

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА BACILLUS НА МОРФОЛОГИЮ ОРГАНОВ-МИШЕНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ СВИНЦА

Бабушкина А.Е.

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», Оренбург, Россия (460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13), e-mail: lady.alena-babushkina@yandex.ru

Изучено влияние «Споробактерина» и «Бактисубтила» на печень и селезенку млекопитающих при интоксикации солями свинца. В качестве основной характеристики патологического состояния печени выбран размер ядер. В результате исследования выявлены патологические изменения у групп контроля металла на протяжении всего исследования – ядра гепатоцитов были увеличены в два раза. Соотношение красной и белой пульпы характеризуют нормальное или патологическое состояние селезенки. У групп контроля металла наблюдалось увеличение соотношения в сторону красной пульпы, при этом практически отсутствовала белая пульпа. В контрольных группах с применением пробиотиков достоверных изменений морфологии органов-мишеней не наблюдалось. Более того, патологические изменения не выявлены при применении пробиотиков после интоксикации солями свинца в опытных группах.

Ключевые слова: «Споробактерин», «Бактисубтил», Bacillus, печень, селезенка.

EFFECTS OF PROBIOTIC PREPARATIONS ON THE BASIS OF BACTERIA OF THE GENUS BACILLUS ON THE MORPHOLOGY ORGANS - TARGET MAMMALS INTOXICATION WITH LEAD SALTS

Babushkina A.E.

Orenburg State University, Orenburg, Russia (460018, Orenburg, avenue Pobeda, 13), e-mail: lady.alena-babushkina@yandex.ru

The effect of Sporobacterin and Baktisubtil on the liver and spleen of mammals in intoxication with lead salts. As the main characteristics of the pathological state of the liver size is selected nuclei. The study revealed pathological changes in the control group metal throughout the study - the nucleus of hepatocytes were increased twice. The ratio of red and white pulp characterize normal or pathological condition spleen. In-groups of controls, an increase in the ratio of metal to the side of the red pulp, with practically no white pulp. In the control groups using probiotics significant changes in the morphology of the target was not observed. Moreover, pathological changes are not identified in the application of probiotics after intoxication lead salts in the experimental groups.

Keywords: Sporobacterin, Baktisubtil, Bacillus, liver, spleen.

Введение

Интенсификация промышленного производства и несовершенство очистных сооружений ведут к неуклонному росту уровня загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами. Как элементы-следы, некоторые тяжелые металлы (например, медь, цинк) необходимы для поддержания метаболизма млекопитающих. Однако при более высоких концентрациях они могут вести к губительным последствиям. Так, например, свинец, попадая в организм, вызывает свинцовую интоксикацию. Органами-мишенями при отравлении свинцом являются кроветворная и нервная системы, почки [1; 2].

Проблема загрязнения окружающей среды и организма человека тяжелыми металлами привела к необходимости детального изучения их поступления, распределения и накопления в организме.

Выяснение закономерностей, определяющих состояние и поведение тяжелых металлов в окружающей среде, — одна из ответственных научных задач. Металлы присутствуют в ничтожно малых количествах, но играют важную роль, входя в состав биологически активных веществ, регулирующих нормальную жизнедеятельность организмов [2].

Концентрация их в обычных условиях не велика. К тому же минеральные процессы связаны с естественными биологическими, а это уравнивает присутствие тяжелых металлов. Другое дело — антропогенные источники попадания ионов металлов в воды при добыче нефти, угля, руды, а еще с промышленными отходами. Много загрязнений токсичными металлами вносится в воды и с сельскохозяйственными стоками. Тяжелые металлы присутствуют в виде коллоидных частичек в смеси с органическими и неорганическими веществами. Одной из форм таких токсичных металлов являются различные формы алкильных соединений ртути и таллия. Существуют в воде такие алкильные соединения мышьяка, олова, свинца, селена, кадмия. Такие вещества способны образовывать высокотоксичные органические соединения, вредные для всего живого даже в ничтожно малых количествах. Образование различных соединений металлов с органическими веществами приводит часто к новым, ранее не известным явлениям. Например, оказалось, что диметилртуть — довольно летучее металлоорганическое соединение - обнаружено в воздухе. Это вещество в свою очередь может подвергаться дальнейшим химическим реакциям (например, под воздействием ультрафиолетового излучения) и распадаться, а продукты распада — выпадают в виде ртутных дождей. В гидросферу ежегодно попадает тысячи тонн летучей и растворимой ртути. Загрязнение речной воды сказывается и в пищевых цепях.

