

Изучение биоаккумуляционной способности пробиотических препаратов при интоксикации лабораторных животных медью

Е.Ю. Исайкина, к.б.н., ФГБОУ ВПО Оренбургский ГАУ, А.Н. Сиенцов, к.б.н., А.С. Бунина, магистрант, А.С. Шабло, магистрант, Д.К. Овсянникова, ФГБОУ ВПО Оренбургский ГУ

Медь – один из важнейших незаменимых элементов, необходимых для живых организмов. В растениях медь активно участвует в процессах фотосинтеза, дыхания, восстановления и фиксации азота [1].

Этот биоэлемент повышает устойчивость организма к некоторым инфекциям, связывает микробные токсины и усиливает действие антибиотиков. Медь обладает выраженным противовоспалительным свойством, смягчает проявления аутоиммунных заболеваний, а также способствует усвоению железа [2, 3].

В организм медь поступает в основном с пищей. В желудочно-кишечном тракте абсорбируется до 95% поступившей в организм меди (максимальное количество в желудке), затем в двенадцатиперстной кишке, тощей и подвздошной кишке [4, 5].

Приобретённая медная интоксикация является следствием потребления или всасывания избыточного количества меди (например, потребление продуктов или напитков, которые долгое время хранились в медных ёмкостях). При этом может наблюдаться самопроизвольно завершающийся гастроэнтерит с тошнотой, рвотой и поносом. Более тяжёлая интоксикация медью является следствием потребления нескольких граммов медной соли (сульфата меди) или всасывания больших количеств через кожу (например, компрессы, насыщенные раствором медной соли, применяемые для лечения обширных ожогов). В данном случае могут развиваться гемолитическая анемия и анурия, в конечном итоге с фатальным исходом [6].

Большой интерес вызывает изучение данной способности среди микроорганизмов, входящих в состав пробиотических препаратов, в частности у бактерий рода *Bacillus*, являющихся самоэлиминирующимися антагонистами. Пробиотические препараты обладают такими свойствами, как ярко выраженная антагонистическая активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, высокая ферментативная активность, иммуностимулирующее действие. Помимо этого важным свойством является антиоксидантное действие пробиотиков, проявляющееся в накоплении и активном выведении тяжёлых металлов из организма. Из этого следует, что вопрос оценки эффективности применения пробиотиков на основе рода *Bacillus* при отравлении тяжёлыми металлами является актуальным [7–10].

В связи с вышеизложенным была поставлена **цель**: изучить эффективность применения про-

биотиков на основе спорообразующих бактерий рода *Bacillus* при экспериментальной интоксикации медью.

Для достижения поставленной цели была определена следующая задача – изучить способность спорообразующих бактерий рода *Bacillus* к биоаккумуляции меди в условиях *in vivo* по средству определения её концентрации в тканях лабораторных животных.

Материалы и методы исследования. В работе использовали три пробиотических препарата: Споробактерин, Бактисубтил и Ветом 2. Основу препаратов составляют бактерии рода *Bacillus*. В качестве токсиканта использовали соль тяжёлого металла сульфат меди.

Исследования выполнены в условиях экспериментально-биологической клиники (вивария) Оренбургского государственного университета на лабораторных белых крысах линии Вистар. При распределении животных на группы придерживались общепринятых принципов подбора животных-аналогов.

С целью проведения исследования из 96 особей было сформировано восемь групп – пять контрольных и три опытных. Животные первой контрольной гр. получали основной рацион (К0), второй – основной рацион с добавлением сульфата меди из расчёта 150 мг/кг веса тела (К1), третьей – основной рацион с добавлением Споробактерина (К2), четвёртой – основной рацион с добавлением Ветом 2 (К3), пятой – основной рацион с добавлением Бактисубтила (К4). Крысам опытных групп в основной рацион добавляли сульфат меди и пробиотики – Ветом 2 (О1), Споробактерин (О2), Бактисубтил (О3).

Соли тяжёлых металлов задавали в 1-е сут. эксперимента, пробиотики вводили в организм через 12 час. после введения меди, курс лечения составил 7 сут. Взятие материала проводили с периодичностью в 7 сут. (фоновое исследование, 7-е, 14-е и 21-е сут.) путём уоя животных методом декапитации.

Для оценки эффективности применения пробиотических препаратов при интоксикации медью был использован метод атомно-абсорбционного спектрального анализа, отличающийся высокой абсолютной и относительной чувствительностью. Данный метод основан на свойстве атомов химических элементов, образующихся при распылении зольных растворов в пламени ацетилен-воздух, поглощать свет определённой длины волны. В качестве атомно-абсорбционного спектрофотометра использовали прибор типа ААС-1 (производитель «Carl Zeiss JENA», Германия)

с набором спектральных ламп. В качестве биоматериалов выбрали костную и мышечную ткани, а также кожный покров, так как в этих тканях происходит аккумуляция исследуемого металла [11].

