

Эффективность применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* для биокоррекции Си на основании изучения показателей крови лабораторных животных

А.Н. Сизенцов, к.б.н., ФГБОУ ВПО Оренбургский ГУ;
Е.Ю. Исайкина, ФГБОУ ВПО Оренбургский ГАУ

В настоящее время в условиях интенсивного техногенного загрязнения в окружающей среде стали широко распространены тяжёлые металлы. Большая часть тяжёлых металлов необходима в микродозах для нормального функционирования

живых систем. Однако при их передозировке наблюдаются нарушения жизнедеятельности как у человека, так и животных. Их соединения не участвуют в нормальном обмене веществ, и их постепенное накопление ведёт к различным заболеваниям [1].

Оренбургская область является крупным многоотраслевым промышленным комплексом и зани-

мает одно из ведущих мест среди регионов России по загрязнению окружающей среды. В целом, оценивая эколого-геохимическое состояние природных сред Оренбургской области, необходимо отметить, что их загрязнение тяжёлыми металлами носит мозаичный и полиметалльный характер. Экологическая обстановка области характеризуется как опасная, что обусловлено высоким уровнем загрязнения тяжёлыми металлами атмосферного воздуха, почвенного покрова и поверхностных водных объектов.

Известно, что способность концентрировать металлы широко распространена в природе среди различных организмов. Большой интерес вызывает изучение данной способности среди микроорганизмов, входящих в состав пробиотических препаратов. Пробиотики обладают такими свойствами, как антагонистическая активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, высокая ферментативная активность, иммуностимулирующее действие. Важным является то, что входящие в состав пробиотических препаратов микроорганизмы рода *Bacillus* являются самоэлиминирующимися антагонистами и способны оказывать антиоксическое действие, проявляющееся в активном выведении токсичных веществ из организма, в частности тяжёлых металлов [2, 3].

Тяжёлые металлы обладают высокой способностью к многообразным химическим, физико-химическим и биологическим реакциям. Многие из них имеют переменную валентность и участвуют в окислительно-восстановительных процессах. Тяжёлые металлы могут выступать в экосистемах в роли биогенных элементов, т.е. химических элементов, постоянно входящих в состав живых организмов и выполняющих определённые биологические функции. Также могут выступать в качестве токсикантов, т.е. веществ, приводящих в определённых дозах (небольших относительно массы тела) или концентрациях к расстройству или нарушению тех или иных процессов жизнедеятельности организма либо к возникновению отравления (интоксикации) или каких-либо заболеваний, патологических состояний.

Деятельность значительной части тяжёлых металлов в биологических системах различна [4]. Ионы тяжёлых металлов принимают участие практически во всех процессах обмена веществ. Известно, что микроорганизмы при взаимодействии с ионами тяжёлых металлов способны их накапливать. Способность микроорганизмов аккумулировать тяжёлые металлы играет важную роль и в экологических взаимоотношениях микроорганизмов. В природных условиях встречается большое количество микроорганизмов, которые адсорбируют от 30 до 40% ионов тяжёлых металлов на своей поверхности. Способность аккумулировать металлы обнаружена и среди условно-патогенных микроорганизмов. Микробная аккумуляция метал-

лов является ключевым моментом в геохимической и биологической рециркуляции этих элементов. Положительные эффекты аккумуляции заключаются в детоксикации металлов в окружающей среде с последующей выгодой для более чувствительных видов [5, 6].

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 тяжёлых 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 тяжёлых металлов (кадмия, свинца, цинка и никеля) тремя видами бактерий (*Bacillus*, *Staphylococcus* и *Pseudomonas*), которые использовались в качестве сорбентов тяжёлых металлов в речной воде с целью их очистки [7].

Микроорганизмы рода *Bacillus* отличаются высоким и разнообразным спектром биологической активности. Они продуцируют целый ряд ферментов, лизирующих крахмал, пектины, целлюлозу, жиры, белки, также производят различные аминокислоты, антибиотики, витамины и многие другие вещества. Особый интерес к изучению способности бактерий рода *Bacillus* к накоплению металлов также вызван тем, что некоторые из них являются основой для создания пробиотических препаратов [8, 9]. Изучение способности бактерий рода *Bacillus*, входящих в состав пробиотиков, к накоплению тяжёлых металлов является важным с целью оценки эффективности применения пробиотиков на их основе при отравлении тяжёлыми металлами. В дальнейшем это может послужить основой для совершенствования пробиотических препаратов для лечения и профилактики кишечных инфекций при одновременном удалении из организма токсичных веществ, в частности тяжёлых металлов [10, 11].

В связи с этим целью нашей работы являлось определение эффективности применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* при интоксикации Cu на основании изучения динамики показателей крови.