Для токсического действия необходим контакт ксенобиотика с биологическим субстратом – объектом этого действия. Контакт может осуществляться при циркуляции вещества во всех жидких средах организма (крови, межтканевой жидкости), а также при непосредственном соприкосновении с оболочками клеток, цитоплазмой и её составными элементами [5].

Резорбция и распределение, а также выделение металлов, как и вообще экзогенных ядов, в конечном итоге схематически представляют как ряд процессов распределения между внешней средой и биосредами. В свою очередь в биосредах - организмах - происходит

перераспределение между фазами: кровью и тканевыми и межклеточными жидкостями, между последними и клетками, между внутриклеточными структурами [12].

Концентрация металлов в месте действия является результатом динамических процессов всасывания из места поступления, проникания в жидкие среды, транспорта, распределения в органах и тканях, химических превращений в последних и процессов выведения из организма.

Загрязнение окружающей среды, в первую очередь микроэлементами из группы тяжелых металлов, способствует их накоплению и, как следствие, резкому снижению биопотенциала экосистем [4].

Как элементы-следы, некоторые тяжелые металлы необходимы для поддержания метаболизма млекопитающих. Однако при более высоких концентрациях или в соединениях они могут вести к губительным последствиям [5].

Для осуществления непосредственного контакта любого ксенобиотика с тканями, клетками, рецепторами ему приходится проникать через множество пограничных поверхностей – биологических мембран. Роль последних играет кожа, слизистая желудочно-кишечного тракта, эндотелии сосудов, альвеолярный эпителий, вообще гистогематические барьеры, оболочка клеток, внутриклеточных структур и т.д. Биологические мембраны имеют белково-липидную структуру. Клеточные мембраны представляют самостоятельный структурный элемент, активно участвующий в процессах обмена веществ. Мембраны рассматриваются как биологические, динамические структуры, содержащие ряд важных ферментных систем. Повреждения, вызываемые ядами, нарушающими функции ферментов, приводят к изменению проницаемости транспорта через эти оболочки [9].

Поверхность клеточных оболочек несет отрицательный заряд, что показано на примере эритроцитов, многих бактерий; но в то же время на отдельных участках заряд может меняться. Ионы, достигнув поверхности клетки, либо фиксируются на ней, либо отталкиваются в силу одноименности заряда. Клеточные оболочки могут играть и защитную роль в отношении действия металлов. Последние в первую очередь фиксируются на поверхности и лишь медленно проникают вглубь клетки.

Соли металлов, как хорошо растворимые и диссоциирующие соединения, попадая в организм, распадаются на ионы. Скорость и полнота резорбции зависят от соотношения между ионизированной и неионизированной частью молекулы.

Металлы высшей валентности и так называемые тяжелые металлы, склонные к образованию очень трудно растворимых гидроокислов, фосфатов, альбуминатов или весьма стойких комплексов, плохо всасываются из желудочно-кишечного тракта или при любых других путях введения [10].

Свинец как загрязнитель окружающей среды и классический токсикант продолжает оставаться в центре внимания не только экологов, токсикологов и гигиенистов, но также патологов и клиницистов, представляющих разные области медицины и биологии [10].

Одним из основных соединений в выбросах промышленных предприятий является нитрат свинца. В опытах на животных была установлена следующая градация неорганических соединений свинца по уменьшению токсичности: нитрат, хлорид, оксид, карбонат, ортофосфат. Свинецсодержащие соединения, оказавшиеся в крови, разносятся и накапливаются в жировой ткани почек, печени, селезенке, костях. При большей концентрации свинец поступает в клетки кожи, мышцы и кости, из последних он вытесняет кальций.

Накопление свинца в организме млекопитающих происходит в следующей последовательности: печень – почки – трубчатые кости – селезенка – мышечная ткань и является показателем хронической интоксикации организма животных свинцом без проявления клиники острого отравления, хотя в некоторых случаях наблюдается повышенное содержание токсикоэлемента в мышечной ткани и печени.

Сложность оценки воздействия свинца на организм человека и лабораторных животных состоит в том, что свинец, как и другие тяжелые металлы, в малых дозах оказывает неспецифическое воздействие. В результате происходит бессимптомное накопление изменений в органах и тканях, что выявить клинически не всегда возможно [9].