Результаты исследований. Была проанализирована способность бактерий рода *Bacillus* к накоплению и выведению меди. Результаты определения концентрации исследуемого металла в биологических образцах с помощью атомно-абсорбционной спектrophотометрии представлены в таблице 1.

В ходе эксперимента было установлено, что содержание меди в костной ткани на 7-е сут. исследования у лабораторных животных опытных групп (O1, O2, O3) превышало значения в K0 на 65, 99 и на 91% соответственно. Но при этом уровень показателей оказался ниже, чем у особей K1 – в O1 – на 34%, O2 – на 18%, O3 – на 24%.

На следующих этапах исследования наблюдалось стабильное снижение содержания меди в костной ткани к 14-м и 21-м сут. эксперимента, при этом на 14-е сут. у особей O1 гр. показатели были ниже, чем у животных K0 на 7-е сут., на 10, O2 – на 4 и O3 – на 31%. Данные показатели превышали таковые у животных гр. K1: у особей O1 гр. – на 43, O2 – на 25 и O3 – на 50% соответственно.

На 14–21-е сут. содержание меди в костной ткани крыс опытных гр. по сравнению с K0 снижалось в меньших количествах – на 8, 2 и 13%

соответственно. При этом аналогичный показатель у особей гр. K1 превышал таковой у животных опытных групп O1 – на 51, O2 – на 31 и O3 – на 59% соответственно.

Анализируя изменения содержания меди в мышечной ткани лабораторных животных на 7-е сут. исследования, было установлено, что у крыс опытных групп (O1, O2, O3) превышало значения в гр. K0 на 99, 52 и на 86% соответственно. По отношению к гр. K1 уровень значений данного показателя у особей O1, O2, O3 групп оказался на 15, 12 и 7% выше соответственно.

К 14-м сут. эксперимента содержание меди в мышечной ткани животных снизилось по отношению к предыдущему сроку исследования у особей опытных групп (O1, O2, O3) на 19, 8 и 9% соответственно, по отношению к показателям в гр. K1 – на 2, 16 и 6%.

На 21-е сут. опыта проявилась общая тенденция снижения содержания меди в тканях животных O1, O2, O3 групп по отношению к 14-м сут. исследования на 8, 1 и 5% соответственно. Данный показатель в тканях крыс гр. K1 был выше, чем у особей опытных групп, на 29, 33 и на 22% соответственно.

Динамика изменений концентрации ионов меди в кожном покрове лабораторных животных была аналогична изменениям в их костной и мышечной тканях. На 7-е сут. концентрация ионов

1. Динамика изменения концентрации ионов меди в тканях лабораторных животных ($X \pm S_x$)

Группа	Фоновое исследование	Период эксперимента, сут.		
		7-е	14-е	21-е
Концентрация ионов Cu в шкуре				
K0	0,26±0,05	0,23±0,003	0,22±0,05	0,22±0,03
K1	0,37±0,01	0,41±0,08	0,4±0,02	0,58±0,05
K2	0,23±0,06	0,32±0,01	0,3±0,01	0,31±0,03
K3	0,24±0,01	0,25±0,02	0,26±0,03	0,21±0,01
K4	0,25±0,01	0,32±0,02	0,31±0,01	0,31±0,01
O1	0,28±0,08* (**)	0,30±0,01** (***)	0,27±0,01* (**)	0,27±0,01* (***)
O2	0,24±0,005* (**)	0,32±0,008** (**)	0,27±0,01* (**)	0,24±0,005* (***)
O3	0,25±0,008* (**)	0,34±0,003*** (**)	0,39±0,006*** (*)	0,30±0,005* (***)
Концентрация ионов Cu в мышечной ткани				
K0	0,24±0,01	0,23±0,03	0,22±0,006	0,22±0,06
K1	0,35±0,005	0,4±0,01	0,45±0,01	0,48±0,008
K2	0,22±0,008	0,3±0,01	0,29±0,005	0,34±0,008
K3	0,22±0,006	0,38±0,005	0,37±0,008	0,35±0,005
K4	0,24±0,008	0,3±0,003	0,29±0,005	0,31±0,01
O1	0,25±0,003* (***)	0,46±0,008** (*)	0,37±0,003*** (*)	0,34±0,006* (***)
O2	0,23±0,008* (***)	0,35±0,008* (*)	0,32±0,008** (**)	0,32±0,008* (***)
O3	0,25±0,008* (**)	0,43±0,005* (*)	0,39±0,01** (*)	0,37±0,003* (**)
Концентрация ионов Cu в костной ткани				
K0	0,21±0,01	0,23±0,003	0,22±0,01	0,22±0,003
K1	0,23±0,01	0,58±0,01	0,6±0,02	0,64±0,01
K2	0,19±0,008	0,43±0,01	0,38±0,02	0,34±0,008
K3	0,22±0,03	0,38±0,01	0,35±0,008	0,31±0,01
K4	0,21±0,02	0,37±0,01	0,39±0,02	0,41±0,01
O1	0,20±0,01* (*)	0,38±0,008*** (***)	0,34±0,03* (**)	0,31±0,008** (***)
O2	0,22±0,01* (*)	0,47±0,01***	0,45±0,006*** (**)	0,44±0,01*** (***)
O3	0,20±0,008* (*)	0,44±0,03**	0,30±0,01** (***)	0,26±0,003** (***)

