



УДК 59.084

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ОЖОГОВ У КРЫС

Г. Т. Урядова, Н. А. Фокина, А. Ю. Тяпкин,
Л. Н. Шорина, Л. В. Карпунина

Урядова Галина Тимофеевна, аспирант кафедры микробиологии, биотехнологии и химии, Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, eni_galina@mail.ru

Фокина Надежда Александровна, микробиолог, Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, fockina.nadejda@yandex.ru

Тяпкин Александр Юрьевич, аспирант кафедры микробиологии, биотехнологии и химии, Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, 79085416670@yandex.ru

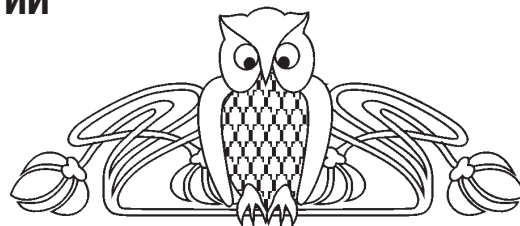
Шорина Лидия Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, shorinaln@rambler.ru

Карпунина Лидия Владимировна, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии, биотехнологии и химии, Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, karpuninal@mail.ru

Изучено влияние пленочных покрытий, созданных на основе экзополисахаридов (ЭПС) молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus*, на заживление ожоговых ран у самок крыс. Установлено, что пленочные покрытия способствуют, хотя и в разной степени, заживлению ожогов степени IIIa у крыс. Нанесение пленочных покрытий на место ожога осуществляли сразу же после воспроизведения ожога и далее ежедневно в течение 28 суток. О процессе заживления судили по изменению площади поврежденной поверхности, восстановлению шерстного покрова и зарастанию ран. Было показано, что у животных с пленочными покрытиями, созданными на основе ЭПС молочнокислых бактерий, заживление ран происходит в более ранние сроки по сравнению с контрольными животными – без лечения и с применением коммерческого препарата 5%-ного декспантенола. Лучший регенерирующий эффект выявлен в отношении пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС *S. thermophilus*. Обнаруженная способность пленочных покрытий, созданных на основе ЭПС данных молочнокислых бактерий, оказывать положительное влияние на процесс заживления ожогов животных может найти применение в медико-биологических исследованиях и ветеринарии.

Ключевые слова: экзополисахариды, молочнокислые бактерии, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, крысы, ожог.

DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-192-195



Введение

В последние годы полисахариды микроорганизмов в связи с их большой функциональной значимостью в организме животных и человека находят все большее применение в различных отраслях народного хозяйства [1–3]. В состав многих мазей, гелей, применяемых в косметологии, медицине, ветеринарии, входят ЭПС бактерий [4–6]. Значительное внимание уделяется экзополисахаридам, продуцируемым молочнокислыми бактериями. Имеются публикации о том, что ЭПС некоторых молочнокислых бактерий обладают иммуномодулирующими, антимикробными свойствами [7–11]. Встречаются данные и об их способности проявлять ранозаживляющие свойства, однако такие сведения не многочисленны [11].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния пленочных покрытий, созданных на основе ЭПС молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus*, на процесс заживления ран при моделировании ожогов у крыс.

Материалы и методы

Объектом исследования явились пленочные покрытия, созданные на основе экзополисахаридов (ЭПС) *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus* по методике [12] в нашей модификации. ЭПС были выделены нами ранее [13, 14] из культур: *L. lactis* В-1662, полученной из Всероссийской коллекции микроорганизмов (г. Пущино), и *S. thermophilus*, полученной из ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (г. Москва).

Исследование проводили на самках белых беспородных крыс массой 270–300 г, прошедших карантин в течение 14 суток. Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с требованиями Федерального закона от 01.12.1999 г. «О защите животных от жестокого обращения» и положениями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных,



используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18.03.1986 г.). Крысы находились в виварии при стандартных условиях содержания и кормления. За сутки до эксперимента крысы были продепильрованы путем выщипывания шерсти на обозначенной для ожога кожной поверхности. Для проведения эксперимента крысы были разделены на 4 группы по 6 крыс в каждой: 1-я группа – контрольные животные, у которых вызывали ожог, 2 группа – животные, у которых вызывали ожог и после ожога наносили коммерческий препарат 5%-ного декспантенола («Пантодерм», АО «АКРИХИН», Россия). Следующие две группы составили животные с ожоговой раной, на которую в последующем регулярно наносили пленочное покрытие на основе ЭПС *L. lactis* B-1662 (3-я группа) или на основе ЭПС *S. thermophilus* (4-я группа).

