

## STUDY OF INFLUENCE OF BIOPREPARATE «MICROFIT» FOR THE CONDITION INTERNAL ORGANS OF LABORATORY RATS

Zakarya K.D.<sup>1</sup>, Sarmurzina Z.S.<sup>1</sup>, Dospaeva R.T.<sup>1</sup>, Bissenova G.N.<sup>1</sup>, Shulgau Z.T.<sup>2</sup>, Gulyaev A.E.<sup>2</sup>, Krivoruchko T.N.<sup>2</sup>, Zhetpisbaev B.B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Republic Collection of Microorganisms,  
Valikhanov street, 13/1, Astana, 010000, Kazakhstan

<sup>2</sup>National Center for Biotechnology,  
13/5, Korgalzhyn road, Astana, 010000, Kazakhstan

<sup>3</sup>National Center of Neurosurgery,  
Avenue Turan, 34/1, Astana, 010000, Kazakhstan  
bissenova84@mail.ru

### ABSTRACT

The article describes experimental results of preclinical tests of the combined biopreparation “Microfit” intended for prevention and correction of intestinal microflora. The preparation consists of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus*, an extract of balsamic poplar and tagansorbent. Pre-clinical study of the safety of the biopreparation “Microfit” on the state of internal (absolute and relative mass) organs of laboratory animals was conducted. According to the results, it was established that the biopreparation “Microfit” with the course of intragastric rat administration to rats at the conventional therapeutic dose (30 mg/kg) and the dose 10 times higher than the conventional therapeutic dose (300 mg/kg) had not led to a general toxic and destructive effect on the internal organs of animals. The safety of the biopreparation “Microfit” after intragastric administration and good tolerance of animals was confirmed. The results allow approving safety of the tested biological product.

Keywords: research, biopreparation, toxicity, conditional therapeutic dose, laboratory animals, internal organs.

УДК615.038

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОПРЕПАРАТА «МИКРОФИТ» НА СОСТОЯНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Закарья К.Д.<sup>1</sup>, Сармурзина З.С.<sup>1</sup>, Доспаева Р.Т.<sup>1</sup>, Бисенова Г.Н.<sup>1</sup>, Шульгау З.Т.<sup>2</sup>, Гуляев А.Е.<sup>2</sup>, Криворучко Т.Н.<sup>2</sup>, Жетписбаев Б.Б.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Республиканская коллекция микроорганизмов,  
ул. Валиханова, 13/1, Астана, 010000, Казахстан

<sup>2</sup>Национальный центр биотехнологии,  
Кургальжинское шоссе, 13/5, Астана, 010000, Казахстан

<sup>3</sup>Национальный центр нейрохирургии,  
проспект Туран, 34/1, Астана, 010000, Казахстан  
bissenova84@mail.ru

### АБСТРАКТ

В статье представлены экспериментальные результаты доклинических испытаний комбинированного биопрепарата «Микрофит», предназначенного для профилактики и коррекции микрофлоры кишечника. Препарат состоит из молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*, экстракта тополя бальзамического и таган сорбента. Проведено доклиническое изучение безопасности биопрепарата «Микрофит» на состояние внутренних (абсолютная и относительная масса) органов лабораторных животных. По результатам исследований установлено, что биопрепарат «Микрофит» при курсовом внутрижелудочном введении крысам в условно-терапевтической дозе (30 мг/кг) и дозе, в 10 раз превышающей условно-терапевтическую дозу (300 мг/кг), не оказывает общетоксического и деструктивного действия на основные внутренние органы животных. Установлена безвредность биопрепарата «Микрофит» при внутрижелудочном введении и хорошая переносимость животными. Полученные результаты позволяют утверждать о безопасности исследуемого биопрепарата.

**Ключевые слова:** исследование, биопрепарат, токсичность, условно-терапевтическая доза, лабораторные животные, внутренние органы.

Одним из важнейших разделов доклинических исследований являются токсикологические испытания новых лекарственных средств [1-2].

Могут возникнуть различные аллергические реакции организма, вызванные введением того или иного лекарственного средства, значительно снижающее его эффективность и терапевтическое действие [3-4]. В связи с этим, целью данного исследования являлось изучение абсолютной и относительной массы внутренних органов животных под действием комбинированного биопрепарата «Микрофит» на лабораторных крысах при курсовом внутривентрикулярном введении в дозах 30 мг/кг и 300 мг/кг.

