

1. Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская И.А. Спорообразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ. – Киев, Наук. думка, 1982. – 280 с.
2. Сорокулова И.Б. Теоретическое обоснование и практика применения бактерий рода *Bacillus* для конструирования новых пробиотиков: Дис. ... док. мед. наук. - Киев, 1998. - 375 с.
3. Похиленко В.Д., Перельгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность. Химическая и биологическая безопасность, 2007. 2-3 (32-11): 20-39.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.- М.: Ремедиум.- 2000 - 398 с.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА БИОЛОГИЧЕСКИ  
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПРОДУЦИРУЕМОГО КЛЕТКАМИ  
ШТАММА *B. SUBTILIS* 3/28 (B-3679), НА КУЛЬТУРУ  
ЭКСПЛАНТИРОВАННЫХ ГЕПАТОЦИТОВ БЕЛЫХ МЫШЕЙ**

*Н.А. Забокрицкий, О.В. Ладыгин, Л.П. Ларионов, В.В. Щелгачев,  
А.Ю. Грачев, А.Н. Забокрицкий, П.Г. Васильев*

ГОУ ВПО УГМА Росздрава,  
Филиал ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России – ЦВТП БЗ», г. Екатеринбург

Введение. Бактерии рода *Bacillus* характеризуются высокой антагонистической активностью в отношении патогенных и условнопатогенных бактерий, выраженным иммуномодулирующим, антиаллергическим и анитоксическим действием, которые обуславливают их несомненное преимущество перед другими микроорганизмами, используемыми в качестве основы пробиотических препаратов в практической медицине [1, 2]. Однако до последнего времени, по данным литературы, не рассматривалось цитопротекторное действие этих микроорганизмов.

В связи с этим, представляет значительный интерес изучение цитопротекторного действия комплекса биологически активных веществ, продуцируемого пробиотическими бактериями рода *Bacillus*.

Целью работы являлось проведение экспериментальных исследований по изучению защитного действия комплекса биологически активных веществ, продуцируемого клетками штамма *B. subtilis* 3/28 (B-3679), на культуру эксплантированных гепатоцитов белых мышей.

Материалы и методы. В работе использовали комплекс биологически активных веществ, полученный путем стерилизующей фильтрации

культуральной жидкости пробиотического штамма *B. subtilis* 3/28 (ВКПМ № В-3679), и клеточную культуру гепатоцитов, выделенных из печени белых беспородных мышей [3, 4].

Воспроизведение токсического поражения культуры клеток эксплантированных гепатоцитов осуществляли путем введения в ростовую среду минимальной токсичной дозы четыреххлористого углерода (2,5·10<sup>-5</sup> см<sup>3</sup>), вызывающую апоптоз и лизис эксплантированных гепатоцитов.

За 24 ч до введения четыреххлористого углерода в ростовую среду с исходным количеством гепатоцитов (5·10<sup>5</sup> кл·см<sup>3</sup>) добавляли максимальную нетоксичную дозу (1·10<sup>-2</sup> см<sup>3</sup>) комплекса биологически активных веществ.

Соответственно были сформированы следующие опытные и контрольные пробы:

I проба – гепатоциты с добавлением минимальной токсичной дозы четыреххлористого углерода и максимальной нетоксичной дозы комплекса биологически активных веществ;

II проба – гепатоциты с добавлением максимальной нетоксичной дозы комплекса биологически активных веществ;

III проба (контроль) - гепатоциты без добавления четыреххлористого углерода и комплекса биологически активных веществ.

Общая продолжительность наблюдения за пролиферативной активностью культуры эксплантированных гепатоцитов после введения четыреххлористого углерода и изучаемого комплекса биологически активных веществ составляла 96 ч.

Рассчитывали следующие показатели пролиферативной активности культуры гепатоцитов: индекс эффективности прикрепления - отношение количества клеток в культуре через 24 ч к исходной дозе клеток; коэффициент пролиферации - отношение количества клеток через 48 ч к количеству клеток через 24 ч; коэффициент предельной плотности популяции – отношение количества клеток в 1,0 см<sup>3</sup> пробы через 96 ч после начала опыта к исходному количеству клеток.

Цитопротекторное действие комплекса биологически активных веществ оценивали по соотношению показателей пролиферативной активности эксплантированных гепатоцитов в опытных пробах по отношению к контрольной.

Результаты и обсуждение. Результаты экспериментальных исследований по изучению защитного действия комплекса биологически активных веществ, продуцируемого клетками штамма *B. subtilis* 3/28 (В-3679), на культуру эксплантированных гепатоцитов белых мышей свидетельствуют, что через 24 ч после начала эксперимента, в I пробе наблюдалось значительное снижение пролиферативной активности клеток печени (индекс эффективности прикрепления - 0,71±0,04) по сравнению со II и контрольной пробамии. Во II группе пролиферативная активность гепатоцитов (индекс эффективности прикрепления - 0,98±0,05) оставалась близкой по значению к таковому показателю в контрольной пробе (индекс эффективности прикрепления – 1,0).

Через 48 ч наблюдения коэффициент пролиферации значительно возрос в пробе I до величины  $1,23 \pm 0,02$ , что объясняется потенцированием митотической активности гепатоцитов комплексом биологически активных веществ. В пробе II коэффициент пролиферации ( $1,04 \pm 0,04$ ) был близок к значению, полученному в контрольной пробе.

Через 96 ч эксперимента наблюдали выравнивание предельной плотности популяции гепатоцитов относительно контроля во всех опытных пробах, причем во II пробе коэффициент предельной плотности популяции был несколько выше и составил  $1,08 \pm 0,04$ .

В основе гепатозащитного действия, по нашему мнению, может лежать эффект стабилизации проницаемости мембран печеночных клеток. Мембраностабилизирующее воздействие может затрагивать как плазмолемму, так и внутриклеточные органеллы (липосомы, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и др.).

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что комплекс биологически активных веществ, продуцируемый клетками пробиотического штамма *B. subtilis* 3/28 (ВКПМ № В-3679), обладает выраженным цитопротективным действием при моделировании токсического поражения эксплантированных гепатоцитов белых мышей. Выявленный эффект значительной митотической активности гепатоцитов в условиях токсического воздействия может указывать на активацию процесса регенерации клеток, обусловленного влиянием исследуемого комплекса биологически активных веществ.

1. Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская И.А. Спорообразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ. – Киев, Наук. думка, 1982. – 280 с.
2. Сорокулова И.Б. Теоретическое обоснование и практика применения бактерий рода *Bacillus* для конструирования новых пробиотиков: Дис. ... док. мед. наук. – Киев, 1998. - 375 с.
3. Гичев Ю.П., Граудиня Ж.П. Культура ткани печени в гепатологии. - Новосибирск: Наука, 1986. – 86 с.
4. Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков / Под ред. В.Ю. Полякова. - М.: Мир, 1983. – 286 с.