Современные биологические средства торможения интоксикации тяжелыми металлами, как правило, направлены не только на коррекцию ключевых обменных нарушений («токсикодинамическая биопрофилактика»), но и на снижение задержки металлов в организме («токсикокинетическая биопрофилактика»). Для систематического использования в целях биопрофилактики интоксикации перспективными в настоящее время являются пробиотические препараты, в состав которых входят различные микроорганизмы, а также различные метаболиты. Перспективность их использования для биопрофилактики профессионального и экологически обусловленного сатурнизма бесспорна [7].

Особенностью металлов по сравнению с другими элементами является их тенденция к биоаккумуляции. Известно, что способность концентрировать металлы, в том числе и тяжелые, очень широко распространена в природе среди различных организмов [6].

Способность к накоплению в биологических системах и к локализации в различных организмах вызывает особый интерес, в частности, «рекордсменами» по извлечению из окружающей среды тяжелых металлов являются микроорганизмы [8].

В настоящее время наибольший интерес по способности аккумулировать металлы вызывают бактерии рода *Bacillus*. Интерес к микроорганизмам рода *Bacillus* в отношении их

способности к накоплению ионов тяжелых металлов возник в связи с данными, которые были получены на кафедре микробиологии университета Порт-Харкорт в Нигерии, где были проведены исследования по изучению аккумуляции бактерий тяжелых металлов (кадмия, свинца, цинка и никеля) тремя видами бактерий (*Bacillus*, *Staphylococcus* и *Pseudomonas*), которые использовались в качестве сорбентов тяжелых металлов в речной воде с целью их очистки. По результатам исследований доля накопления тяжелых металлов микроорганизмами *B. subtilis*, *S. albus* и *P. aeruginosa* после 24 часов воздействия составила: никеля – до 68,6%, 58,4% и 28,3%; свинца – до 94,5%, 85,7% и 90,8%; цинка – до 91,6%, 68,1% и 52,9%; кадмия – до 71,6%, 72,1% и 77,0% соответственно. В итоге наилучшим сорбентом оказался род *Bacillus* [3; 12].

Антагонизм в отношении широкого круга патогенных и условно патогенных микроорганизмов и самостоятельная элиминация из желудочно-кишечного тракта представляют конструирование лечебно-профилактических препаратов из пробиотических бацилл особенно перспективным. Привлекает также их стимулирующее влияние на пищеварение, противоаллергенное, антитоксическое, saniрующее и общеукрепляющее воздействие на организм [11].

На основании чего для исследований выбраны пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus*.

Таким образом, целью исследования являлось изучение воздействия пробиотиков на основе бактерий рода *Bacillus* на морфологические показатели органов-мишеней (печень, селезенка) при интоксикации солями свинца.

Материалы и методы

В качестве пробиотиков нами были использованы два препарата на основе бактерий рода *Bacillus*: «Споробактерин», основу которого составляет *Bacillus subtilis* 3, и «Бактисубтил» – *Bacillus cereus* IP 5832.

Исследования выполнены в условиях экспериментально-биологической клиники (вивария) Оренбургского государственного университета на модели групп-аналогов лабораторных крыс. Было сформировано 6 групп (по 12 особей в каждой) - четыре группы контроля (группа с основным рационом, контроль металла – основной рацион с добавлением сульфата свинца, контроли препаратов – основной рацион с добавлением «Споробактерина» в одной группе и «Бактисубтила» в другой) и две опытные группы (основной рацион с добавлением соли свинца и пробиотиков).

Дозировки пробиотиков соответствовали аннотациям препаратов. Подопытные животные находились в одинаковых условиях содержания. Соли свинца задавались в первый день эксперимента, а пробиотики с первого по седьмой день. Взятие материала проводилось

через 7, 14, 21 день. Исследования на животных проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г., № 755).

Для гистологического исследования нами выбраны селезенка и печень.

Окрашивание срезов производили гематоксилином и эозином.

Цитометрическое исследование проводили с помощью окуляр-микрометра с ценой деления 8,56 мкм.

Результаты исследования и их обсуждение

Как известно, печень - это токсикологический центр организма, который обезвреживает ксенобиотики, участвует в обмене веществ, гемодинамике. Разнообразные функции обусловлены особенностями гепатоцитов, в которых протекает детоксикация ядовитых метаболитов и ксенобиотиков (рисунок 1).

Для патологии печени (рисунок 1) характерна высокая частота сочетанных нарушений печени и селезенки, что обусловлено анатомическими и функциональными связями между этими органами. В качестве основной характеристики патологического состояния выбран размер ядер.

