптозу. Номенклатурний комітет по клітинній смерті визначив чіткі критерії, які дають можливість ідентифікувати апоптоз [11]. І одним із маркерів необоротного апоптозу є виявлення ядерної ДНК із явищами фрагментації, що можна довести використовуючи протоково-цитометричний аналіз. Останній дає змогу визначити наявну ядерну ДНК з набором хромосом меншим за диплоїдний (2n), що, зважаючи на факт аналізу клітин соматичних, а не статевих, дає змогу достеменно вказувати саме на апоптоз [7].

Пізній постконтузійний період характеризується організацією деструктивного вогнища та певними репаративними явищами в межах обмеженої, за рахунок високої спеціалізації клітинних елементів зорового аналізатора, регенерації. Активація проліферативних процесів, що пов'язана із інтенсифікацією реплікаційної активності ядерної ДНК клітин, які входять до загального пулу сітківки, є закономірною патоморфо-функціональною відповіддю тканини на альтерацію внаслідок некротичних або апоптотичних процесів. Наростання проліферативної активності в нейрогенних структурах зорового аналізатора, асоційовано, виключно, із поділом нейроглії. На попередньому етапі ми це довели використовуючи ензиматичний тест імуноферментного аналізу [3, 7]. Даний етап ілюструє нейрогліопрولیферативні зміни саме в гангліозному шарі сітківки. Розмежувати ці зміни можна за допомогою окремої протокової ДНК-цитометрії суспензії клітин сітківки [7].

Як було нами з'ясовано на попередніх етапах, з-поміж такої лінійки препаратів як тіотриазолін, корвітин та цитиколін, останній вирізняється максимальною нейрогенною спрямованістю, що добре співвідноситься із його фармакодинамічними аспектами [1, 2, 7]. Іншим препаратам порівняння також притаманний вплив на нейротицити гангліозного шару сітківки та нервові волокна зорового нерву, однак цей ефект вірогідно поступався цитиколіну. Зважаючи на це, ми дійшли висновку, що при проведенні специфічних, високотехнологічних та (або) коштовних експериментальних стандартних операційних процедур, на кшталт протоково-цитометричного аналізу, на етапах виявлення нейрогенної складової, як однієї із провідних ланок загальної оф-

тальмопротективної дії мелатоніну, в якості препарату порівняння в дизайні дослідження доцільним є присутність лише одного, найбільш активного препарату. У даному конкретному випадку мова йде саме за цитиколін. Поряд із цим, коли переслідуються мета зі встановлення дії мелатоніну на інші, анейрональні (не пов'язані із мембранною цілісністю нейронів та волокон зорового нерву), складові зорового аналізатора (задній епітелій рогівки, епітелій кришталика, тощо), або при з'ясуванні біохімічних та функціональних складових його дії, у ролі референсних препаратів можуть виступити і решта інших лікарських засобів, заявлених у дизайні роботи (наприклад корвітин, тіотриазолін), яким притаманний пошуковий вид активності. При цьому, справедливо залишається теза про те, що для протоково-цитометричного аналізу, ми обґрунтовано зупинили свій вибір лише на одному препараті порівняння, приклад чого проілюстровано далі в статті.

Мета роботи - використовуючи протоковий цитометричний аналіз, оцінити вплив мелатоніну на перебіг апоптотичних процесів в клітинах сітківки за наявною фрагментованою ядерною ДНК, дослідити його можливість антинейрогліопрولیферативну активність та порівняти окреслені фармакодинамічні ефекти з іншим нейропротектором - цитиколіном.

Матеріали та методи

Експерименти проведено на 20 кролях-самцях породи Шиншила масою 3,0-3,6 кг. Усі тварини знаходились у віварії ВНМУ на стандартному водно-харчовому раціоні при природному освітленні та вільному доступі до води та корму. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру Міністерства охорони здоров'я України і вимог біоетики згідно до Національних "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (2001), що відповідають положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [4, 5, 10].