Эксперименты были выполнены на белых аутбредных крысах массой 180-240 г. Для опытов были сформированы 6 групп. Исследования проводили согласно правилам доклинических исследований [5-7]. Обращение с животными соответствовало этическим принципам надлежащей лабораторной практики [8]. По окончании введения биопрепарата «Микрофит» у животных извлекали внутренние органы, определяли весовые коэффициенты внутренних органов. Биопрепарат «Микрофит» вводили крысам ежедневно 7 раз в неделю в условно-терапевтической дозе (30 мг/кг) и в дозе, в 10 раз превышающей условно-терапевтическую (300 мг/кг) в течение 1 месяца. Контролем служили животные, получающие в эквивалентном объеме внутривентрикулярно питьевую воду в течение 1 месяца.

Макроскопическое исследование внутренних органов всех опытных животных при вскрытии не выявило какой-либо патологии. Масса внутренних органов, как абсолютная, так и относительная, у всех исследованных крыс колебалась в пределах фоновых значений. Весовые коэффициенты внутренних органов контрольных и опытных крыс практически не отличались. При макроскопическом исследовании сердца, печени, почек, легких, селезенки, семенников/яичников дегенеративных изменений при введении двух уровней доз биопрепарата «Микрофит» не было обнаружено. Все органы и ткани имели цвет, размеры, структуру, соответствующие референтным значениям для данного вида животных (таблицы 1-2).

**Таблица 1.** Влияние биопрепарата на абсолютную массу внутренних органов

**Table 1.** Influence of the biopreparation on the absolute mass of internal organs

| Исследуемые параметры<br>Explored parameters   | Исследуемая группа<br>Study group       |                                    |                                     |   |                                      |                                       |
|--|---|------------------------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------------|---------------------------------------|
|  | Самцы контроль<br>Males control,<br>n=6 | Самцы<br>Males<br>30 мг/кг,<br>n=6 | Самцы<br>Males<br>300 мг/кг,<br>n=6 | Самки контроль<br>Females control,<br>n=6 | Самки<br>Females<br>30 мг/кг,<br>n=6 | Самки<br>Females<br>300 мг/кг,<br>n=6 |
| Сердце, г<br>Heart, g  | 0,94±0,02                               | 0,93±0,04<br>p=0,8560              | 1,01±0,07<br>p=0,4260               | 0,78±0,04                                 | 0,81±0,06<br>p=0,6999                | 0,76±0,04<br>p=0,7398                 |
| Легкие, г<br>Lungs, g  | 1,86±0,10                               | 1,84±0,15<br>p=0,9249              | 1,85±0,21<br>p=0,9575               | 1,81±0,20                                 | 1,75±0,07<br>p=0,7751                | 1,63±0,12<br>p=0,4550                 |
| Печень, г<br>Liver, g  | 11,32±0,48                              | 10,81±0,74<br>p=0,5885             | 10,70±0,61<br>p=0,4858              | 7,72±0,53                                 | 7,85±0,67<br>p=0,8830                | 7,62±0,65<br>p=0,9144                 |
| Селезенка, г<br>Spleen, g  | 1,26±0,08                               | 1,15±0,09<br>p=0,3694              | 1,18±0,06<br>p=0,4638               | 0,83±0,04                                 | 0,81±0,07<br>p=0,8014                | 0,81±0,08<br>p=0,7923                 |
| Почки, г<br>Kidneys, g   | 0,98±0,03                               | 0,93±0,05<br>p=0,4530              | 0,95±0,04<br>p=0,8912               | 0,74±0,03                                 | 0,74±0,04<br>p=0,9355                | 0,72±0,04<br>p=0,6503                 |
| Семенники/яичники, г<br>Testes/ovaries, g  | 1,67±0,06                               | 1,46±0,11<br>p=0,1473              | 1,52±0,03<br>p=0,0787               | 0,08±0,01                                 | 0,09±0,01<br>p=0,7454                | 0,10±0,01<br>p=0,2543                 |
| Примечания<br>Notes:<br>n – число животных в группе<br>number of animals in the group;<br>p – уровень значимости по сравнению с соответствующим значением в контрольной группе животных<br>level of significance compared with the corresponding value in the control group of animals |   |                                    |                                     |   |                                      |                                       |

