

УДК 579:612:619:599.323.4

DOI: 10.31040/2222-8349-2024-0-1-91-95

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНА *Paenibacillus polymyxa* 1460 (ЛП) НА ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР КРОВИ САМЦОВ КРЫС ПРИ АНТИБИОТИКО-АССОЦИИРОВАННОМ ДИСБАКТЕРИОЗЕ

© Л.В. Карпунина, М.В. Проскурякова

Показано, что лектин *Paenibacillus polymyxa* 1460 (ЛП), выделенный с поверхности почвенных азотфиксирующих бактерий, способствует оптимизации липидного обмена в организме самцов белых крыс при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе, приводя к норме такие важные биохимические показатели крови, как общий холестерин (ОХс), липопротеиды высокой плотности (Хс-ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (Хс-ЛПНП), липопротеиды очень низкой плотности (Хс-ЛПОНП). Изучение влияния лектина *P. polymyxa* 1460 (ЛП) на метаболизм животного организма важно для понимания механизмов, лежащих в основе метаболической активности данных веществ, раскрывает возможности его использования в практике медико-биологических исследований с перспективой его применения в качестве биологически активных веществ.

Ключевые слова: лектины, бактерии, антибиотики, дисбактериоз, липидный спектр крови, крысы.

Введение. Лектины, как белки неиммунной природы, способны специфически связываться с углеводными рецепторами, участвовать во многих внутриклеточных метаболических процессах растений, животных и микроорганизмов. Бактериальные лектины в последние годы все шире находят применение в различных медико-биологических исследованиях, проявляющие специфическую и обратимую углеводсвязывающую активность, адгезивную функцию фагоцитирующих клеток, цитокиновую активность, обладающие противомикробной активностью, иммуномодулирующим, митогенным, инсулиноподобным действием [1–6], чем обуславливают научный и практический интерес. Лектины бактерий оказывают существенное влияние на метаболизм животной клетки, но, несмотря на постоянно возрастающее внимание к роли лектинов в регуляции физиологических процессов и перспективой их применения в качестве биологически активных веществ и эффективных фармакологических препаратов они остаются наименее изученными.

Важнейшую роль в жизнедеятельности организма человека играет микробиоценоз кишечника, участвуя в метаболических и регуляторных реакциях. Нарушение равновесия нормальной микрофлоры вследствие употребления

антибактериальных и химиотерапевтических препаратов, экологических и социальных факторов приводит к количественным и качественным изменениям, т.е. к дисбактериозу. В настоящее время одной из серьезных проблем является изучение микробиоценоза при приеме антибактериальных препаратов. Часто вследствие бесконтрольного их использования отмечается гибель не только патогенных микроорганизмов в естественных биотопах, но и представителей нормальной микрофлоры кишечника человека и животных.

Липидный обмен представляет собой один из сложнейших обменов в организме человека и животных. Изучение показателей, а также выявление распространенности и закономерностей развития нарушений данного обмена имеют не только большое теоретическое значение, но и практическое. Установлено, что одним из наиболее эффективных способов повышения резистентности организма при патологиях, различных нарушениях, стрессах является применение разнообразных биологически активных веществ, к числу которых относятся лектины бактерий. Изучение влияния лектинов бактериального происхождения на внутриклеточные процессы организма животных как в норме, так и при некоторых нарушениях

КАРПУНИНА Лидия Владимировна – д.б.н., Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, e-mail: karpuninal@mail.ru
ПРОСКУРЯКОВА Марина Вадимовна, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», e-mail: proma89@mail.ru

является интересной и актуальной задачей, поскольку это открывает новые возможности коррекции нарушенного обмена веществ.

Ранее нами было показано [7, 8], что лектин (ЛШ) *P. polytuxa* 1460 оказывает положительное влияние при дисбактериозе на белковый обмен, антиоксидантную систему и процессы перекисного окисления липидов, активность аминотрансфераз, фосфатаз, креатинкиназы и лактатдегидрогеназы, естественную микрофлору кишечника крыс.