Ожог степени IIIa моделировали под эфирным наркозом на межлопаточном пространстве крысы дном пробирки (площадь – 2×2 см) с кипящей водой (2/3 объема пробирки) в течение 30 секунд [15]. Нанесение декспантенола и ЭПС в виде пленочных покрытий на место ожога осуществляли сразу же после воспроизведения ожога и далее ежедневно в течение 28 суток. О процессе заживления ожога судили по изменению площади поврежденной поверхности, восстановлению шерстного покрова, зарастанию ран [15] через 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 и 28 суток.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью методов параметрического и непараметрического анализа с использованием пакетов прикладных программ «Statistica 8.0 for Windows» (StatSoft-Russia) и Microsoft Office Excel 2007.

Результаты и их обсуждение

В процессе исследований были изучены ранозаживляющие свойства пленочных покрытий, созданных на основе ЭПС *L. lactis* B-1662 и *S. thermophilus*. Для создания пленочного покрытия использовали водный раствор ЭПС (1%) *L. lactis* B-1662, *S. thermophilus*, карбоксиметилцеллюлозу (1,5%) (КМЦ) («Fluka», Швейцария) и пластификатор глицерин (10%). В результате получали однородный, прозрачный, студнеобразный раствор (гель), который, застывая, образовывал пленку.

Было показано, что динамика заживления ожоговых ран контрольных (1 и 2) и опытных групп (3 и 4) животных отличалась.

В контрольной группе (1) животных на 1-е сутки на месте ожога наблюдали сухую темно-красного цвета корку с ровными краями. На протяжении всего эксперимента цвет и форма корки (струпа) не изменялись, уменьшалась только их площадь, начиная с 10-х суток (таблица), отделения струпа от поверхности кожи не происходило. Полное заживление ожоговой раны и восстановление шерстного покрова наблюдали только на 28-е сутки.

Влияние пленочных покрытий на ожоги у крыс

Время, сутки	Группа			
	1	2	2	4
	Контроль		Опыт	
	Ожог	Ожог + декспантенол	Ожог + пленочное покрытие с ЭПС	
			<i>L. lactis</i> B-1662	<i>S. thermophilus</i>
Площадь раны, см ²				
1	2,80±0,10	2,40±0,20	2,20±0,16 *	1,60±0,08 *
3	3,00±0,30	3,00±0,20	1,50±0,17 *•	1,40±0,12 *
5	2,40±0,20	2,60±0,30	1,50±0,20 *•	1,20±0,12 *•
7	2,10±0,22 •	2,50±0,21	1,50±0,10 *•	1,00±0,08 *•
10	0,50±0,12 •	2,00±0,14 *	1,40±0,05 *•	0,90±0,05 *•
14	0,40±0,12 •	0,20±0,08 •	0,70±0,12•	0,50±0,12 *•
21	0,10±0,05 •	0,08±0,17 •	0,01±0,00•	–
23	0,10±0,05 •	0,10±0,05 •	–	–
25	0,10±0,05 •	–	–	–
28	–	–	–	–

Примечание. $P \leq 0,05$ относительно: * – показателя в группе «ожог» в тот же срок; • – показателя в первые сутки; прочерк – отсутствие раны.



У крыс 2-й группы в 1-е сутки происходило образование такой же корки, как у животных в группе 1. Как видно из таблицы, у крыс, чьи ожоги обрабатывали декспантенолом, площадь струпа начинала уменьшаться с 14-х суток и его отшелушивания до конца эксперимента не происходило. Полное заживление раны наблюдали к 25-м суткам, а шерстный покров полностью восстанавливался лишь к 28-м суткам.

