

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ЖЕЛЕЗОМ

Сизенцов А.Н., Кван О.В., Гальченко Т.А.

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», Оренбург, Россия
(460018, г. Оренбург, проспект Победы, 13), e-mail: asizen@mail.ru

Проведены исследования по определению способности пробиотических штаммов микроорганизмов к биоаккумуляции в тканях исследуемых животных. Исследования были выполнены на моделях групп-аналогов лабораторных крыс. В работе использовались три пробиотических препарата: «Споробактерин жидкий», «Ветом-2» и «Бактисубтил». Основу выбранных препаратов составляют бактерии рода *Bacillus*. В качестве токсиканта была использована соль тяжелого металла – сульфат железа. В результате проведенных исследований была проанализирована способность бацилл к биоаккумуляции железа в тканях (костная и мышечная ткани, шкура лабораторных животных), и с помощью атомно-абсорбционной спектрофотометрии определяли концентрацию железа в исследуемом биосубстрате. Было выяснено, что пробиотические препараты не оказали усиленного влияния на биосубстраты за исключением группы контроля, с дополнительным включением сульфата железа. Также было выяснено что пробиотические препараты способствуют снижению токсического действия иона железа в тканях лабораторных животных.

Ключевые слова: железо, пробиотические препараты, биоаккумуляция.

ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF APPLICATION OF PROBIOTIC PREPARATIONS ON THE BASIS OF SORT *BACILLUS* AT INTOXICATION IRON

Sizentsov A.N., Kvan O.V., Galchenko T.A.

Orenburg State University, Orenburg, Russia (460018, Orenburg, prospect Pobedy, 13), e-mail: asizen@mail.ru

Researches on determination of ability of probiotic strains of microorganisms to bioaccumulation in tissues of studied animals are conducted. Researches were executed on models of groups analogs laboratory rats. In work three probiotic preparations were used: «Sporobakterin liquid», «Vetom-2» and «Baktisubtil». The basis of the chosen preparations is made by sort *Bacillus*. As a toksikant salt of heavy metal – iron sulfate was used. As a result of the conducted researches ability of bacilli to iron bioaccumulation in tissues (bone and muscular tissues, a skin of laboratory animals) was analysed and by means of a nuclear and absorbing spectrofotometriya, defined concentration of iron in a studied biosubstratum. It was found out that probiotic preparations have no strengthened impact on biosubstrat except for group of control, with additional inclusion of sulfate of iron. Also it was found out that probiotic preparations promote to decrease in toxic action of an ion of iron in tissues of laboratory animals.

Keywords: iron, probiotic preparations, bioaccumulation.

Введение

Пристальный интерес исследователей к железу связан не столько с распространённостью железа в природе, сколько с участием его в сложных метаболических процессах человеческого организма [9]. Немаловажен тот факт, что концентрация железа регулируется исключительно поглощением, а не выделением.

По данным Jacobs, Worwood (1974), в организме человека массой тела 70 кг имеется 4,5 г железа. Железо как биометалл играет важную роль в митозе клеток, окислительно-восстановительных реакциях, в синтезе ДНК и т.д.

В организме его содержание можно условно разделить на клеточное, неклеточное и железо запаса. Клеточное железо выявляется в следующих соединениях.

1. В первую очередь, в гемопротеинах, основным компонентом которых является гем (гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза и пероксидаза).
2. Железосодержащие ферменты негеминовой группы (сукцинатдегидрогеназа, ацетил-коэнзим-А-де- гидро геназа, НАДН-цитохром, С-редуктаза и т.д.). (И.И. Садовникова Железодефицитная анемия: патогенез, диагностический алгоритм и лечение // Русский медицинский журнал. – 2010. - № 9, Т.18. – С. 540-543).

Самое активное участие в регуляции сорбции и экскреции анионов, катионов, воды принимает микрофлора кишечника. Однако неоднозначно влияние пробиотиков на минеральный обмен человека и животных [1; 2]. Так, для ряда бактерий потребление железа в организме хозяина затруднено из-за его нерастворимости при нейтральных и слабощелочных значениях рН. Рядом авторов доказано, что пробиотические штаммы способны усиливать эндогенные потери минеральных элементов за счёт инкорпорации и выведения.