Попередньо наркотизованим внутрішньовенно (в/в) пропофолом (40 мг/кг, Kabi, Австрія) кролям, здійснювали впритул холостий постріл вуглекислим газом під тиском у центр рогівки [3, 8, 9]. Через годину - перше введення досліджуваних препаратів з інтервалом 12 год: цитиколіну ("Сомазіна", Ferrer Snternational, S.A., Іспанія), дозою 250 мг/кг, та мелатоніну (Мелатонін, Sigma Chemical Co., St. Louis, США), дозою, відповідно, 10 мг/кг. Мелатонін є погано розчинним у воді, тому його розчин готували *ex tempore* із субстанції - спочатку розчиняли в етанолі і в подальшому доводили 0,9% розчином NaCl (фінальна концентрація етанолу - 5%, мелатоніну - 2,5 мг/мл) [12]. Групі контрольної патології в еквівалентній кількості вводили 0,9% розчин NaCl. Всі препарати вводились в/в повільно в крайову вену вуха [7, 8].

На 7-му добу, після моделювання патології та щоденної терапії, очі швидко підлягали енуклеації з подальшою промивкою холодним розчином 0,9% NaCl (+4-8°C). За допомогою мікрохірургічного інструментарію видалявся задній відрізок та передній відрізок ока з кришталиком. Задній полюс розправлявся таким чином, щоб очне дно було доступне огляду, після чого мікропіпеткою видалялась сітківка.

Відсоткове співвідношення ядер клітин в суспензії клітин сітківки із наявною фрагментованою ДНК до їх загальної кількості у досліджуваному зразку, а також відсоток ядер ДНК яких перебувають у періоді синтезу, визначалося шляхом протоково-цитометричного аналізу на багатофункціональному науково-дослідному однойменному цитометрі "Partec PAS" (Partec, Німеччина). Суспензії ядер отримували за допомогою наборів для дослідження ядерної ДНК, відповідно, CyStain DNA Step 1 та CyStain DNA Step 2 (Partec, Німеччина), до складу яких входить діамідинофеніліндол (DAPI). У процесі виготовлення нуклеарних суспензій використовувались одноразові фільтри CellTrics 50 мкм (Partec, Німеччина). Для флуоресцентного збудження DAPI застосовували ультрафіолет. Якість промаркованих ядерних суспензій констатували із залученням флуоресцентного мікроскопу ЛЮМAM Р-8 (ЛОМО, СРСР) (ультрафіолетове збудження), цифрової камери TView (TUCSEN, Китай), що має роздільну здатність матриці 8 Мп. Із кожного зразка нуклеарної суспензії аналізували 20 тис. об'єктів, що містять ДНК [5, 6, 7].

Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано шляхом виділення SUB-G0G1 ділянки на ДНК-гістограмах перед піком G0G1, оскільки інтервал RN1 вказує на вміст ДНК <2n. Про наявну нейропроліферативну активність судили за фазою S клітинного циклу, виділяючи на ДНК-гістограммах відповідний період, який характеризує відсоткове співвідношення ядер, які перебувають у періоді синтезу ДНК із її вмістом >2n та <4n до їх загальної дослідної кількості [5, 7].

Результати обробляли за допомогою статистичної програми StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t Стьюдента, непараметричний критерій W. Уайта, парний критерій К Вілкоксона - для визначення значущих змін у динаміці всередині групи. Аналіз ДНК гістограм виконували засобами програмного забезпечення проточного цитометру FloMax (Partec, Німеччина).

Результати. Обговорення

Проведене дослідження показало, що на 7-му добу модельної контузії ока важкого ступеню, в сітківці кролів групи контрольної патології верифікується високий рівень апоптозу (табл. 1; рис. 1-4). На користь цього переконливо вказувало вірогідне, відносно інтакту, наростання відсотку ретинальних клітин, які перебувають у фазі SUB-G0G1 клітинного циклу, тобто мають ознаки фраг-

Таблиця 1. Порівняльний вплив лікувального введення мелатоніну і цитиколіну на фрагментацію ядерної ДНК сітківки кролів у постконтузійний період, станом на 7-му добу експерименту ($M \pm m$, $n=5$).

Дослідні групи	% ядер в суспензії клітин сітківки з ознаками фрагментації ДНК (апоптоз)
Інтактні кролі	0,95±0,09
Контузія+0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	13,93±0,56*
Контузія+мелатонін, 10 мг/кг	6,67±0,63**
Контузія+цитиколін, 250 мг/кг	10,33±0,86**

Примітка: * - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; # - $p < 0,05$ відносно контрольної патології; - $p < 0,05$ відносно цитиколіну.

