

Климова Т.А., Барышева Е.С., Морозова Н.В., Коробова И.В.
Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, Россия
E-mail: klimovat91@mail.ru

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА *Bacillus* В СИСТЕМЕ ДОСТАВКИ ЖЕЛЕЗА И ЦИНКА В ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Исследования в области дефицитов железа и цинка обусловлены высокой распространенностью железodefицитных и дефицитных состояний цинка по данным официальной статистики Министерства здравоохранения РФ. Известно, что металлы по сравнению с другими элементами имеют способность к биоаккумуляции. Микроорганизмы способны извлекать и концентрировать металлы, в частности данной способностью обладают микроорганизмы, которые входят в состав пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus*.

Изучены возможности доставки железа и цинка в организм лабораторных животных с применением пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus*. В качестве пробиотических штаммов выступали живые и инактивированные бактерии рода *Bacillus*: *B. subtilis* 534, *B. cereus* 5832, *B. licheniformis* 7038 и *B. subtilis* 7048. Полученные данные свидетельствуют о том, что в системе доставки железа наиболее эффективными из исследуемых пробиотических штаммов являются инактивированные *B. licheniformis* 7038 и *B. subtilis* 7048 (увеличение содержания железа в кожном покрове лабораторных животных на 31,7%, в костной ткани – 80,8%, в мышечной ткани – 75,9%). В системе доставки цинка наиболее эффективным оказался штамм *B. subtilis* 534, при этом содержание цинка в кожном покрове лабораторных животных увеличилось на 60%, в костной ткани на 78,5%, в мышечной ткани на 43,6%.

В системе доставки железа наиболее эффективным из исследуемых препаратов является «Ветом-2», а наименее «Споробактерин». В системе доставки цинка наиболее эффективным является «Споробактерин», а наименее «Бактисубтил».

Ключевые слова: железо, цинк, пробиотические штаммы, доставка.

Актуальность исследования обусловлена высокой распространенностью железodefицитных состояний среди женщин репродуктивного возраста – 30–40% по данным официальной статистики Министерства здравоохранения РФ [1], [2].

Пристальный интерес исследователей к данному микроэлементу связан не столько с распространенностью железа в природе, сколько с его участием в сложных метаболических процессах человеческого организма. Немаловажен тот факт, что концентрация железа в организме регулируется исключительно поглощением, а не выделением [3], [4].

Незаменимость цинка для течения кардинальных процессов жизнедеятельности явно проявляется при возникновении его дефицита. Недавние глобальные оценки свидетельствуют о том, что более четверти детей в возрасте до 5 лет отстают в росте и, следовательно, подвергаются повышенному риску смерти и развития других неблагоприятных последствий на протяжении жизни вследствие хронического приобретенного дефицита цинка [5], [6].

Металлы по сравнению с другими элементами имеют способность к биоаккумуляции. Из-

вестно, что микроорганизмы способны извлекать и концентрировать металлы, в частности данной способностью обладают микроорганизмы, которые входят в состав пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* [7], [8].

На основании вышеизложенных данных перед нами была поставлена следующая цель: изучить эффективность применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в системе доставки железа и цинка в организм лабораторных животных.

Материалы и методы исследования

Для проведения эксперимента были выбраны пробиотические штаммы: *B. subtilis* 534 («Споробактерин», производитель препарата – ООО «Бакорен», г. Оренбург (Россия)), *B. cereus* 5832 («Бактисубтил», производитель препарата – «Magion Mettel», Франция), *Bacillus licheniformis* ВКПМ В 7038 и *Bacillus subtilis* ВКПМ В 7048 («Ветом 2», производитель препарата – ООО НП «Исследовательский центр», г. Новосибирск (Россия)). Выделенные микроорганизмы из пробиотических препаратов культивировались с $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$ в жидкой питательной среде (в двух одинаковых партиях). Одна партия

была инактивирована путем автоклавирования. После чего задавали лабораторным животным живые и инактивированные микроорганизмы.