На основании вышеизложенных данных перед нами была поставлена цель: изучение эффективности применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в системе доставки и выведения железа. Для достижения поставленной цели были выдвинуты следующие задачи: изучить способность исследуемых пробиотических штаммов микроорганизмов к биоаккумуляции в тканях исследуемых животных.

Материалы и методы исследования

Исследования были выполнены в условиях экспериментально-биологической клиники (вивария) Оренбургского государственного университета на модели групп-аналогов лабораторных крыс.

В работе были использованы три пробиотических препарата: «Споробактерин жидкий», «Ветом-2» и «Бактисубтил». Основу выбранных препаратов составляют бактерии рода *Bacillus*.

Препарат «Споробактерин» – представляет собой взвесь биомассы живых бацилл *B. subtilis* 534, белого или слегка желтого цвета со специфическим запахом и соленым вкусом, при отстаивании образуется рыхлый осадок разных оттенков от белого до светло-коричневого цвета.

Препарат «Бактисубтил» – твердые желатиновые капсулы молочно-белого цвета, содержащие аморфный порошок бело-сероватого или бело-желтоватого цвета – споры *B. cereus* IP 5832. Со специфическим запахом, при растворении образует гомогенную взвесь беловато-сероватого цвета.

Препарат «Ветом-2» – представляет собой бинарный препарат из живых бактерий *B. Subtilis* 7048 и *B. Lisheniformis* 7038, лиофильно высушенных в сахарозо-желатиновой среде,

и имеет вид кристаллической или пористой массы разных оттенков белого и бежевого цвета, без запаха, сладковатого вкуса [3].

В качестве токсиканта была использована соль тяжелого металла – сульфат железа.

Исследования были выполнены на модели групп-аналогов лабораторных крыс. При распределении животных на группы необходимо придерживаться общепринятых принципов подбора аналогов, сходных по полу, возрасту, физиологическому состоянию, живой массе. Важное преимущество белых крыс как лабораторных животных заключается в том, что они довольно устойчивы к инфекционным заболеваниям и дают большой приплод.

Исходя из поставленных задач, нами выбран метод атомно-абсорбционной спектrophотометрии.

С целью проведения исследования из 72 особей было сформировано восемь групп – пять контрольных и три опытных. Первая контрольная группа получала основной рацион (K_0), вторая – основной рацион с добавлением сульфата железа из расчёта 150 мг/кг веса тела (K_1), третья – основной рацион с добавлением «Споробактерина» (K_2), четвертая – основной рацион с добавлением «Ветом-2» (K_3), пятая – основной рацион с добавлением «Бактисубтил» (K_4). Три опытные группы получали основной рацион с добавлением сульфата железа и пробиотиков – «Споробактерин» (O_1), «Ветом-2» (O_2), «Бактисубтил» (O_3). Дозировки пробиотиков соответствовали аннотациям препаратов. Подопытные животные находились в одинаковых условиях содержания.

Соль металла задавалась в первый день эксперимента, а пробиотики с первого по седьмой день. Взятие материала проводилось с периодичностью в семь дней (фоновое исследование, седьмой, четырнадцатый и двадцать первый дни) путём убоя животных методом декапитации.

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

Исследования по определению содержания железа в тканях лабораторных животных проводились во Всероссийском научно-исследовательском институте мясного скотоводства (ВНИИМС ГНУ РАСХН) с помощью атомно-абсорбционной спектrophотометрии.

Полученные результаты были статистически обработаны с помощью РС (Excel, Statistica 6.0) с определением средней арифметической величины, ошибки средней арифметической и стандартного отклонения. Для выявления статистически значимых достоверных различий использовали критерий Стьюдента-Фишера по [9].