Таблиця 2. Порівняльний вплив лікувального введення мелатоніну і цитиколіну на активність проліферативної фази S клітин сітківки кролів у постконтузійний період, станом на 7-му добу експерименту ($M \pm m$, $n=5$).

Дослідні групи	% ядер в суспензії клітин сітківки що перебувають у фазі S (нейрогліальна проліферація)
Інтактні кролі	0,17±0,03
Контузія+0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	0,75±0,08*
Контузія+мелатонін, 10 мг/кг	0,34±0,04**
Контузія+цитиколін, 250 мг/кг	0,61±0,09**

Примітка: * - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; # - $p < 0,05$ відносно контрольної патології; - $p < 0,05$ відносно цитиколіну.

ментації ядерної ДНК, що анонсує апоптоз, в середньому в 14,66 раз, $p < 0,05$.

При нарізному введенні мелатоніну або цитиколіну, взятих терапевтично-ефективними дозами, відповідно, 10 і 250 мг/кг доведено, зафіксовано кількісно-якісні зміни у співвідношенні ретинальних клітин кролів із модельною контузією зорового аналізатора. Вони перебували на різних фазах клітинного циклу, у т.ч. і фазі

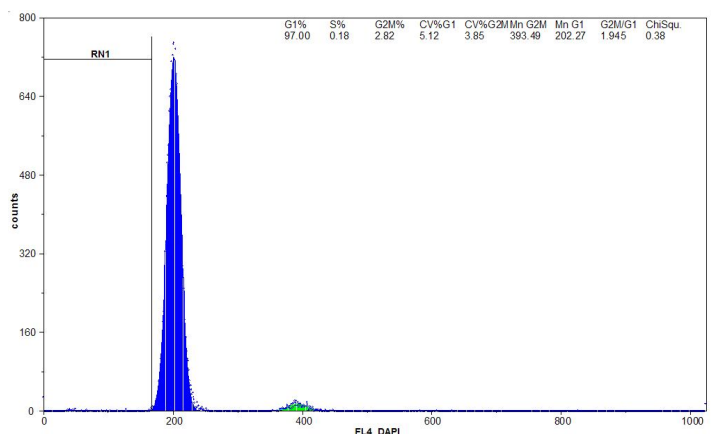


Рис. 1. Приклад обробленої ДНК-гістограми ядерної суспензії клітин сітківки інтактного кроля. Збільшено масштаб осі Y. RN1 - фрагментація ДНК (апоптоз) =0,91%. Синтез ДНК (S%) =0,18%. Кількість подій 10000.

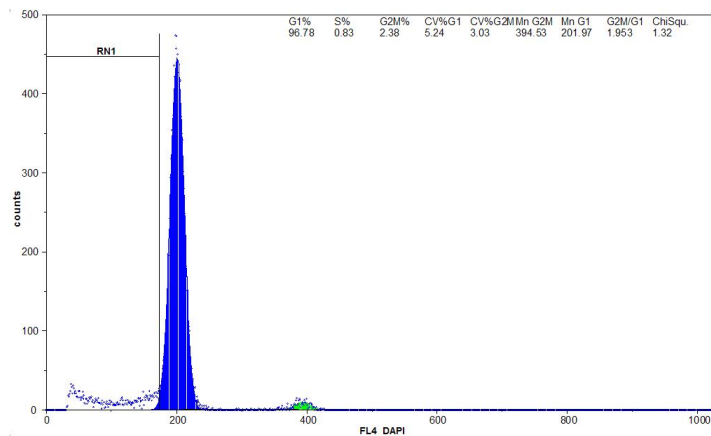


Рис. 2. Приклад обробленої ДНК-гістограми ядерної суспензії клітин сітківки кроля групи контрольної патології із контузією ока на 7-му добу експерименту. RN1 - фрагментація ДНК (апоптоз) =13,84%. Синтез ДНК (S%) =0,83%. Кількість подій 10000.