Поэтому, для формирования полной картины функциональной значимости лектина (ЛШ) *P. polytuxa* 1460, в организме животных, представляет значительный интерес изучение его влияния на липидный обмен при дисбактериозе, что и явилось целью данной работы.

Материалы и методы. В работе использовали лектин (ЛШ), выделенный с поверхности почвенных азотфиксирующих бактерий *P. polytuxa* 1460 [9].

Исследования выполняли на здоровых самцах белых беспородных крыс со средней массой тела 210 г. Экспериментальные исследования проводили в соответствии с требованиями Федерального закона от 01.01. 1997 г. «О защите животных от жестокого обращения» и положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986 г.). Животных содержали в стандартных условиях вивария: 12-часовой период освещения, температура 20°C, корм и вода *ad libitum*.

Препарат лектина вводили крысам интраперитонеально в дозе 2 мкг на животное в физиологическом растворе в объеме 0.2 мл однократно в течение трех суток.

При моделировании антибиотико-ассоциированного дисбактериоза использовали антибиотик линкомицин, который вводили крысам внутримышечно в дозе 20 мкг/кг в объеме 0.2 мл 2 раза в день в течение 2 недель.

По характеру воздействия экспериментальные животные были разделены на 4 группы: 1-я группа – контрольные животные; 2-я группа – животные, которые получали инъекцию раствора лектина; 3-я группа – животные, которым вводили линкомицин; 4-я группа – животные, которым вводили лектин + линкомицин.

Для определения концентрации холестерина использовали ферментативный колориметрический метод Триндера [10–12].

Концентрацию холестерина – Хс-ЛПВП определяли седиментационным методом [13].

Рассчитывали индекс атерогенности (ИА) по формуле:

$$\text{ИА} = ([\text{ОХс}] - [\text{Хс-ЛПВП}]) / [\text{Хс-ЛПВП}],$$

где [ОХс] – концентрация общего холестерина, ммоль/л; [Хс-ЛПВП] – концентрация холестерина-ЛПВП, ммоль/л.

Количество липопротеидов низкой плотности рассчитывалось по формуле:

$$[\text{Хс-ЛПНП}] = [\text{ОХс}] - [\text{Хс-ЛПВП}] - [\text{Хс-ЛПОНП}],$$

где [Хс-ЛПОНП] – концентрация холестерина-ЛПОНП, ммоль/л.

Количество липопротеидов очень низкой плотности рассчитывали по формуле:

$$[\text{Хс-ЛПОНП}] = [\text{ТГ}] / 2,18,$$

где [ТГ] – концентрация общих триглицеридов, ммоль/л.

Для определения концентрации триглицеридов использовали энзиматический колориметрический метод [11].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента [14].

Результаты и обсуждение. В процессе исследования было показано, что у животных, которым вводили бактериальный лектин (ЛШ), уровень содержания общего холестерина в крови составлял 1.820 ± 0.097 ммоль/л. Показатель содержания липопротеидов высокой плотности (Хс-ЛПВП) имел значения 0.360 ± 0.022 ммоль/л; уровень липопротеидов низкой плотности был равен 1.340 ± 0.076 ммоль/л. Уровень содержания триглицеридов составлял 0.310 ± 0.022 ммоль/л. Таким образом, введение лектина не повлияло на данные показатели, относительно контрольных значений (рис. 1). В связи с тем, что содержание в крови животных Хс-ЛПОНП под действием лектина ЛШ снизилось, относительно контрольных значений – до 0.120 ± 0.010 ммоль/л, индекс атерогенности изменился в меньшую сторону (а именно, снизился на 16.46%) (рис. 2). Данное изменение можно рассматривать как положительный момент, так как Хс-ЛПОНП оказывают на организм негативное влияние.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что лектин ЛШ *P. polytuxa* 1460 в данной дозе способен оптимизировать липидный обмен в организме и оказывать положительное влияние на липидный спектр крови самцов белых крыс.