В результате исследования выявлены патологические изменения у групп контроля металла на 7, 14, 21 дни исследований – ядра гепатоцитов были увеличены в два раза. Сами пробиотики не оказывали влияния на морфологические показатели печени.

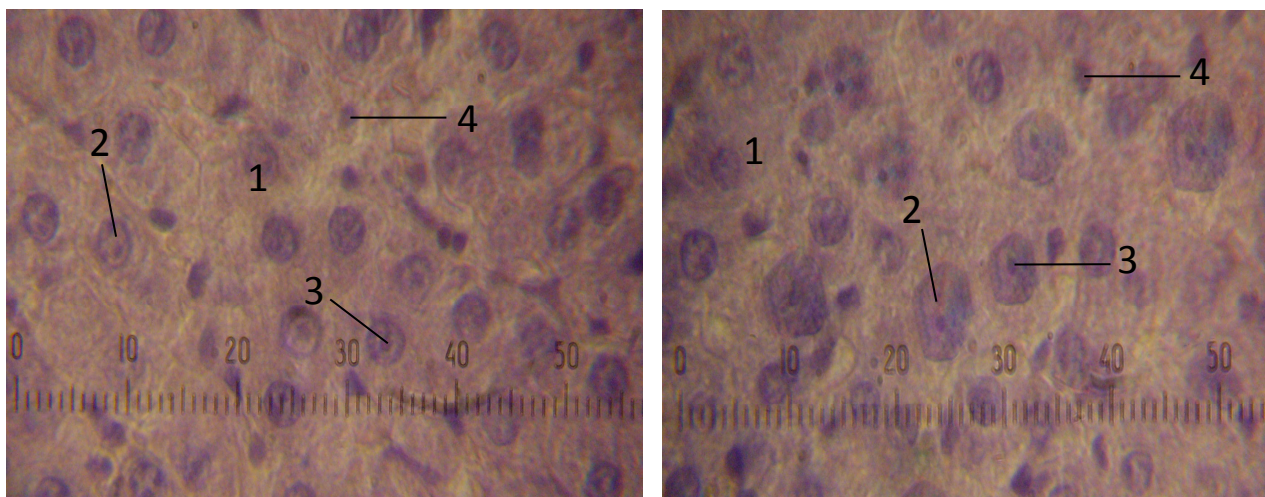


Рисунок 1 – Участок печёночной дольки крысы (слева – нормальное состояние, справа – после интоксикации солями свинца). Окраска гематоксилином. Увел. X150. Условные обозначения: 1 – гепатоцит, 2 – ядро гепатоцита, 3 – ядрышко, 4 – синусоидный капилляр.

В группах контроля пробиотиков достоверных изменений не наблюдалось. В опытных группах патологических нарушений не выявлено.

Основные анатомические элементы селезенки – капсула и трабекулы, образующие слабо демаркированные области в органе. Между трабекулами содержится белая пульпа (селезеночные узлы) и красная пульпа (селезеночные синусы) (рисунок 2).

Эти морфологически различные области селезенки и являются функциональными элементами иммунной системы. Соотношение красной и белой пульпы характеризует нормальное или патологическое состояние органа. Увеличение соотношения в сторону красной пульпы, при этом практически отсутствие белой, свидетельствует о патологических нарушениях.

Такая картина наблюдалась у групп контроля металла (рисунок 2).

Исследуемые пробиотические препараты на основе спорообразующих бактерий рода *Vacillus* («Споробактерин» и «Бактисубтил») не оказали влияния на морфологию селезенки.

В группах контроля пробиотиков и опытных группах изменений не наблюдалось.