**Таблица 2.** Влияние биопрепарата на относительную массу внутренних органов

**Table 2.** Influence of the biopreparation on the relative mass of internal organs

| Исследуемые параметры<br>Explored parameters   | Исследуемая группа<br>Study group       |                                    |                                     |   |                                      |                                       |
|--|---|------------------------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------------|---------------------------------------|
|  | Самцы контроль<br>Males control,<br>n=6 | Самцы<br>Males<br>30 мг/кг,<br>n=6 | Самцы<br>Males<br>300 мг/кг,<br>n=6 | Самки контроль<br>Females control,<br>n=6 | Самки<br>Females<br>30 мг/кг,<br>n=6 | Самки<br>Females<br>300 мг/кг,<br>n=6 |
|  | Сердце<br>Heart, %                      | 0,32±0,01                          | 0,34±0,03<br>p=0,5844               | 0,38±0,04<br>p=0,1905                     | 0,34±0,02                            | 0,35±0,02<br>p=0,5787                 |
| Легкие<br>Lungs, %   | 0,64±0,05                               | 0,66±0,05<br>p=0,7447              | 0,68±0,07<br>p=0,6653               | 0,78±0,08                                 | 0,77±0,03<br>p=0,8747                | 0,74±0,04<br>p=0,6299                 |
| Печень<br>Liver, %   | 3,89±0,23                               | 3,94±0,37<br>p=0,9050              | 3,98±0,28<br>p=0,8099               | 3,35±0,24                                 | 3,42±0,22<br>p=0,8456                | 3,48±0,30<br>p=0,7510                 |
| Селезенка<br>Spleen, %   | 0,44±0,04                               | 0,41±0,03<br>p=0,6264              | 0,44±0,03<br>p=0,9004               | 0,36±0,02                                 | 0,36±0,03<br>p=0,8542                | 0,38±0,06<br>p=0,7904                 |
| Почки<br>Kidneys, %  | 0,34±0,01                               | 0,34±0,03<br>p=0,8999              | 0,35±0,01<br>p=0,4265               | 0,32±0,01                                 | 0,33±0,01<br>p=0,7864                | 0,33±0,03<br>p=0,7614                 |
| Семенники/яичники<br>Testes/ovaries, %   | 0,57±0,03                               | 0,52±0,03<br>p=0,2724              | 0,57±0,02<br>p=0,9055               | 0,04±0,005                                | 0,04±0,003<br>p=0,7082               | 0,05±0,003<br>p=0,1360                |
| Примечания<br>Notes:<br>n – число животных в группе<br>number of animals in the group;<br>p – уровень значимости по сравнению с соответствующим значением в контрольной группе животных<br>level of significance compared with the corresponding value in the control group of animals |   |                                    |                                     |   |                                      |                                       |

Таким образом, по результатам анализа лабораторных данных, не отмечается выраженного негативного влияния биопрепарата «Микрофит» в применяемых дозах 30 мг/кг и 300 мг/кг на функциональное состояние основных внутренних органов животных.

### Финансирование

Исследование выполнено в рамках проекта «Разработка и опытно-промышленное производство биопрепарата «Микрофит» на основе микроорганизмов и растительных экстрактов», грантовое финансирование №0982/ГФ4.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Sorokulova I. Preclinical Testing in the Development of Probiotics: A Regulatory Perspective with *Bacillus* Strains as an Example // Clinical Infectious Diseases. – 2008. – Vol. 46 (2). – P. 92-95.
2. Hayes C.L., Natividad J.M., Jury J., Martin R., Langella P., Verdu E.F. Efficacy of *Bifidobacterium breve* NCC2950 against DSS-induced colitis is dependent on bacterial preparation and timing of administration // J Beneficial Microbes. – 2014. – Vol. 5 (1). – P. 79-88.
3. Sylvie R., Mathilde J., Valérie D., Laurent N. Impact of the gut microbiota on the neuroendocrine and behavioural responses to stress in rodents // Oil seeds and fats crops and lipids. – 2016. – Vol. 23(1). D116. – P. 1-7.

4. Mark S.G., Ross N.B., Philip M.G., Gordon S.H. *Lactobacillus fermentum* BR11, a potential new probiotic, alleviates symptoms of colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS) in rats // *International Journal of Food Microbiology*. –2007. –Vol.114(3). –P.267-274.