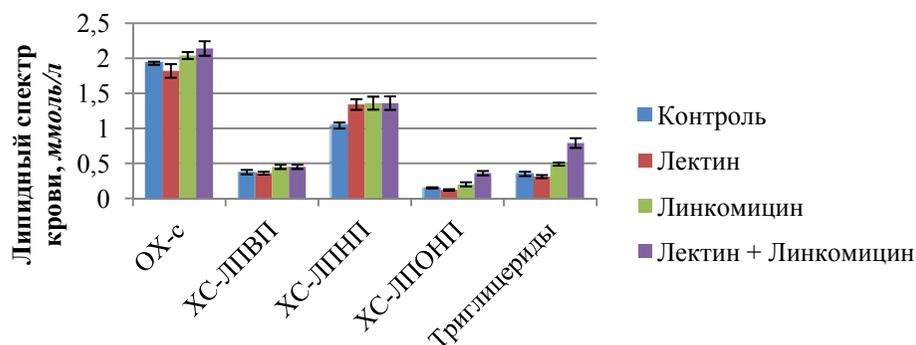


Рис. 1. Влияние линкомицина и лектина (ЛП) *Paenibacillus polytuxa* 1460 на показатели липидного обмена в крови самцов крыс

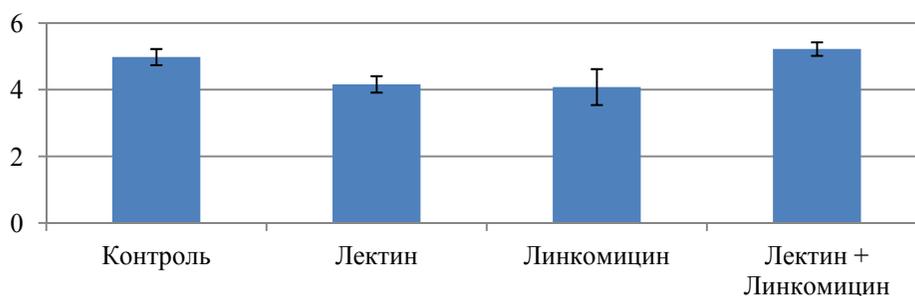


Рис. 2. Изменение индекса атерогенности при влиянии линкомицина и лектина (ЛП) *Paenibacillus polytuxa* 1460 на показатели липидного обмена в крови самцов крыс

У животных, которым в течение 2 недель вводили линкомицин, наблюдали развитие антибиотико-ассоциированного дисбактериоза, что было подтверждено нашими предыдущими работами [15, 16], так было установлено, что после двухнедельного введения крысам линкомицина, происходило уменьшение количества молочнокислых бактерий в толстом кишечнике крыс: бифидобактерий на 98% и лактобактерий на 92%, относительно значений у контрольной группы. Полученные результаты хорошо согласовывались с литературными данными, согласно которым применение антибиотиков, стрессы, приводят к уменьшению количества молочнокислой микрофлоры в кишечнике животных [17, 18]. Наряду с этими изменениями, в процессе исследований было обнаружено, что введение линкомицина способствует увеличению количества кишечной палочки в 2.7 раза и стафилококков в 2.3 раза, относительно количества данных микроорганизмов у контрольной группы, что согласуется с литературными данными, согласно которым, при подавлении роста облигатной микрофлоры толстого кишечника происходит усиление роста факультативной микрофлоры [17, 19, 20].

В ходе эксперимента было установлено, что под влиянием длительного введения жи-

вотным линкомицина уровень ОХс, Хс-ЛПВП, Хс-ЛПНП не изменился относительно контроля. Соответственно, у самцов крыс с вызванным, введением линкомицина, дисбактериозом не было выявлено статистически значимых изменений индекса атерогенности относительно показателя у контрольных животных, и составил 4.080 ± 0.540 ммоль/л. Концентрация триглицеридов увеличилась на 40% относительно контрольной группы и была равна 0.49 ± 0.022 ммоль/л. Увеличение данного показателя является неблагоприятным для организма фактором.

Как видно из рис. 1, у животных, которым в течение 2 недель вводили линкомицин внутримышечно, а затем делали инъекцию лектина на протяжении 3 суток наблюдалась нормализация показателей липидного спектра крови. Содержание Хс-ЛПОНП увеличивалось в 2.5 раза относительно контрольной группы и в 1.8 раза относительно показателя у животных, получавших линкомицин. Уровень содержания триглицеридов увеличился в 2 раза и в 1.6 раза относительно контроля и группы животных, которым вводили лектин, соответственно. Индекс атерогенности сдвинулся на 5% в сторону увеличения (рис. 2).