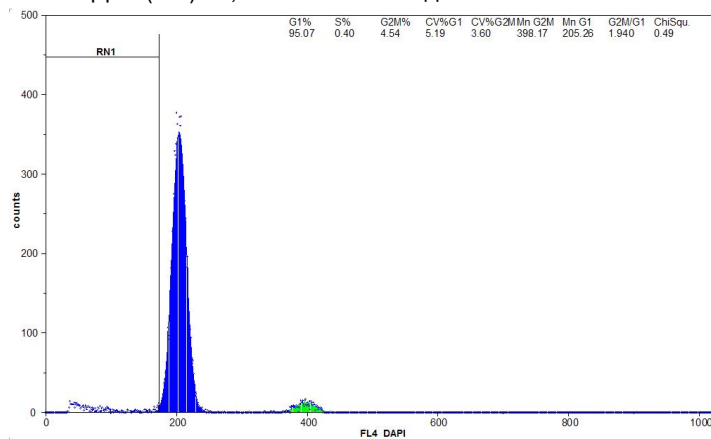


Рис. 3. Приклад обробленої ДНК-гістограми ядерної суспензії клітин сітківки кроля із контузією ока станом на 7-му добу терапії мелатоніном. Збільшено масштаб осі Y. RN1 - фрагментація ДНК (апоптоз) =6,51%. Синтез ДНК (S%) =0,4%. Кількість подій 10000.

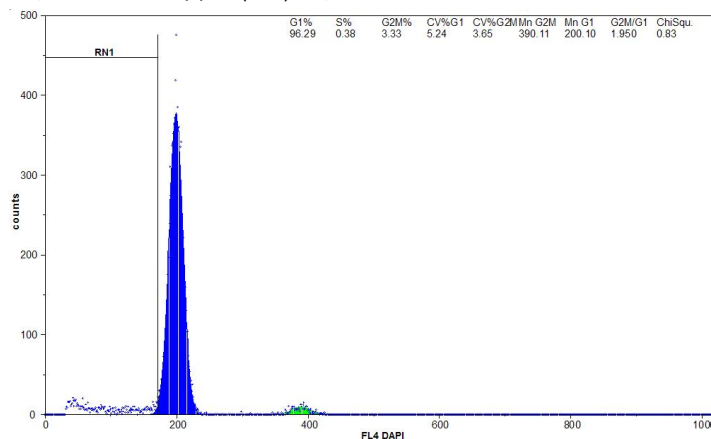


Рис. 4. Приклад обробленої ДНК-гістограми ядерної суспензії клітин сітківки кроля із контузією ока станом на 7-му добу терапії цитиколіном. Збільшено масштаб осі Y. RN1 - фрагментація ДНК (апоптоз) =10,34%. Синтез ДНК (S%) =0,38%. Кількість подій 10000.

SUB-G0G1, яка віддзеркалює фрагментацію ДНК, що верифікує апоптоз. Відносно групи контрольної пато-

логії, показник ідентифікації апоптозу на тлі терапії мелатоніном був вірогідно меншим за такий у групі контрольних тварин в середньому на 52,1%. В цих же умовах, цитиколін зменшує відсоток ядер з ознаками апоптозу в середньому на 25,8%. Порівнюючи ці дані, можна зробити заключення, що мелатонін переважає препарат-порівняння в середньому у 1,55 рази, $p < 0,05$. Таким чином, мелатонін амортизує апоптотичні процеси в сітківці кролів, що є одним із механізмів його ретинопротекторної дії в умовах контузії зорового аналізатора.

На 7-му добу контузії, відмічається ескалація проліферативної активності серед ретинальних клітин за рахунок нейрогліального компоненту (табл. 2; рис. 1-4). На користь подібного твердження вказує вірогідне підвищення в середньому у 4,41 рази відсоткового співвідношення клітин у фазі синтезу ДНК (фаза S) до їх загальної кількості у суспензії. Окреме, фармакотерапевтичне застосування мелатоніну, так само як і цитиколіну, профілакувало та обмежувало явища нейрогліальної проліферації, що знайшло своє віддзеркалення у достеменно меншій кількості клітин, ДНК яких знаходиться на стадії поділу. Хоча за своєю антипроліферативною активністю обидва препарати мають спільний вектор такої фармадинамічної дії, за величиною подібного впливу на поділ нейрогліальних елементів вони вірогідно різняться. У цьому є своя закономірність та передбачуваність. Оскільки нейроглія активується на деструкцію, а за спроможність зберігати цитоархітектонічну єдність сітківки, як показали результати наших попередніх досліджень, мелатонін переважає референт - то відповідно це знайде свій прояв і на активації сполучно-тканинних структур. Аналіз числових даних табл. 2 вказує на те, що на тлі терапії контузії ока у кролів мелатоніном, відсоток ядер в суспензії клітин сітківки, що перебувають у фазі S (нейрогліальна проліферація), була вірогідно меншою, відносно цього показника у групі контрольної патології в середньому у 2,2 рази. Аналогічний показник за умови застосування цитиколіну був меншим за контрольну патологію в середньому лише на 18,7%, хоча це і є достовірним за $p < 0,05$. Відповідно при цьому, мелатонін переважає цитиколін в середньому у 1,8 рази.

