

Пилотное исследование доставки *B. subtilis* в желудочно-кишечный тракт на модельных животных

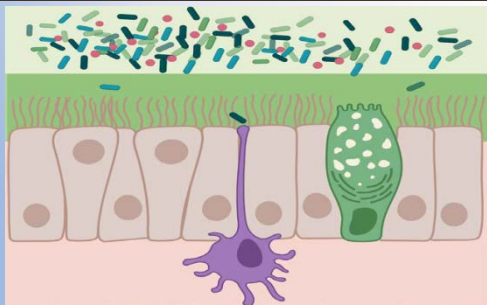
м.н.с. Центра технологического
превосходства, к.б.н. Блинова Е.А.
НГТУ, Новосибирск

Механизмы пробиотического действия *Bacillus subtilis*

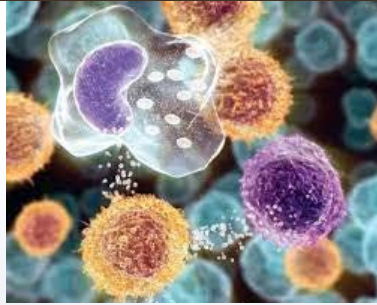


Bacillus subtilis

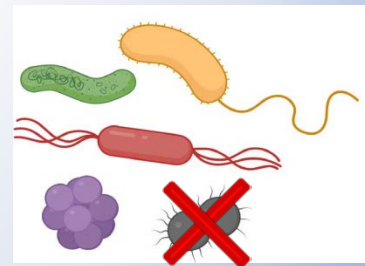
Повышение барьерной функции слизистой оболочки кишечника
(↑ выживаемости эпителиальных клеток, ↓ окислительного стресса)



Влияние на иммунитет
Активация макрофагов, активация и пролиферация В- и Т-лимфоцитов (↑ IgA в сыворотке и слизистых)



Влияние на микробиоту
Способствует росту нормальной микробиоты (*Lactobacillus*) (метаболиты), препятствует росту патогенных бактерий, грибов (противомикробные в-ва)



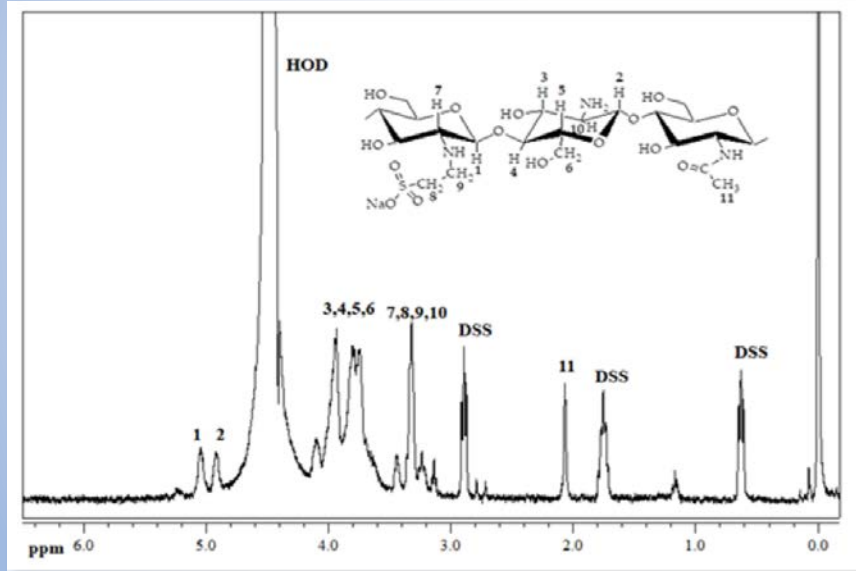
Проблемы доставки пробиотиков в организм