У крыс, которым в ходе эксперимента на рану наносили гель, созданный на основе ЭПС лактококка, который по мере застывания образовывал пленочное покрытие (группа 3), на 1-е сутки эксперимента наблюдали образование сухой корки на поверхности раны желто-бурого цвета. На 5-е сутки корка начинала шелушиться и отслаиваться от кожи. К 7-м суткам корка светлела и еще больше отслаивалась. На 14-е сутки корка частично отделялась от поверхности кожи. К 21-м суткам происходило практически полное заживление раны, о чем судили по площади ожога ($0,01 \pm 0,00$), которая была в 10 раз меньше, чем к этому времени в 1-й группе животных (см. таблицу). По истечении 21 суток наблюдали бурого цвета царапины и частичное восстановление шерстного покрова. Полное заживление было отмечено на 23-и сутки, а полное восстановление шерстного покрова происходило на 25-е сутки.

При применении для обработки ожога пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС стрептококка (группа 4), были получены следующие результаты. У этих животных, так же как и у животных 3-й группы, через сутки на поверхности раны наблюдали образование сухой корки желто-бурого цвета. Однако было замечено, что заживление ран у данной группы животных, в отличие от крыс 3-й группы, начиналось уже с первых суток, корка была меньшего размера (см. таблицу). На 5-е сутки корка еще больше светлела и начинала отделяться от поверхности кожи. На 14-е сутки у крыс данной группы, как и в группе 3, струп частично отделялся. На 21-е сутки на месте раны отмечали лишь небольшое покраснение кожи и практически полное восстановление шерстного покрова.

Нагноения ран ни в одной группе животных не наблюдали.

Таким образом, пленочные покрытия, созданные на основе ЭПС *L. lactis* В-1662 и *S. thermophilus*, способствуют в разной мере заживлению ожогов степени IIIа у крыс и восстановлению кожно-шерстного покрова в более ранние сроки по сравнению с животными без лечения и с применением декспантенола. Наибольший

регенерирующий эффект выявлен в отношении пленочного покрытия, созданного на основе ЭПС стрептококка.

Список литературы

1. Garcia-Ochoa F., Santos V. E., Casas J. A., Gomez E. Xanthan gum : production, recovery and properties // Biotechnology Advance. 2000. Vol. 18. P. 549–579.
2. Еремеева С. В. Нефтеокисляющие микроорганизмы природных и техногенных экосистем аридной зоны : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Астрахань, 2000. 24 с.
3. Базарнова Ю. Г., Шкотова Т. Е., Зюканов В. М. Применение натуральных гидроколлоидов для стабилизации пищевых продуктов // Пищевые ингредиенты : сырье и добавки. 2005. № 2. С. 84–87.
4. Ботвинко И. В. Экзополисахариды бактерий // Успехи микробиологии. 1985. Т. 20. С. 79–122.
5. Roca C., Alves V. D., Freitas F., Reis M. A. M. Exopolysaccharides enriched in rare sugars: bacterial sources, production, and applications // Frontiers in Microbiology. 2015. Vol. 6. P. 288–291.
6. Vasiliu S. Microbial Exopolysaccharides for Biomedical Applications // Frontiers in Biomaterials: Unfolding the Biopolymer Landscape / eds. V. Pillay, Y. E. Choonara, P. Kumar. Sharjah : Bentham Sci. Publ. UAE, 2016. Vol. 2. P. 180–238.
7. Makino S. Immunomodulatory effects of polysaccharides produced by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1 // J. of Dairy Science. 2006. Vol. 89. P. 2873–2881.
8. Ермольева З. В., Вайсберг Г. Е. Стимуляция неспецифической резистентности организма и бактериальные полисахариды. М. : Медицина, 1976. 184 с.
9. Митылова Н. В. Разработка технологии концентрированной закваски на основе симбиоза пробиотических бактерий : дис. ... канд. техн. наук. Улан-Уде, 2007. 166 с.
10. Oh M. H., Lee S. G., Paik S. Antiviral activity of *Lactobacillus* spp. and polysaccharide // J. of Bacteriology and Virology. 2010. № 140. P. 145–150.
11. Правдивцева М. И., Карпунина Л. В., Бухарова Е. Н. Влияние лаксаранов на процесс заживления ран у животных // Аграрная наука в XXI веке : проблемы и перспективы : сб. науч. ст. VI Всерос. науч.-практ. конф. Саратов : ООО «ЦеСАин», 2012. С. 82–84.
12. Пассаглия Э., Маршессо Р. Приготовление и исследование пленок // Методы исследования углеводов. М. : Мир, 1975. С. 413–428.
13. Урядова Г. Т., Тяпкин А. Ю., Фокина Н. А., Карпунина Л. В. Выделение экзополисахаридов *Streptococcus thermophilus* // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий : материалы Всерос. науч.-практ. конф. Саратов : ИЦ «Наука», 2015. С. 109–113.