Таким чином, мелатонін і цитиколін гальмують активність нейрогліальних елементів у нейрогенних структурах зорового аналізатора в умовах модельної контузії ока, викликані дією потоку вуглекислого газу під тиском, що проявилось у вірогідній деескалації рівня відповідної маркерної цитометричної величини.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. При нарізному введенні кролям із модельною контузією зорового аналізатора мелатоніну або цитиколіну, взятих терапевтично-ефективними дозами відповідно 10 і 250 мг/кг доведено, за величиною антиапоптотичного ефекту, який розраховано виходячи із кількості клітин в сітківці ядра ДНК яких мають ознаки фрагментації, мелатонін переважає препарат-порівняння в середньому у 1,55 рази, $p < 0,05$.

2. Аналогічна терапія контузії ока у кролів досліджуваними препаратами профілакувала та обмежу-

вала явища нейрогліальної проліферації, що знайшло своє віддзеркалення у достеменно меншій кількості клітин, ДНК яких знаходиться на стадії поділу, при переважанні мелатоніну над цитиколіном в середньому у 1,55 рази, $p < 0,05$.

Отримані дані є підґрунтям для більш поглибленого вивчення можливості упровадження даних лікарських засобів, а особливо мелатоніну, як препарату-лідера серед досліджуваної лінійки органопротекторів, в практичну офтальмологічну практику для лікування травматичних уражень зорового аналізатора різного ґенезу.

Список посилань

1. Комнацька, К. М., Ходаківська, О. В., Черешнюк, І. Л., & Ходаківський, О. А. (2017). Експериментальна оцінка впливу нарізного введення мелатоніну, цитиколіну, корвітину та тіотриазоліну на мікроциркуляцію в судинах циліарного тіла кролів після контузії ока заданими лазерної доплерівської флоуметрії. *Медична та клінічна хімія*, 0(2). doi: <http://dx.doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i2.7974>.
2. Комнацька, К. М., Черешнюк, І. Л., Ходаківський, О. А., & Мельник, А. В. (2017). Характеристика внутрішньоклітинних (метаболітотропних) механізмів нейроретинопротективної активності мелатоніну при терапії модельної контузії зорового аналізатора. *Буковинський медичний вісник*, 21(2(1)), 19-23. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXI.2.82.1.2017.5>.
3. Комнацька, К. М., Черешнюк, І. Л., Ходаківський, О. А., & Прокопенко, С. В. (2016). Скринінг наявності та порівняльна оцінка величини нейроретинопротекторного ефекту серед деяких препаратів з антиоксидантною дією або модулювальною активністю на формування глутаматної ексайтотоксичності. *Світ медицини та біології*, 12(4), 105-109. Взят
4. Ляпунова, Н. А., Загорія, В. А., Георгієвського, В. П., & Безуглої, Е. П. (1999). Надлежащая производственная практика лекарственных средств В Н.А. Ляпунова, В.А. Загорія, В.П. Георгієвського, Е.П. Безуглої (Ред.) (с.508-545). Киев: МОРИОН.
5. Черешнюк, А. О., Черешнюк, І. Л., Лисенко, Д. А., & Прокопенко, С. В. (2014). Дослідження фрагментації ДНК в тканинах легень щурів після застосування 0,9% розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5% розчину HAES-LX у гострому періоді опікової хвороби. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, (4-5), 66-72.
6. Черешнюк, І. Л. (2015). Застосування проточної цитометрії для скринінгової оцінки вмісту ДНК в ядрах клітин нейрональної сітківки в щурів. *Вісник морфології*, 21(1), 222-226.
7. Черешнюк, І. Л., Комнацька, К. М., Повх, В. Л., & Ходаківський, О. А. (2015). Комплексний підхід до доклінічної оцінки безпечності нейроретинопротекторів при різних шляхах введення. *Вісник морфології*, 21(2), 379-385.
8. Черешнюк, І. Л., Комнацька, К. М., Повх, В. Л., & Ходаківський, О. А. (2016). Патент України на корисну модель 109424. Київ: Державне патентне відомство України.
9. Черешнюк, І. Л., Комнацька, К. М., Повх, В. Л., & Ходаківський, О. А. (2016). Патент України на корисну модель 109789. Київ: Державне патентне відомство України.
10. DeSimone, F., & Serratos, J. (2005). Biotechnology, animal health and animal welfare within the framework of European Union legislation. *Revue scientifique et technique-Office international des Epizooties*, 24(1), 89-99.
11. Kroemer, G., Galluzzi, L., Vandenabeele, P., Abrams, J., Alnemri, E. S., Baehrecke, E. H., ... & Hengartner, M. (2009). Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell death & differentiation*, 16(1), 3-11. <http://doi.org/10.1038/cdd.2008.150>
12. Maneva, H., Uz, T., Kharlamov, A., Joo, J. Y., Giustic, P., & Cagnoli, C. M. (1997). Melatonin Reduces the Expression of Excitotoxicity-Triggered Markers of Apoptosis 1. *Therapeutic Potential of Melatonin*, 23, 89-98. <http://doi.org/10.1159/000060978>