Заключение. Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о том, что дисбактериоз, как следствие влияния антибиотиков, способствует накоплению в организме холестерина и приводит к риску развития атеросклероза. Лектин (ЛП) *P. polytuxa* 1460, выполняя роль регулятора, способствует оптимизации липидного обмена в организме самцов белых крыс при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе, приводя к норме такие биохимические показатели, как общий холестерин (ОХс), липопротеиды высокой плотности (Хс-ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (Хс-ЛПНП), липопротеиды очень низкой плотности (Хс-ЛПОНП), триглицериды, и в перспективе может быть успешно применен в ветеринарной практике, в биологии и медицине.

Литература

1. Горельникова Е.А. Влияние лектина бацилл на цитокиновую активность фагоцитов: дис...канд. биол. наук. Саратов, 2006. 123 с.
2. Карпунина Л.В., Пономарева Е.Г., Соболева Е.Ф., Никитина В.Е. Изучение бактерицидных и фунгицидных свойств белков агглютининов (лектинов) почвенных азотфиксирующих бактерий // Биотехнология. 1997. № 3. С. 10–13.
3. Гришин А.В., Кривоzubов М.С., Карягина А.С., Гинцбург А.Л. Лектины *Pseudomonas aeruginosa* как мишени для новых антибактериальных соединений // АСТА NATURAE. 2015. Т. 7. № 2(25). С. 32–44.
4. Долмашкина А.С., Горельникова Е.А., Карпунина Л.В. Влияние лектина *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* на активность процесса фагоцитоза // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8. № 3. С. 377–382.
5. Пономарева Е.Г., Черкасова О.А., Симоненко Г.В., Тучин В.В., Никитина В.Е. Воздействие бактериального лектина и повышенной температуры на адипоциты // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2012. Т. 14. № 1. С. 283–287.
6. Аленькина С.А., Никитина В.Е. Влияние лектинов эндофитного и эпифитного штаммов азоспирилл на активность пектинолитических ферментов растительной клетки // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 1. С. 49–53.
7. Проскуракова М.В., Карпунина Л.В. Роль лектина бацилл в регуляции белкового спектра крови крыс при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе // Материалы II международной и XIII региональной научной конференции «Исследования молодых ученых в биологии и экологии», посвященной 90-летию биологического факультета. Саратов, 2021. С. 107–108.
8. Проскуракова М.В., Карпунина Л.В., Сметанина М.Д., Малинин М.Л. Влияние лектина бацилл на активность креатинкиназы и лактатдегидрогеназы в сыворотке крови крыс при различных стрессовых факторах // Аграрный научный журнал. 2015. № 10. С. 14–16.

9. Карпунина Л.В., Вишневецкая О.А., Никитина В.Е., Мельникова У.Ю. Лектины *Bacillus polytuxa*: локализация, участие во взаимодействии с корнями пшеницы // Микробиология. 1993. Т. 62. № 2. С. 307–313.
10. Алимова Е.К., Алимова Е.К., Аствацатурьян А.Т., Жаров Л.В. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний. М.: Медицина, 1975. 279 с.
11. Биохимические методы исследования в клинике: Справочник / под ред. А.А. Покровского. М.: Медицина, 1969. 651 с.
12. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. СПб: Питер Ком, 1999. 512 с.
13. Assmann G., Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to occurrence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience) // Prospective Cardiovascular Münster study. Am J Cardiol. 1992. P. 733–737.
14. Зайцев Г.Н. Методика биометрических расчетов. М.: Наука, 1973. 256 с.
15. Проскуракова М.В., Карпунина Л.В., Сметанина М.Д. Влияние лектина бацилл на естественную микрофлору кишечника крыс при антибиотико-ассоциированном дисбактериозе // Известия Саратовского государственного университета. Новая Серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2014. № 14(2). С. 47–49.
16. Проскуракова М.В., Карпунина Л.В., Сметанина М.Д. Лектин *Paenibacillus polytuxa* 1460 как регулятор естественной микрофлоры кишечника крыс в условиях стресса // Наука и образование в XXI веке: теория, практика, инновации: Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции. Ч. I. М.: «АП-Консалт», 2014. С. 35–38.
17. Неверова Н.Н., Кикалова Т.П., Сметанина М.Д., Карпунина Л.В. Изменение молочнокислой микрофлоры кишечника под действием лектина бацилл в условиях стресса // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2007. № 5. С. 20–22.
18. Шендеров Б.А. Антимикробные препараты и нормальная микрофлора. Проблемы и возможные пути их решения // Антибиотики и химиотерапия. 1988. Т. 33. № 12. С. 921–926.
19. Нормальная микрофлора кишечника. Диагностика, профилактика и лечение дисбактериозов кишечника: пособие для врачей и студентов / Минво здравоохранения РФ; Рос. мед. ун-т; Моск. ин-т мед.-соц. реабилитологии; сост. В. М. Коршунов. М., 1997. 40 с.
20. Лизько Н.Н. Новые экспериментальные модели в микроэкологии // Антибиотики и химиотерапия. 1989. Т. 34. № 6. С. 443–447.