Примечание: * – P<0,5; ** – P<0,05; *** – P<0,005

2. Выведение меди пробиотическими препаратами из тканей лабораторных животных, %

Ветом 2			Бактисубтил			Споробактерин		
кости	мышцы	кожный покров	кости	мышцы	кожный покров	кости	мышцы	кожный покров
31,25	33,33	48,52	59,37	53,75	58,27	51,56	29,16	53,44

меди в кожном покрове крыс О1, О2, О3 групп была выше значений в гр. К0 на 30, 39 и 47%, при этом по отношению к гр. К1 данные показатели у особей опытных групп были ниже на 27, 22 и 17% соответственно.

Снижение изучаемого показателя к 14-м сут. эксперимента по сравнению с предыдущим сроком у крыс О1, О2, О3 групп составило 10, 15 и 14%, а разница по отношению к животным гр. К1 в сторону снижения концентрации меди увеличилась на 5, 10 и 3% соответственно.

На финальном этапе эксперимента концентрация ионов меди в кожном покрове особей опытных групп снизилась по сравнению со значениями, полученными на 14-е сут. у крыс гр. К0, на 1, 10 и 20%. По отношению к показателям у особей гр. К1 снижение составило 53, 59 и 48% соответственно.

В таблице 2 представлены значения содержания меди в тканях лабораторных животных к концу эксперимента при применении пробиотических препаратов Бактисубтил, Ветом 2 и Споробактерин.

Самостоятельного влияния на мышечную и костную ткани, шкуру исследуемые пробиотики не оказывали, но при совместном использовании с тяжёлым металлом действовали положительно, стимулируя выведение ионов металлов из организма.

Выводы. В результате определения способности бактерий рода *Bacillus*, входящих в состав исследуемых пробиотиков, к накоплению тяжёлых металлов по средству определения их концентрации в тканях лабораторных животных выявили, что препараты способствуют снижению токсического действия ионов цинка и свинца в тканях. При этом

наибольшей аккумулирующей способностью по отношению к ионам меди обладает костная ткань.

Наиболее эффективным из исследуемых препаратов при отравлении ионами меди является Споробактерин, а наименее – Ветом 2.

Литература

1. Бабенко Г.А. Биологическая роль меди. М.: Наука, 1998. 239 с.
2. Авцын А.П., Жаворонков А.А. Микроэлементозы человека. М.: Медицина, 1999. 496 с.
3. Печенников Е.В., Вашкова В.В., Можаяв Е.А. О биологическом значении микроэлементов // Гигиена и санитария. 1997. № 47. С. 41–43.
4. Klevay L.M. Lack of recommended dietary allowance for copper may be hazardous to your health // J. Am. Coll. Nutr. 2002. V. 8. P. 322–326.
5. Wihelm, M. Cadmium, copper, lead and zinc concentrations in human scalp and public hair / M. Wihelm, F. K. Ohnesorge, D. Hotzen // Sci Total. Environ. 2001. Vol. 92. P. 199–206.
6. Хантурина Г.Н. Цитогенетические нарушения при интоксикации солями цинка и меди // Карагандинский государственный университет им. академика Е.А. Букетова. Караганда: Национальный центр гигиены труда и профзаболеваний, 2011. С. 13–15.
7. Абрамова Л.Л., Сизенцов А.Н., Шеботина Н.В. Морфологическое обоснование эффективности применения пробиотических препаратов при лечении сальмонеллёза крыс // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. № 1 (29). С. 192–195.
8. Абрамова Л.Л., Сизенцов А.Н., Шеботина Н.В. Оценка эффективности применения пробиотических препаратов при лечении сальмонеллёза на основании исследования показателей крови // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. № 1 (30). С. 249–253.
9. Сизенцов А.Н., Исайкина Е.Ю., Кван О.В. и др. Эффективность применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* при лечении экспериментальной интоксикации медью // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 3.
10. Sizentsov, A. The use of probiotic preparations on basis of bacteria of a genus *Bacillus* during intoxication of lead and zinc / A. Sizentsov, O. Kvan, A. Vishnyakov, A. Babushkina, E. Drozdova // Life Science Journal. 2014. 11 (10). URL: <http://www.lifesciencesite.com>.
11. Green-Ruiz, C. Mercury (II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus* sp. from a tropical estuary / C. Green-Ruiz // Bioresource Technology. 2006. V. 97. № 10. С. 1907–1911.