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований нами была проанализирована способность бактерий к накоплению железа в тканях (для этого брали такие биологические материалы, как кости, мышцы и шкура лабораторных животных), и с помощью атомно-абсорбционной спектрофотометрии определяли концентрацию железа в исследуемом биосубстрате.

Из таблицы 1 мы видим, что в шкуре лабораторных животных наблюдалось достоверное повышение концентрации в контрольной группе с дополнительным введением сульфата железа, а также во II и III опытных группах.

Так, в K_1 через 7 дней концентрация железа достоверно повысилась на 14,3% ($p \leq 0,01$), в группе с дополнительным включением пробиотического препарата и сульфата железа наблюдалось достоверное повышение содержания железа на 10,0% ($p \leq 0,01$) через 14 дней эксперимента и в III опытной группе – достоверно повысился уровень железа на 11,0% и 3,5% ($p \leq 0,01$), через 14 и 21 день эксперимента соответственно.

Таблица 1 – Концентрация железа в шкуре лабораторных животных, мкг/кг

Группы	Фоновое исследование	через 7 дней	через 14 дней	через 21 день
K_0	5,73±0,06	5,77±0,07	5,64±0,18	5,56±0,13
K_1	5,64±0,10	6,58±0,04**	6,48±0,03*	6,78±0,03
K_2	5,76±0,05	5,52±0,12	4,9±0,03	5,08±0,05
K_3	5,47±0,07	5,62±0,07	5,22±0,04	5,93±0,05
K_4	6,00±0,04	5,93±0,07	5,64±0,06	5,7±0,03
O_1	5,86±0,05	6,88±0,03	7,13±0,04	5,72±0,02
O_2	5,46±0,06	6,24±0,06	6,07±0,03**	5,82±0,02
O_3	5,81±0,09	6,81±0,05	6,53±0,02**	6,02±0,02**

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

K_0 – контрольная группа (фоновая), K_1 – контрольная группа с металлом (Fe), K_2 – «Споробактерин», K_3 – «Ветом-2», K_4 – «Бактисубтил», O_1 – «Споробактерин» + металл, O_2 – «Ветом-2» + металл, O_3 – «Бактисубтил» + металл.

Таблица 2 – Концентрация железа в мышечной ткани лабораторных животных, мкг/кг

Группы	Фоновое исследование	через 7 дней	через 14 дней	через 21 день
K_0	5,68±0,03	5,65±0,04	5,66±0,04	5,63±0,04
K_1	5,63±0,03	5,89±0,04	6,64±0,03**	6,72±0,02**
K_2	5,69±0,04	5,70±0,03	5,68±0,03	5,65±0,04
K_3	5,63±0,03	5,79±0,03	5,67±0,02	5,65±0,04
K_4	5,67±0,02	5,71±0,04	5,64±0,02	5,67±0,03
O_1	5,69±0,04	5,81±0,03	4,74±0,04*	4,15±0,04**
O_2	5,56±0,05	5,91±0,05	5,55±0,02	5,04±0,03
O_3	5,69±0,04	6,26±0,04	6,54±0,02**	6,56±0,03**

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

K_0 – контрольная группа (фоновая), K_1 – контрольная группа с металлом (Fe), K_2 – «Споробактерин», K_3 – «Ветом-2», K_4 – «Бактисубтил», O_1 – «Споробактерин» + металл, O_2 – «Ветом-2» + металл, O_3 – «Бактисубтил» + металл.

При анализе мышечной ткани экспериментальных животных было определено, что уровень железа достоверно повышался через 14 и на 21 день эксперимента в контрольной группе с дополнительным включением сульфата железа на 15,2 и 16,2% ($p \leq 0,01$). В группе с включением в рацион пробиотического препарата «Споробактерин» – концентрация железа через 14 дней снизилась на 16,7% ($p \leq 0,05$), а через 21 день – на 27,1% ($P \leq 0,01$). В III опытной группе наблюдалась сходная картина как по содержанию железа в шкуре, через 14 дней и на 21 день – на 13,3% ($P \leq 0,01$) соответственно. В остальных группах изменения были не достоверными (табл. 2).