References

1. Gorel'nikova E.A. Vliyanie lektina batsill na tsitokinovuyu aktivnost' fagotsitov: dis. ... kand. biol. nauk. Saratov, 2006, 123 p.

2. Karpunina L.V., Ponomareva E.G., Soboleva E.F., Nikitina V.E. Izuchenie bakteritsidnykh i fungitsidnykh svoystv belkov agglyutininov (lektinov) pochvennykh azotfiksiruyushchikh bakteriy // Biotekhnologiya, 1997, no. 3. pp. 10–13.
3. Grishin A.V., Krivozubov M.S., Karyagina A.S., Gintsburg A.L. Lektiny *Pseudomonas aeruginosa* kak misheni dlya novykh antibakterial'nykh soedineniy // ACTA NATURAE, 2015, vol. 7, no. 2 (25), pp. 32–44.
4. Dolmashkina A.S., Gorelnikova E.A., Karpunina L.V. Vliyanie lektina *Lactobacillus delbrueckii* spp. bulgaricus na aktivnost' protsessa fagotsitoza // Infektsiya i immunitet, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 377–382.
5. Ponomareva E.G., Cherkasova O.A., Simonenko G.V., Tuchin V.V., Nikitina V.E. Vozdeystvie bakterial'nogo lektina i povyshennoy temperatury na adipotsity // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk, 2012, vol. 14, no. 1, pp. 283–287.
6. Alen'kina S.A., Nikitina V.E. Vliyanie lektinov endofitnogo i epifitnogo shtammov azospirill na aktivnost' pektinoliticheskikh fermentov rastitel'noy kletki // Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2017, no. 1, pp. 49–53.
7. Proskuryakova M.V., Karpunina L.V. Rol' lektina batsill v regulyatsii belkovogo spektra krovi kry's pri antibiotiko-assotsiirovannom disbakterioze // Materialy II mezhdunarodnoy i XIII regional'noy nauchnoy konferentsii «Issledovaniya molodykh uchenykh v biologii i ekologii», posvyashchennoy 90-letiyu biologicheskogo fakul'teta. Saratov, 2021, pp. 107–108.
8. Proskuryakova M.V., Karpunina L.V., Smetanina M.D., Malinin M.L. Vliyanie lektina batsill na aktivnost' kreatinkinazy i laktatdehidrogenazy v syvorotke krovi kry's pri razlichnykh stressovykh faktorakh // Agrarnyy nauchnyy zhurnal, 2015, no. 10, pp. 14–16.
9. Karpunina L.V., Vishnevetskaya O.A., Nikitina V.E., Mel'nikova U.Yu. Lektiny *Bacillus polymyxa*: lokalizatsiya, uchastie vo vzaimodeystvii s kornyami pshenitsy // Mikrobiologiya, 1993, vol. 62, no. 2, pp. 307–313.
10. Alimova E.K., Alimova E.K., Astvatsatur'yan A.T., Zharov L.V. Lipidy i zhirnye kisloty v norme i pri ryade patologicheskikh sostoyaniy, Moskva: Meditsina, 1975, 279 p.
11. Biokhimicheskie metody issledovaniya v klinike: Spravochnik / pod red. A.A. Pokrovskogo, Moskva: Meditsina, 1969, 651 p.
12. Klimov A.N., Nikul'cheva N.G. Obmen lipidov i lipoproteidov i ego narusheniya, Sankt-Peterburg: Piter Kom, 1999, 512 p.
13. Assmann G., Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to occurrence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience) // Prospective Cardiovascular Münster study, Am J Cardiol, 1992, pp. 733–737.
14. Zaytsev G.N. Metodika biometricheskikh raschetov, Moskva: Nauka, 1973, 256 p.