Пробиотические препараты применялись для системы доставки железа и цинка, вводимых в организм в виде FeSO_4 и ZnSO_4 с концентрацией 0,005 моль/л [9].

Экспериментальное исследование было проведено на лабораторных животных (N=42), из них было сформировано семь групп – одна контрольная и шесть опытных по 6 животных в каждой. Контрольная группа животных находилась на общевиварном рационе (K_0), первые три опытные группы получали минеральную диету с добавлением $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$ и живых микроорганизмов пробиотических препаратов: O_1 – «Ветом-2» (живые) + $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$, O_3 – «Споробактерин» (живые) + $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$, O_5 – «Бактисубтил» (живые) + $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$. Следующие три опытные группы находились на минеральной диете с добавлением $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$ и инактивированных микроорганизмов пробиотических препаратов: O_2 – «Ветом-2» (инактивированные) + $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$, O_4 – «Споробактерин» (инактивированные) + $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$, O_6 – «Бактисубтил» (инактивированные) + $\text{FeSO}_4/\text{ZnSO}_4$. Затравки задавались перорально ежедневно в течение семи дней [10].

Взятие биологического материала проводилось с периодичностью в семь дней (фоновое исследование, седьмой день) путём убоя животных методом декапитации с учетом требований

поведения с животными. В качестве биоматериалов нами выбраны костная и мышечная ткани, кожный покров.

Для определения содержания металлов и их солей была использована атомно-абсорбционная спектрометрия, используемая для количественного анализа металлов и их солей [11], [12].

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием t-критерия Стьюдента [13].

Результаты

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что в группах экспериментальных животных с использованием инактивированных микроорганизмов, количества железа в тканях было больше, чем в группах с использованием живых бактерий рода *Bacillus* (см. табл. 1).

На седьмой день исследования по отношению к фоновой группе в опытных группах с применением живых микроорганизмов происходят незначительные изменения. Так в опытной группе O_2 наблюдается увеличение железа на 21,4% в кожном покрове, в костной ткани увеличение железа происходит почти на 80%, в мышечной ткани – 75,9%. В опытной группе O_6 в кожном покрове железо увеличилось на 21,4%, в мышечной ткани на 73,3%, в костной ткани – 78,2%.

Анализируя данные, полученные в системе доставки цинка, наблюдается та же закономерность, что и в системе доставки железа (см. табл. 2).

Таблица 1 – Определение концентрации ионов железа в тканях лабораторных животных в динамике в микрограммах на килограмм

Группы	Фоновое исследование	Через 7 дней
1	2	3
Концентрация ионов металлов в кожном покрове		
K_0	4,63±0,006	4,67±0,006
O_1	3,87±0,003	4,96±0,003***
O_2	3,79±0,008	5,67±0,003***
O_3	3,58±0,003	4,45±0,003**
O_4	3,23±0,003	4,87±0,005**
O_5	3,59±0,006	4,68±0,006
O_6	3,55±0,003	5,91±0,006***
Концентрация ионов металлов в мышечной ткани		
K_0	3,68±0,006	3,65±0,006
O_1	3,55±0,006	5,04±0,003***
O_2	3,87±0,003	6,42±0,003***

Продолжение таблицы 1

1	2	3
O ₃	3,66±0,006	4,13±0,006***
O ₄	3,75±0,003	4,22±0,003***
O ₅	3,77±0,003	4,88±0,006***
O ₆	3,71±0,006	5,96±0,003***
Концентрация ионов металлов в костной ткани		
K ₀	3,64±0,003	3,85±0,006
O ₁	3,56±0,006	5,14±0,003***
O ₂	3,73±0,003	6,96±0,006***
O ₃	3,48±0,006	4,66±0,003***
O ₄	3,69±0,003	4,80±0,006***
O ₅	3,45±0,006	5,16±0,003***
O ₆	3,64±0,003	6,86±0,006***