5. Правила проведения доклинических исследований, медико-биологических экспериментов и клинических испытаний в Республике Казахстан: утв. приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 25 июля 2007 года №442.

6. Миронов А.Н.Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунатян. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

7. Хабриева Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

8. СТ РК 1613-2006.Надлежащая лабораторная практика. –Введ. 2008.

## REFERENCES

1. Sorokulova I. Preclinical Testing in the Development of Probiotics: A Regulatory Perspective with *Bacillus* Strains as an Example. *Clinical Infectious Diseases*., 2008, vol. 46 (2), pp.92-95.

2. Hayes C.L., Natividad J.M., Jury J., Martin R., Langella P., Verdu E.F. Efficacy of *Bifidobacterium breve* NCC2950 against DSS-induced colitis is dependent on bacterial preparation and timing of administration. *J Beneficial Microbes*, 2014, vol. 5 (1), pp.79-88.

3. Sylvie R., Mathilde J., Valérie D., Laurent N. Impact of the gut microbiota on the neuroendocrine and behavioural responses to stress in rodents. *Ocl-oilseeds and fats crops and lipids*., 2016, vol. 23(1).D116, pp.1-7.

4. Mark S.G., Ross N.B., Philip M.G., Gordon S.H. *Lactobacillus fermentum* BR11, a potential new probiotic, alleviates symptoms of colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS) in rats. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, vol.114(3), pp. 267-274.

5. №442-2007. Pravila provedenija doklinicheskikh issledovanij, mediko-biologicheskikh jeksperimentov i klinicheskikh pytanij v Respublike Kazahstan [Rules for preclinical research, medical and biological experiments and clinical trials in the Republic of Kazakhstan].

6. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaja [A guide to preclinical drug research. Part one]. Moscow, 2012, 944 p.

7. Habrieva R.U. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow, 2005, 832 p.

8. ST RK 1613-2006. Nadlezhashhaja laboratornaja praktika [ST RK 1613-2006. Good Laboratory Practice]. Introduced 2008.

## «МИКРОФИТ» БИОПРЕПАРАТЫНЫҢ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЕГЕУКҰЙРЫҚТАРДЫҢ ІШКІ ОРГАНДАР КҮЙІНЕ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

Закарья К.Д.<sup>1</sup>, Сармурзина З.С.<sup>1</sup>, Доспаева Р.Т.<sup>1</sup>, Бисенова Г.Н.<sup>1</sup>, Шульгау З.Т.<sup>2</sup>,  
Гуляев А.Е.<sup>2</sup>, Криворучко Т.Н.<sup>2</sup>, Жетпісбаев Б.Б.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы,  
Уалиханов көшесі, 13/1, Астана, 010000, Қазақстан

<sup>2</sup>Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5,  
Астана, 010000, Қазақстан

<sup>3</sup>Ұлттық нейрохирургия орталығы,  
Тұран даңғылы, 34/1, Астана, 010000, Қазақстан  
bissenova84@mail.ru

## ТҮЙІН

Мақалада ішек микрофлорасының алдын алу және түзету үшін арналған «Микрофит» бірлескен биопрепараттардың клиникалық сынақтарының тәжірибелік нәтижелері келтірілген. Препарат *Lactobacillus* түріндегі сүт қышқылы бактерияларынан, теріні бальзамынан және таған сорбенттерінің сығындысынан тұрады. Зертханалық жануарлардың ішкі (абсолюттік және салыстырмалы массасы) органдарының жай-күйін «Микрофит» биопрепаратының қауіпсіздігіне алдын ала зерттеулер жүргізілді. Зерттеу нәтижелері бойынша жануарлардың негізгі ішкі органдарында дәстүрлі терапевтік дозада (30 мг/кг) егеуқұйрықтардың асқазанішіне «Микрофит» биопрепаратын енгізу кезінде, әдеттегі терапевтік дозадан (300 мг/кг) 10 есе жоғары дозада жалпы токсикалық және деструктивті әсер етілмегені

анықталды. «Микрофит» биопрепаратының зиянсыздығын асқазанішіне қабылдау және жануарларға жақсы төзімділік кезінде орнатылған. Алынған нәтижелер зерттелген биологиялық өнімнің қауіпсіздігі туралы мақұлдауға мүмкіндік береді.

Негізгі сөздер: зерттеу, биопрепараттар, улылығы, шартты-терапевтік дозасы, зертханалық жануарлар, ішкі органдар.