Комнацька Е.Н., Черешнюк І.Л., Ходаковская О.В., Ходаковский А.А.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИАПОПТОТИЧЕСКОЙ И АНТИНЕЙРОГЛИОПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЛАТОНИНА И ЦИТИКОЛИНА НА КЛЕТКИ СЕТЧАТКИ ПРИ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЕ ГЛАЗА ПО ДАННЫМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Резюме. В данной работе, используя проточный цитометрический анализ, осуществлена сравнительная оценка влияния мелатонина и цитиколіна на ход апоптотических процессов в клетках сетчатки у кролей на фоне модельной контузии глаза по имеющейся фрагментированной ядерной ДНК. Параллельно, преследовалась цель выявить их возможную антинейроглиолиферативную активность. Установлено, что мелатонин, в терапевтически-эффективной дозе 10 мг/кг внутривенно, по величине антиапоптотического эффекта, который рассчитан исходя из количества клеток в сетчатке, ядерная ДНК которых имеет признаки фрагментации, превосходит цитиколіин (250 мг/кг), в среднем в 1,55 раза, $p < 0,05$. Аналогичная терапия контузии глаза у кроликов исследуемыми препаратами, профилакировала и ограничивала явления нейрогліальной пролиферации, что нашло своё отображение в достоверно меньшем количестве клеток, ДНК которых находятся в стадии разделения, преобладание мелатонина над цитиколіном, в среднем, в 1,55 раза, $p < 0,05$.

Ключевые слова: мелатонин, цитиколіин, апоптоз, ретинопротекция, контузия глаза, проточная цитометрия.

Komnatska K.M., Chereshniuk I.L., Khodakivska O.V., Khodakivskiy O.A.

COMPARATIVE EVALUATION OF ANTI-APOPTOTIC AND ANTI-NEUROGLIOPROLIFERATIVE ACTIVITY OF MELATONIN AND CITICOLINE ON THE RETINAL CELLS UNDER CONTUSION OF THE EYE BY FLOW CYTOMETRY ANALYSIS DATA

Summary. *In article, using flow cytometry, a comparative evaluation of the effect of melatonin and citicoline on the course of apoptotic processes in rabbit's retinal cells under experimental eye contusion with fragmentary nuclear DNA was performed. At the same time, the aim was to detect their possible anti-neuroglioproliferative activity. It was established that melatonin by intravenous infusion in a therapeutically effective dose 10 mg/kg on average had a 1,55 higher anti-apoptotic effect ($p < 0,05$) than citicoline, administered in dose 250 mg/kg, calculated based on the number of cells in the retina of nuclear DNA that had signs of fragmentation. Similar treatment of rabbit's eye contusion prevented neuroglial proliferation, which was reflected in a fairly smaller number of cells whose DNA was in the replication phase, with a predominance of melatonin over citicoline by an average of 1.55 times, $p < 0.05$.*

Key words: *melatonin, citicoline, apoptosis, retinal protection, eye contusion, flow cytometry.*

Рецензент - д.мед.н., проф. Волощук Н.І.