Таблица 3 – Концентрация железа в костной ткани лабораторных животных, мкг/кг

Группы	Фоновое исследование	через 7 дней	через 14 дней	через 21 день
K_0	5,64±0,04	5,85±0,06	5,85±0,07	5,88±0,05
K_1	5,68±0,06	6,37±0,05	6,13±0,03**	6,06±0,02**
K_2	5,52±0,05	5,6±0,03	5,55±0,05	5,56±0,02
K_3	5,62±0,04	5,65±0,04	5,82±0,05	5,86±0,04
K_4	5,69±0,04	5,73±0,04	5,7±0,04	5,60±0,07
O_1	5,54±0,04	6,10±0,04	6,01±0,02	5,68±0,02
O_2	5,51±0,05	5,91±0,05	5,36±0,03	4,03±0,02
O_3	5,53±0,05	5,69±0,04	6,12±0,02**	6,11±0,03*

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

K_0 – контрольная группа (фоновая), K_1 – контрольная группа с металлом (Fe), K_2 – «Споробактерин», K_3 – «Ветом-2», K_4 – «Бактисубтил», O_1 – «Споробактерин» + металл, O_2 – «Ветом-2» + металл, O_3 – «Бактисубтил» + металл.

При анализе костной ткани исследуемых животных в I контрольной группе мы наблюдаем также повышение концентрации железа через 14 дней эксперимента на 7,3% и на 6,3% на 21 день эксперимента ($P \leq 0,01$). Картина в III опытной группе была следующая: через 14 дней уровень железа повысился от 5,53 до 6,12 мкг/кг ($P \leq 0,01$) и через 21 день до 6,11 мкг/кг ($p \leq 0,05$) в абсолютном значении (табл. 3).

Выводы

1. В результате исследования было выявлено, что пробиотические препараты не оказывают усиленного влияния на биосубстраты (мышечная и костная ткани, шкура), за исключением группы контроля, с дополнительным включением сульфата железа.
2. В результате определения способности бактерий рода *Bacillus*, входящих в состав исследуемых пробиотиков, к накоплению тяжелых металлов в тканях лабораторных

животных выявили, что препараты способствуют снижению токсического действия иона железа в биологических тканях экспериментальных животных. Наибольшей аккумулярующей способностью обладает костная ткань и шкура.

Список литературы

1. Сизенцов А.Н. Экологические аспекты аккумуляции свинца и цинка пробиотическими препаратами на основе бактерий рода *Bacillus* / А.Н. Сизенцов, А.И. Вишняков, А.Е. Новикова // Вестник ОГУ. – 2011. - № 4. – С. 7–9.
2. Сизенцов А.Н. Применение пробиотических препаратов при интоксикации свинцом // Вестник ветеринарии. - 2012. - Т. 63, N 4. – С. 147-148.
3. Сизенцов А.Н. Эффективность применения пробиотических препаратов при интоксикации цинком // Вестник ветеринарии. - 2013. - N 2. – С. 34-36.
4. Оберлис Д. Биологическая роль макроэлементов и микроэлементов / Д. Оберлис, Б. Харланд, А. Скальный. - СПб. : Наука, 2008. – С. 542.
5. Шендеров Б.А. Пробиотики, пребиотики и синбиотики. Общие и избранные разделы проблемы // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2005. – № 2. – С. 23-26.
6. Садовникова И.И. Железодефицитная анемия: патогенез, диагностический алгоритм и лечение // Русский медицинский журнал. – 2010. – Т. 18, № 9. – С. 540-543.
7. Miroshnikov S.A. The influence of probiotic preparations on exchange of heavy metals / S.A. Miroshnikov, O.V. Kvan, A.V. Skalny, S.V. Lebedev, Sh.G. Rahmatullin. – Т.8., N. 3. – 2007. – P. 43-44.

Рецензенты:

Дерябин Д.Г., д.м.н., профессор, ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», г.Оренбург.

Лебедев С.В., д.б.н., ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», г.Оренбург.