14. Фокина Н. А., Урядова Г. Т., Карпунина Л. В. Выделение экзополисахарида из *Lactococcus lactis* при различных условиях культивирования // Аграр. науч. журн. 2016. № 12. С. 40–42.
15. Пономарь Н. С. Влияние препарата ионизированного серебра на репаративную регенерацию кожи и подлежащих тканей при моделировании термических и химических ожогов у крыс // Биомедицина. 2012. № 1. С. 143–148.

Study of influence of Film Coatings on the Basis of Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria on the Healing of Burns in Rats

G. T. Uryadova, N. A. Fokina, A. Yu. Tyapkin, L. N. Shorina, L. V. Karpunina

Galina T. Uryadova, ORCID 0000-0002-3684-9028, Saratov State Agrarian University, 220, B. Sadovaya Str., 410005, Saratov, Russia, eni_galina@mail.ru

Nadezhda A. Fokina, ORCID 0000-0002-0911-0287, Saratov State Agrarian University, 220, B. Sadovaya Str., 410005, Saratov, Russia, fockina.nadejda@yandex.ru

Alexander Yu. Tyapkin, ORCID 0000-0002-0801-9287, Saratov State Agrarian University, 220, B. Sadovaya Str., 410005, Saratov, Russia, 79085416670@yandex.ru

Lidiya N. Shorina, ORCID 0000-0001-6061-7713, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., 410012, Saratov, Russia, shorinaln@rambler.ru

Lydia V. Karpunina, ORCID 0000-0002-9985-9944, Saratov State Agrarian University, 220, B. Sadovaya Str., 410005, Saratov, Russia, karpuninal@mail.ru

Was studied the influence of film coatings, created on the basis of exopolysaccharides (EPS) of lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* B-1662 and *Streptococcus thermophilus*, on the healing of burn wounds in female rats. It has been established that film coatings contribute, albeit to varying degrees, to the healing of burns of grade IIIa in rats. The application of film coatings to the burn site was carried out immediately after the burn was reproduced and then daily for 28 days. The process of healing was judged by changing the area of the damaged surface, restoring the coat and overgrowing the wounds. It was shown that in animals with film coatings created on the basis of EPS of lactic acid bacteria, wound healing takes place at an earlier time than in control animals without treatment and using a commercial preparation of 5% dexpanthenol. The best regenerating effect was revealed with respect to the film coating created on the basis of EPS *S. thermophilus*. The detected ability of film coatings, created on the basis of EPS of these lactic acid bacteria, to have a positive effect on the healing process of animal burns can find application in biomedical research and veterinary medicine.

Key words: exopolysaccharides, lactic acid bacteria, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, rats, burn.

Образец для цитирования:

Урядова Г. Т., Фокина Н. А., Тяпкин А. Ю., Шорина Л. Н., Карпунина Л. В. Изучение влияния пленочных покрытий на основе экзополисахаридов молочнокислых бактерий на заживление ожогов у крыс // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 192–195. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-192-195.

Cite this article as:

Uryadova G. T., Fokina N. A., Tyapkin A. Yu., Shorina L. N., Karpunina L. V. Study of influence of Film Coatings on the Basis of Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria on the Healing of Burns in Rats. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 192–195 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-192-195.