Стаття надійшла до редакції 28.04.2017 р.

Комнацька Катерина Миколаївна - асистент кафедри очних хвороб ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ст. лаборант Навчально-науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки нових лікарських засобів та біологічно-активних сполук "Фармадар"; +38(098)3856273; komnatskaya1988@gmail.com

Черешнюк Ігор Леонідович - к.мед.н., с.н.с. науково-дослідного центру ВНМУ ім. М.І. Пирогова, асистент кафедри очних хвороб; +38(068)2102101; vsmulab@gmail.com

Ходаківська Ольга Віталіївна - к.фарм.н., асистент кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова; +380981786074

Ходаківський Олексій Анатолійович - д.мед.н., зав. Навчально-науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки нових лікарських засобів та біологічно-активних сполук "Фармадар", Радник Генерального директора по науці фармацевтичної фірми "Дарниця", професор кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова; +38(098)7910533; aleksey.hodakovskiy@bk.ru

© Матківська Р.М.

УДК: 611.428:57.012.4:611.344:616.5-001.17:57.085

Матківська Р.М.

Національний медичний університету імені О.О. Богомольця (бульв. Шевченка 13, м. Київ, 01601, Україна)

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ СКУПЧЕНИХ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ КЛУБОВОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ ШКІРИ ЗА УМОВ ІНФУЗІЇ ГЕКОТОНУ

Резюме. *Методами світлової та електронної мікроскопії встановлено, що загальним проявом структурних зрушень в скупчених лімфоїдних вузликах клубової кишки (бляшках Пейера) щурів з експериментальною термічною травмою шкіри є некроз і апоптоз функціонально різних клітин, які відбуваються на тлі виразних змін гемо- та лімфомікроциркуляторного русла.*

Нами встановлені фазні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки опечених щурів, судини якого забезпечують можливість виконання необхідної для реалізації імунної функції рециркуляції та трансмуральної міграції імунокомпетентних клітин. Визначено, що опік шкіри індукує некроз та/або апоптоз лімфоцитів, а також клітин фолікуло-асоційованого епітелію та антигенпредставляючих клітин скупчених лімфоїдних вузликів. Компенсація відзначених проявів альтерації здійснюється не тільки за рахунок захисту клітин від тих ушкоджень, які призводять до клітинної смерті, або за рахунок підвищення проліферації неушкоджених клітин (наприклад, виразного мітозу лімфоцитів в гермінативному центрі лімфоїдного вузлика), але й із залученням додаткових механізмів, які мають змінити умови і швидкість рециркуляції імунокомпетентних клітин. Одержані результати свідчать про інтегральну реакцію імунної системи на опік, яка може бути оптимізована і стабілізована за умов своєчасної і адекватної інфузійної терапії з використанням Гекотону.

Ключові слова: *опікова травма шкіри, інфузійна терапія, Гекотон, структурні зміни, скупчені лімфоїдні вузлики.*

Вступ

Термічні ураження шкіри залишаються одним з найпоширеніших видів травматичних уражень, що стало глобальною проблемою [11]. Саме тому, питання вивчення патогенезу опікової хвороби та пошуки чинників запобігання її виникнення при важких термічних опіках шкіри, є предметом інтенсивних експериментальних досліджень [1, 2, 4, 5, 6, 10]. За цих обставин особливу увагу привертають дані [7, 8] про структурні та функціональні зміни скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки (бляшок Пейера), які є визначальною скла-

довою інтестинального мукозального імунітету [9].

Метою нашої роботи є встановлення структурних відмінностей пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін скупчених лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів в різні терміни після експериментальної термічної опікової травми шкіри за умов застосування внутрішньовенної інфузії новітнього багатокомпонентного, полііонного, колоїдно-гіперосмолярного розчину Гекотон (pГ), який за даними дослідників [3] "відкриває нові можливості при проведенні реанімац-