*p < 0,5; **p < 0,05; ***p < 0,005

Сравнение в отношении K₀ и опытных групп

Таблица 2 – Определение концентрации ионов цинка в тканях лабораторных животных в динамике в микрограммах на килограмм

Группы	Фоновое исследование	Через 7 дней
Концентрация ионов металлов в кожном покрове		
K ₀	0,43±0,003	0,44±0,005
O ₁	0,43±0,003	0,57±0,005***
O ₂	0,43±0,006	0,63±0,008**
O ₃	0,43±0,003	0,81±0,005***
O ₄	0,44±0,008	1,10±0,041***
O ₅	0,43±0,006	0,51±0,008***
O ₆	0,43±0,005	0,57±0,003
Концентрация ионов металлов в мышечной ткани		
K ₀	0,75±0,003	0,75±0,003
O ₁	0,75±0,006	0,93±0,003**
O ₂	0,75±0,006	0,96±0,003**
O ₃	0,75±0,003	1,21±0,005***
O ₄	0,75±0,003	1,33±0,008***
O ₅	0,75±0,003	0,80±0,003***
O ₆	0,75±0,003	0,87±0,003***
Концентрация ионов металлов в костной ткани		
K ₀	0,39±0,003	0,39±0,003
O ₁	0,39±0,005	0,90±0,003*
O ₂	0,39±0,003	0,98±0,003**
O ₃	0,39±0,005	1,68±0,003***
O ₄	0,39±0,003	1,77±0,005***
O ₅	0,39±0,003	0,48±0,003***
O ₆	0,39±0,005	0,51±0,005**

*p < 0,5; **p < 0,05; ***p < 0,005

Сравнение в отношении K₀ и опытных групп

В группах экспериментальных животных с использованием инактивированных микроорганизмов, количество цинка в тканях было больше, чем в группах с использованием живых бактерий рода *Bacillus*. В опытной группе O₂ в кожном покрове цинк увеличился на 31,7%, в мышечной ткани на 21,8%, в костной ткани на 60,2%. В опытной группе O₄ увеличение цинка в кожном покрове составило на 60, в мышечной ткани на 43,6%, в костной ткани – 78,5%.

Обсуждение и заключение

На сегодняшний день очень распространен дефицит железа и цинка. В своем эксперименте мы изучаем возможность использования бактерий рода *Bacillus* в качестве агентов для доставки металлов в организм. Для этого мы выделили живые и инактивированные бактерии рода *Bacillus*, при этом живые бактерии аккумулируют металлы собственно для клетки, а инактивированные являются переносчиками металлов в организм экспериментальных животных.

Биосорбция выбранных металлов (Fe и Zn) обусловлена более легким атомным весом по сравнению с другими металлами и более низким взаимодействием с биологическими компонентами.

Среди исследуемых нами пробиотических штаммов (*B. subtilis* 534, *B. cereus* 5832, *B. licheniformis* 7038 и *B. subtilis* 7048) все обладают хорошей аккумулирующей активностью, однако следует выделить, что в системе доставки железа наиболее эффективным из исследуемых препаратов является «Ветом-2», как с применением живых, так и инактивированных микроорганизмов, а наименее «Споробактерин» – это подтверждается ранее полученными данными по доставке железа в организм лабораторных животных [14]. Эффективность «Ветома-2» возможно связана с тем, что данный пробиотик содержит в своем составе два штамма микроорганизмов. В системе доставки цинка наиболее эффективным является «Споробактерин», а наименее «Бактисубтил» [15].