- Агрессивная среда желудка (повышенная кислотность (рН 1,5-2,2), пищеварительные ферменты) – теряется значительная часть бактерий
- Обедненный состав факторов для выживания бактерий в кишечнике (особенно при патологии, когда разрастаются патогенные микроорганизмы)
- Прикрепление к слизистой кишечника, заселение и поддержание в кишечнике после окончания приема жидких форм

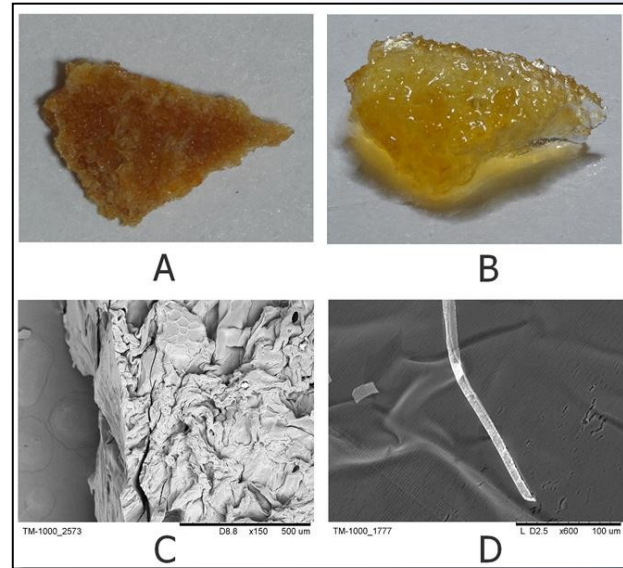


Биоразлагаемый пористый гель на основе хитозана

Химическая структура



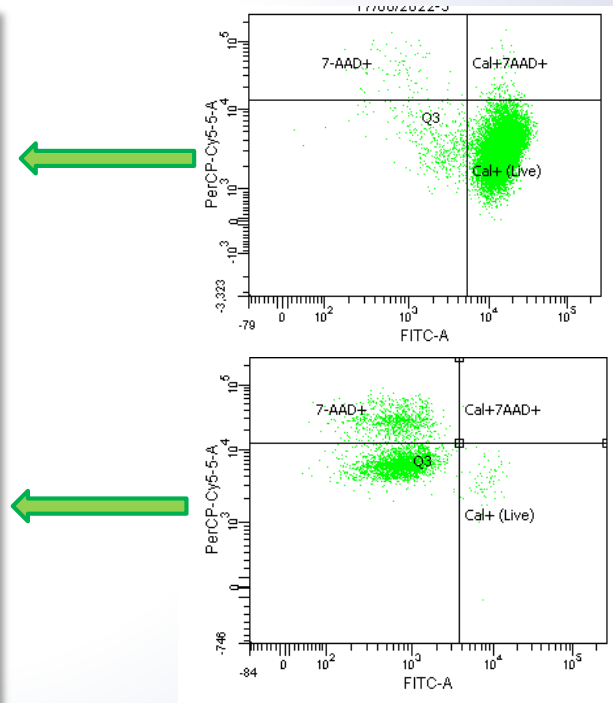
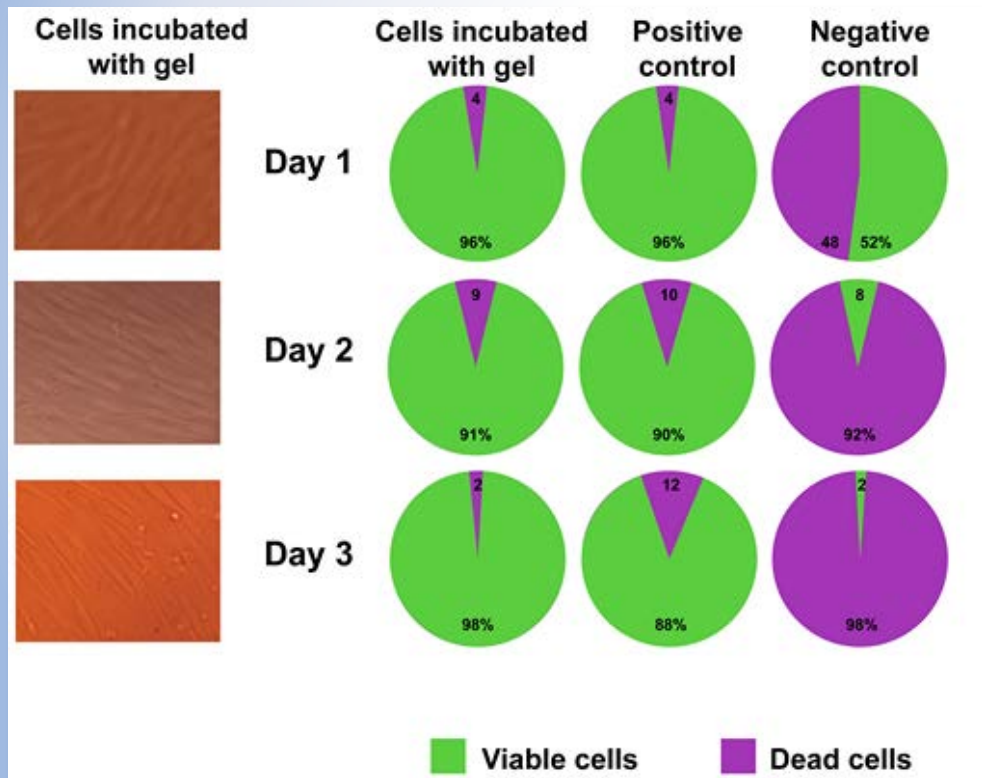
Макро и микросъёмка геля до/после набухания