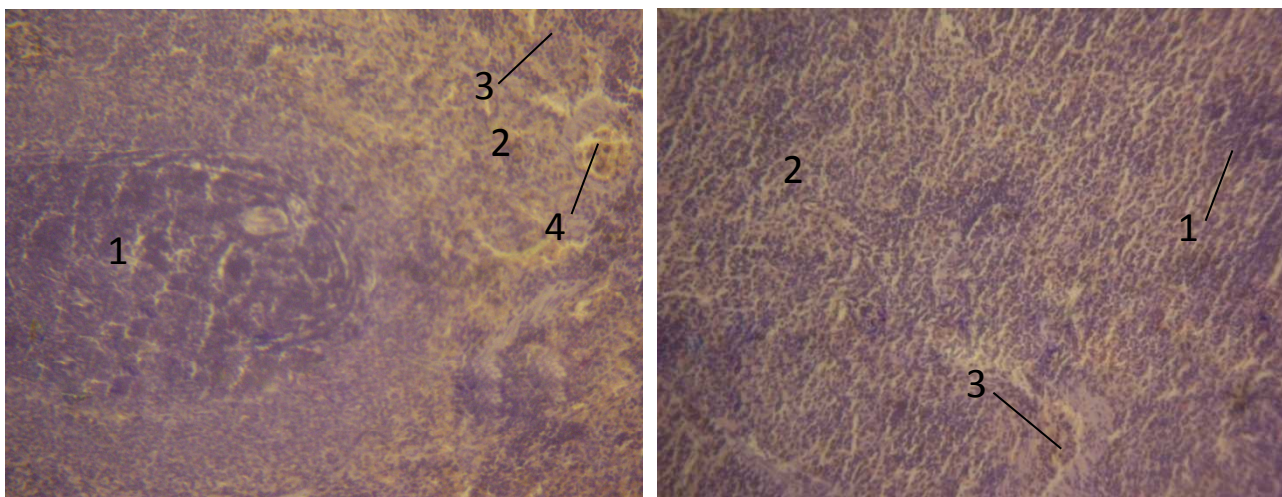


Рисунок 2 – Участок селезёнки крысы (слева – нормальное состояние, справа – после интоксикации солями свинца). Окраска гематоксилином. Увел. X150. Условные обозначения: 1 – белая пульпа; 2 – красная пульпа; 3 – трабекула; 4 – трабекулярная вена.

Заключение

На основании гистологических исследований установлено, что пробиотики на основе бактерий рода *Vacillus* предотвращают патологические изменения в органах-мишенях, что, по нашему мнению, связано с эффективным поглощением тяжелых металлов компонентами пробиотиков.

Список литературы

1. Вишняков А.И. Ультраструктура клеток костного мозга цыплят при воздействии свинца // Современные проблемы науки и образования. – 2011. - № 3. – С. 43.
2. Вишняков А.И. Морфофункциональные изменения клеток красного костного мозга животных при воздействии солей свинца // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2010. - № 12. – С. 23-26.
3. Вишняков А.И. Морфофункциональная оценка гемопоза кур при действии химических и физических факторов : автореф. дис. ... доктора биол. наук. – Уфа, 2011. – С. 3.
4. Вишняков А.И. Источники поступления тяжелых металлов в организм животных // Агропромышленный комплекс: состояние и перспективы развития : сб. трудов Межрегиональной науч.-практ. конф., посвященной 100-летию со дня рождения проф. А.К. Ермолаева. – Великие Луки, 2009. – С. 96-98.
5. Вишняков А.И. Морфофункциональная оценка гемопоза кур при действии химических и физических факторов : автореф. дис. ... докт. биол. наук / Башкирский государственный аграрный университет. – Уфа, 2011.
6. Вишняков А.И., Лебедев С.В., Торшков А.А. Особенность костномозгового кроветворения птицы при воздействии экологически неблагоприятных факторов антропогенного происхождения // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – № 10. - Ч. 1. – С. 49-51.
7. Ковальчук Л.А. Тяжелые металлы в окружающей среде Среднего Урала и их влияние на организм // Экология. - 2002. - № 5. - С. 358-361.
8. Сизенцов А.Н., Вишняков А.И., Новикова А.Е. Экологические аспекты аккумуляции свинца и цинка пробиотическими препаратами на основе бактерий рода *Bacillus* // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. - № 4. – С. 7.
9. Текуцкая Е.Е., Софьина Л.И., Бендер Л.В., Онищенко Н.П. Методы и практика контроля содержания тяжелых металлов в биосредах // Гигиена и санитария. – 1999. - № 4. – С. 72-74.
10. Трахтенберг И.М. Приоритетные аспекты фундаментальных исследований в токсикологии // Тез. докл. I Съезда токсикологов Украины. — Киев, 2001. - С. 6.
11. Nakajima A. Selective accumulation of heavy metals by microorganisms // Applied microbiology and biotechnology. – 2004. – V. 24. - № 1. – P. 59-64.
12. Green-Ruiz C. Mercury (II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus* sp. from a tropical estuary // Bioresource Technology. – 2006. - Vol. 97, № 10. – P. 1907-1911.

Рецензенты:

Русанов А.М., д.б.н., профессор, декан химико-биологического факультета ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», г. Оренбург.

Лебедев С.В., д.б.н., заведующий экспериментально-биологической клиникой (виварием) ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», г. Оренбург.