15. Proskuryakova M.V., Karpunina L.V., Smetanina M.D. Vliyanie lektina batsill na estestvennuyu mikrofloru kishechnika kry's pri antibiotiko-assotsiirovannom disbakterioze // Izvestiya Saratovskogo gosudarstvennogo universiteta. Novaya Seriya. Seriya Khimiya. Biologiya. Ekologiya, 2014, no. 14 (2), pp. 47–49.
16. Proskuryakova M.V., Karpunina L.V., Smetanina M.D. Lektin *Paenibacillus polymyxa* 1460 kak regulyator estestvennoy mikroflory kishechnika kry's v usloviyakh stressa // Nauka i obrazovanie v XXI veke: teoriya, praktika, innovatsii: Sbornik nauchnykh trudov po materialam Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Ch. I., Moskva: «AP-Konsalt», 2014, pp. 35–38.
17. Neverova N.N., Kikalova T.P., Smetanina M.D., Karpunina L.V. Izmenenie molochnokisloy mikroflory kishechnika pod deystviem lektina batsill v usloviyakh stressa // Vestnik Saratovskogo gosagrouniversiteta im. N.I. Vavilova, 2007, no. 5, pp. 20–22.
18. Shenderov B.A. Antimikrobnyye preparaty i normal'naya mikroflora. Problemy i vozmozhnye puti ikh resheniya // Antibiotiki i khimioterapiya, 1988, vol. 33, no. 12, pp. 921–926.
19. Normal'naya mikroflora kishechnika. Diagnostika, profilaktika i lechenie disbakteriozov kishechnika: posobie dlya vrachey i studentov / Min-vo zdравookhraneniya RF; Ros. med. un-t; Mosk. in-t med.-sots. reabilitologii; sost. V.M. Korshunov, Moskva, 1997, 40 p.
20. Liz'ko N.N. Novye eksperimental'nye modeli v mikroekologii // Antibiotiki i khimioterapiya, 1989, vol. 34, no. 6, pp. 443–447.

INFLUENCE OF LECTIN *Paenibacillus polymyxa* 1460 (LII) ON LIPID SPECTRUM PROFILE OF MALE RATS UNDER IN ANTIBIOTIC-ASSOCIATED DYSBACTERIOSIS

© L.V. Karpunina¹, M.V. Proskuryakova²

Saratov State University of Genetics,
4, Ave. Peter Stolypin, 410012, Saratov, Russian Federation
Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe",
46, Universitetskaya St., 410005, Saratov, Russian Federation

Paenibacillus polymyxa 1460 lectin (LII) isolated from the surface of soil nitrogen-fixing bacteria were shown to, contributes to the optimization of lipid metabolism in the organism of male albino rats with antibiotic-associated dysbacteriosis leading to the normal are important biochemical parameters in blood such as total cholesterol (TC), high density lipoproteins (HDL-C), low density lipoprotein (TC-LDL), lipoprotein very low density (XC-VLDL). The study of the effect of *Paenibacillus polymyxa* 1460 (LII) lectin on animal metabolism is important for understanding the mechanisms underlying the metabolic activity of these substances, and reveals the possibilities of its application in the practice of biomedical research with the prospect of its use as biologically active substances.

Keywords: lectins, bacteria, antibiotics, dysbacteriose, lipid spectrum of blood, rats.