Безопасность гелевого носителя на основе хитозана

Морфология
фибробластов

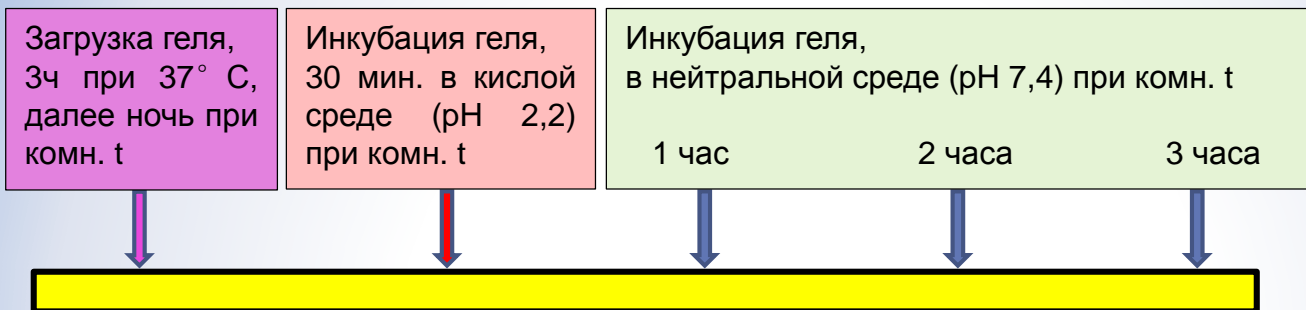
Определение жизнеспособности фибробластов



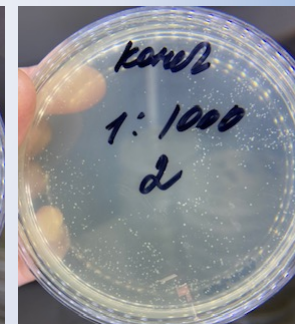
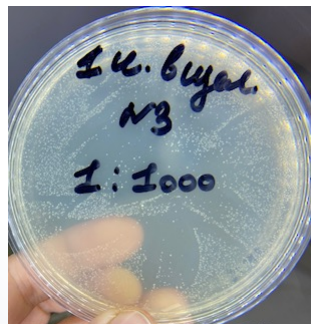
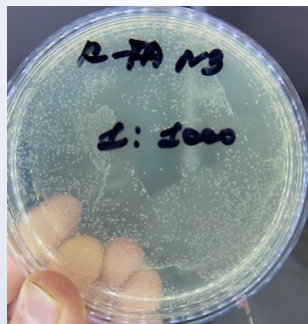
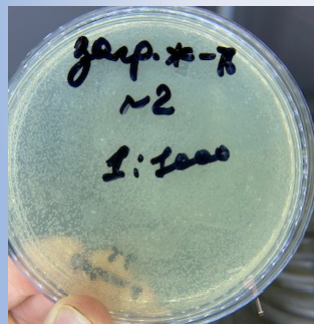
Клетки,
культивируемые с гелем