Материалы и методы. Для реализации поставленной цели нами были определены следующие задачи: изучить влияние ионов меди на морфологические и гематологические показатели крови экспериментальных животных; изучить влияние ионов меди на показатели неспецифической резистентности крови экспериментальных животных. Данные задачи были реализованы при помощи биологической модели лабораторных животных, у которых интоксикация медью была искусственно вызвана. В качестве объектов исследования использовались лабораторные крысы. Экспериментальное моделирование по изучению воздействия ионов меди на гематологические и показатели неспецифического

иммунитета осуществляли посредством добавления сульфата меди в рацион экспериментальных животных. В дальнейшем была изучена способность пробиотических препаратов снижать токсический эффект, вызванный высоким содержанием меди.

В работе были использованы три пробиотических препарата: Споробактерин жидкий, Бактисубтил и Ветом 2. Основой споробактерина является *Bacillus subtilis* 3, Бактисубтила — *Bacillus cereus* IP 5832. Ветом 2 является бинарным препаратом, который имеет в своём составе *Bacillus subtilis* В 7048 и *Bacillus licheniformis* В 7038.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием первичных методов вычисления элементарных математических статистик: среднее значение, среднее квадратичное отклонение.

С целью проведения исследования из 108 особей было сформировано восемь групп — пять контрольных и три опытных. Группа K0 являлась фоном, в основной рацион животных гр. K1 добавляли только сульфат меди, K2 — Споробактерин жидкий, K3 — Бактисубтил, K4 — Ветом 2. В основной рацион крыс опытных групп (O1, O2, O3) добавляли и сульфат меди, и пробиотики. Дозировка пробиотиков соответствовала аннотациям к препаратам.

Подопытные животные находились в одинаковых условиях содержания. Кормление осуществляли в соответствии с нормами ВИЖа. Соли тяжёлых металлов задавали в первые сутки эксперимента, а пробиотики — через 12 час. с момента интоксикации с 1 по 7-е сут. Взятие материала проводили с периодичностью в семь дней (фоновое исследование, 7-е, 14-е и 21-е сут.) путём убоя животных методом декапитации. Кровь исследовали на морфологические показатели (эритроциты, гемоглобин, скорость оседания эритроцитов, лейкоцитарный профиль). Бета-литическую активность определяли фото-нефелометрическим методом по О.В. Бухарину.

Результаты исследования. Из всех морфологических показателей крови значимым изменениям подверглись составляющие лейкограммы — лим-

фоциты и нейтрофилы, а также СОЭ. Лимфоциты и нейтрофилы оказались за пределами физиологической нормы у животных контрольных и опытных групп на 7-е сут. исследования. Повышенное содержание лимфоцитов свидетельствует о наличии интоксикации тяжёлым металлом и, как следствие, ответной реакции организма на данный процесс. Наибольшие значения СОЭ отмечали в крови лабораторных животных опытных групп, что может свидетельствовать о наличии в организме воспалительного процесса, вызванного солями тяжёлых металлов. Уровень СОЭ в крови животных контрольных групп на протяжении всего эксперимента находился в пределах верхней границы физиологической нормы. Необходимо отметить положительное действие пробиотиков на морфологию крови, что проявилось в отсутствии резких изменений в лейкограммах животных опытных групп по отношению к фоновым значениям.

В качестве показателей естественной резистентности изучали лизоцимную и бета-литическую активность.

Лизоцим (мурамидаза) — один из важных факторов неспецифической защиты организма. В ходе выполнения экспериментальной части было установлено, что концентрация лизоцима в сыворотке крови особей всех опытных групп была значительно выше по сравнению с группой K0, содержащейся на обычном рационе без добавления пробиотических препаратов и соли металла. Однако следует отметить, что к 14-м сут. эксперимента в группах O1 и O2 уровень изучаемого показателя снизился до уровня значений K0, а к 21-м сут. уровень лизоцимной активности в крови животных всех опытных групп был ниже уровня в группе K0. На наш взгляд, это может свидетельствовать об эффективности применения пробиотических препаратов при интоксикации медью (рис. 1).

Бета-лизины являются гормоноподобными мембрано-активными термостабильными полипептидами, способными к нейтрализации грамположительных спорообразующих бактерий, в связи с чем мы и связываем повышение данного показателя у

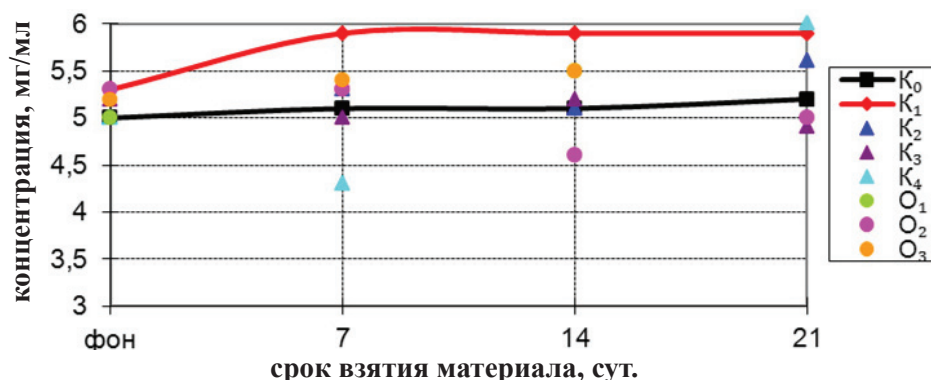


Рис. 1 — Динамика лизоцимной активности сыворотки крови:

K0 — фон; K1 — контроль, Cu; K2 — контроль, Споробактерин; K3 — контроль, Ветом 2; K4 — контроль, Бактисубтил; O1 — Cu + Споробактерин; O2 — Cu + Ветом 2; O3 — Cu + Бактисубтил

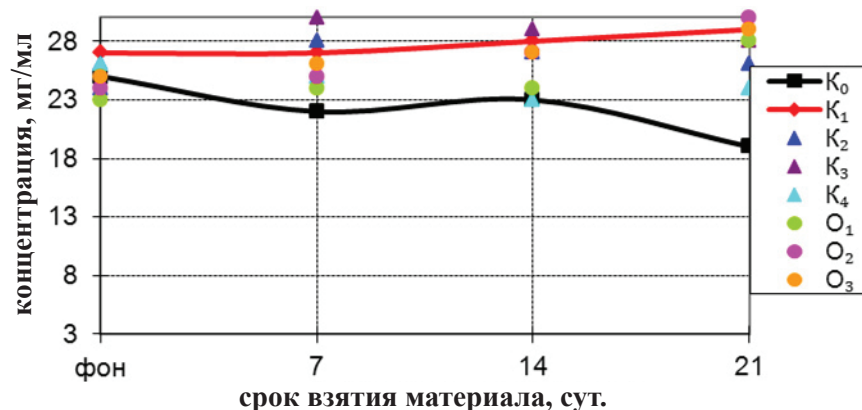


Рис. 2 – Динамика бета-литической активности сыворотки крови

животных опытных групп. При этом показатели в контрольных группах были выше нормы на всём протяжении опыта.

Динамика бета-литической активности сыворотки крови практически на всём протяжении эксперимента была аналогична лизоцимной активности сыворотки крови. Однако следует отметить, что концентрация бета-лизинов в сыворотке крови крыс всех опытных и контрольных групп, где применялись пробиотические препараты, превышала значения K₀ на протяжении всего эксперимента. Мы полагаем, что это может быть связано с тем, что бактерии рода *Bacillus* способны циркулировать в кровеносной системе, не вызывая септических явлений, но при этом активизируя показатели неспецифической резистентности (рис. 2).

Выводы. В результате исследования было установлено, что пробиотические препараты на основе спорообразующих бактерий рода *Bacillus* предотвращают развитие острого воспалительного процесса, о чём свидетельствуют отдельные гематологические показатели. Так, в крови животных всех опытных групп отмечалось снижение уровня СОЭ и происходила стабилизация лейкоцитарного профиля до значений физиологической нормы, в отличие от группы контроля металлов. Пробиотические штаммы микроорганизмов на основе бактерий рода *Bacillus* стимулируют показатели неспецифической резистентности сыворотки крови.

Литература

1. Алексеенко В.А. Основные факторы накопления химических элементов организмами // Соровский образовательный журнал. 2001. Т. 7. № 8. С. 20–24.
2. 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.
3. Холопов Ю.А. Тяжёлые металлы как фактор экологической опасности: метод. указ. к самост. работе по экологии для студентов. Самара: СамГАПС, 2003. 42 с.
4. Будников Г.К. Тяжёлые металлы в экологическом мониторинге водных систем // Соровский образовательный журнал. 2000. № 5. С. 23–29.
5. Агаджанян Н.А., Скальный А.В. Химические элементы в среде обитания и экологический портрет человека. М.: изд-во КМК, 2001. 84 с.
6. Volesky B., Holan Z. Biosorption of Heavy Metals // Biotechnology Progress. 2008. V. 11. № 3. P. 235–250.
7. Smimov V.V. The current concepts of the mechanisms of the therapeutic-prophylactic action of Probiotics from bacteria in the genus *Bacillus* // Microbiol. 2003. № 4. С. 92–112.
8. 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. 195–192.
9. Сизенцов А.Н. Эффективность применения пробиотических препаратов при интоксикации цинком // Вестник ветеринарии. 2013. № 2 (65). С. 34–36.
10. Sizensov A. The use of probiotic preparations on basis of bacteria of a genus *Bacillus* during intoxication of lead and zinc / A. Sizensov, O. Kvan, A. Vishnyakov, A. Babushkina, E. Drozdova // Life Science Journal 2014. 11 (10). URL: <http://www.lifesciencesite.com>
11. 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.