04.10.2017

Список литературы:

1. Холопов, Ю. А. Тяжелые металлы как фактор экологической опасности: Методические указания к самостоятельной работе по экологии для студентов [Текст] / Ю. А. Холопов. – СамГАПС.: Самара, 2003. – 42 с.
2. Чубуков, В. Ф. Микробы запасают металлы [Текст] / В. Ф. Чубуков // Химия и Жизнь. – 1982. – № 11. – С. 53-55.
3. Фармакологические аспекты применения пробиотиков [Электронный ресурс]. – Ветеринарный центр «ЗООВЕТ». – Москва: ZOOVET.RU, 2006. – Режим доступа: <http://www.zoovet.ru>. – 11.12.2011.
4. Физиология спорообразующих бактерий [Электронный ресурс]. – Ветом. НПФ «Исследовательский центр», разработчик и производитель микробиологических препаратов. – Москва: VETOM.RU, 2011. – Режим доступа: <http://vetom.ru/>. – 14.12.2013.
5. Эффективность применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в системе доставки железа [Текст] / А. Н. Сизенцов, О. В. Кван, С. В. Нотова [и др.] // Вестник восстановительной медицины: изд-во Объединение специалистов восстановительной медицины. – Москва. – 2014. – № 2. – С. 66-75.
6. Дорошенко, М. С. Модифицированные пробиотики в профилактике и лечении желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных и птицы [Текст] / М. С. Дорошенко, Ю. В. Аркуш // III Международная научная интернет-конференция «Инновации и традиции в современной научной мысли», 2012.
7. Буянова, Е. С. Руководство к лабораторному практикуму дисциплины «Оптические методы анализа объектов окружающей среды и пищевых продуктов» [Текст] / Е. С. Буянова, Ю. В. Емельянова. – Уральский государственный университет, 2008. – С. 3-6.
8. Никитина, Ю. Е. Исследование влияния микроэлементов и макроэлементов на организм человека и биоаккумуляции некоторых ионов тяжелых металлов микроорганизмами [Текст] / Ю. Е. Никитина // VIII Международная студенческая электронная научная конференция «Студенческий научный форум – 2016», 2016. – С. 27-28.
9. Sioutas, C. Exposure assessment for atmospheric Ultrafine Particles (UFPs) and implications in epidemiologic research / C. Sioutas, R.J. Delfino, M. Singh // Environmental Health Perspectives. – 2005. - V. 113. - P. 947-955.
10. The role of oxidative stress in the prolonged inhibitory effect of ultrafine carbon black on epithelial cell function / V. Stone, J. Shaw J., D.M. Brown [et al] // Toxicology in Vitro. - 1998. - V. 12. - P. 649-659.
11. Медицинская литература [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые данные. – Москва: Энциклопедия, 2008. – Режим доступа: <http://medbookaide.ru>.
12. Поздеев, О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев. – Москва. : Мир, 2004. – 303 с.
13. Ашмарин, И. П. Статистические методы в микробиологии [Текст] / И. П. Ашмарин, А. А. Воробьев. – Л. : Гос. изд. мед. лит., 1962. – 177 с.
14. Сизенцов, А. Н. Эффективность применения пробиотических препаратов при интоксикации цинком [Текст] / А. Н. Сизенцов // Вестник Ветеринарии: изд-во Энтропос. – Ставрополь. – 2013. – № 2. – С. 34-36.
15. Сизенцов, А. Н. Биоаккумуляция тяжелых металлов микроорганизмами, входящими в состав пробиотических препаратов в условиях in vitro [Текст] / А. Н. Сизенцов, С. А. Пешков // Вестник Оренбургского Государственного Университета: изд-во Оренбургский Государственный Университет. – Оренбург. – 2013. – № 10. – С. 142-144.

Сведения об авторах:

Климова Татьяна Андреевна, аспирант кафедры биохимии и микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: klimovat91@mail.ru

Барышева Елена Сергеевна, заведующий кафедрой биохимии и микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета, доктор медицинских наук, доцент 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: baryshevae@mail.ru

Морозова Наталья Викторовна, магистрант кафедры биохимии и микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: natascha210994@mail.ru

Коробова Ирина Владимировна, магистрант кафедры биохимии и микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: irishka30000@mail.ru