Негативный
контроль
(+10%
DMSO)

Модель ЖКТ мыши in vitro



Гель способствует сохранению бактерий в условиях ЖКТ и постепенному их выходу в нейтральной среде



Титр *V.subtilis* в геле и жидкой фазе

Схема гейтирования на проточном цитофлуориметре

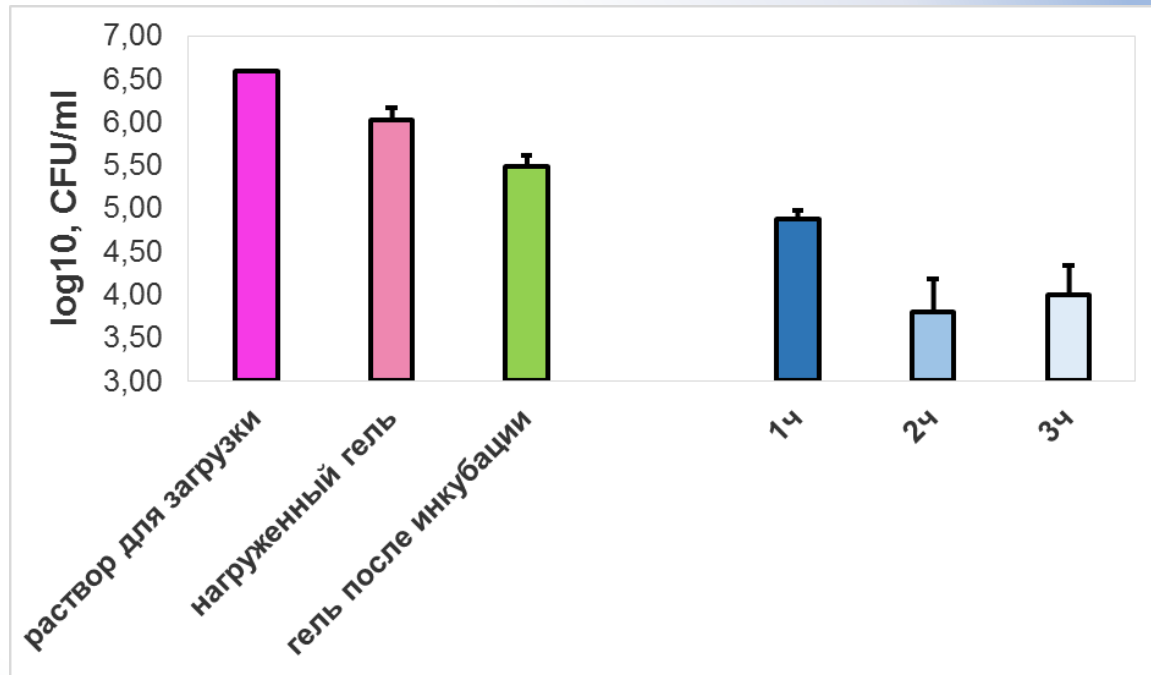
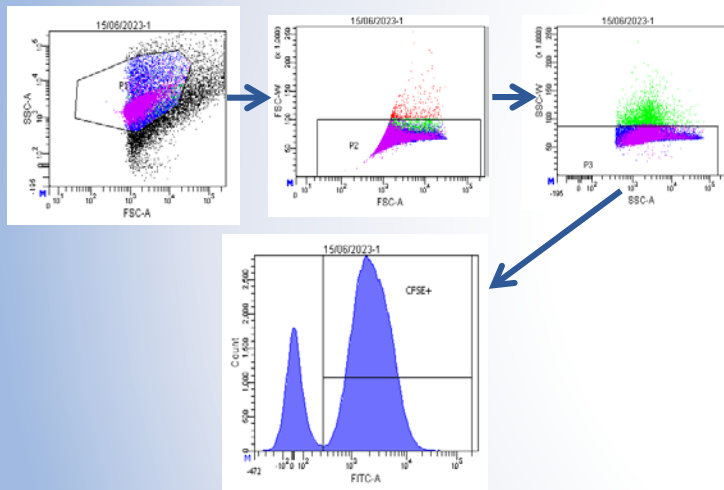


Схема эксперимента in vivo

CD1 14-16 недель



опыт

по 1 единице геля, 1
раз в день (5 дней)

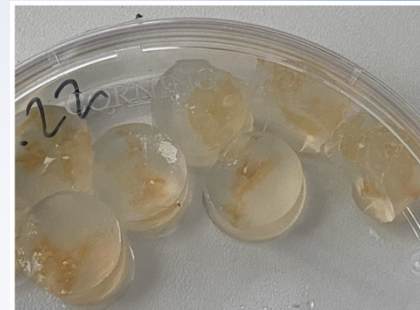


жидкая форма, 1
раз в день (5 дней)



контроль

Определение
титра бактерий
в фекалиях



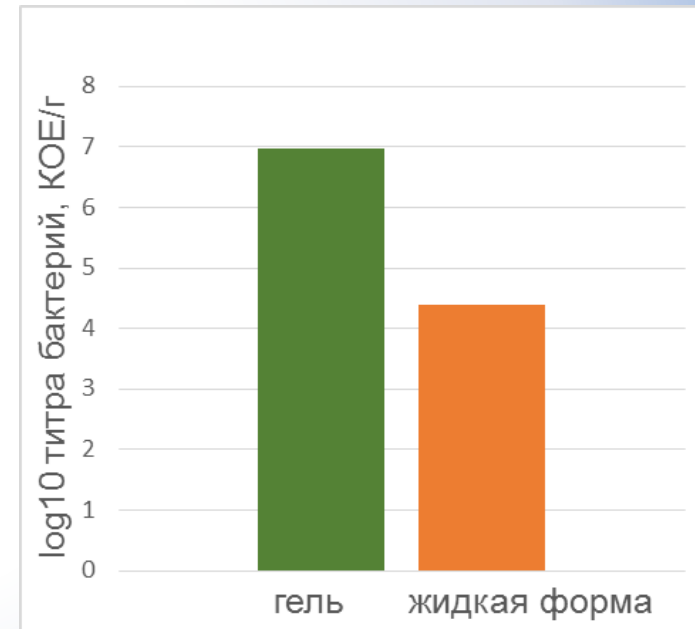
Гель, нагруженный *B. subtilis*, в 1% агаре

Доставка в геле способствует более высокому титру *B. subtilis* на 7 день после окончания приема

Изменение титра бактерий в динамике эксперимента

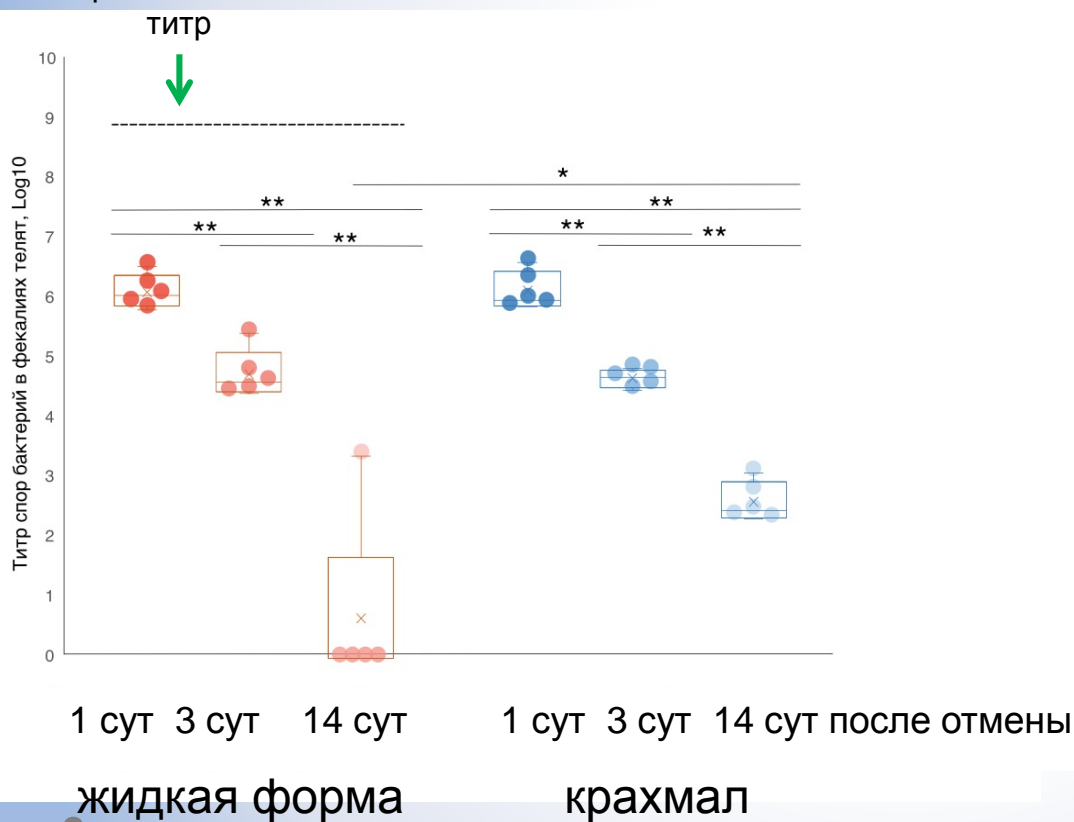
Days of the Experiment	Number of Mice	Titer Value, CFU/g
Bacteria-loaded gel carrier (baseline titer)	1	8.75×10^8
	2	8.75×10^8
Day 0 (before test strain feeding)	1	0.0
	2	0.0
Day 5 after feeding every day with gel carrier additive (end of test strain feeding)	1	4.65×10^8
	2	3.75×10^8
Day 6 (feeding with standard ration only)	1	0.43×10^8
	2	0.89×10^8
Day 7 (feeding with standard ration only)	1	0.10×10^8
	2	0.09×10^8

Титр бактерий в фекалиях мышей на 7-е сутки



Доставка *B. subtilis* с помощью модифицированного крахмала в кишечник телят

Первоначальный



Крахмал, нагруженный *B. subtilis*, в 1% агаре



Благодарности

Работа выполнена в рамках Проекта «Разработка многофункциональных транспортных биоразлагаемых полимерных материалов» Приоритет-2030 НГТУ_НЭТИ



Литвинова Е.А. – к.б.н., руководитель проекта
Корель А.В. – к.м.н., культуральные работы
Самохин А.Г. – к.м.н., эксперименты *in vitro*
Бец В.А. – ветеринар, эксперимент с телятами
Грибченко И.Б. - эксперимент с телятами
Макушева Ю. – эксперимент с мышами
Гончарова Е.П. – эксперимент с мышами
Калмыкова Г.В. – к.б.н., микробиолог
Можерина Е.А. – лаборант-микробиолог
Пестов А.В. – синтез геля на основе хитозана, институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург
Ткаченко В.О. – стерилизация геля, крахмала, Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, г. Новосибирск