

УДК 636.03

Оценка влияния ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на цитотоксическую активность и неспецифический иммунитет

Н. А. Кольберг, С. А. Леонтьева, С. Л. Тихонов*, Н. В. Тихонова,
С. В. Шихалев, К. Е. Кирпикова

*Уральский государственный экономический университет, г. Екатеринбург, Россия;
e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Информация о статье Реферат

Поступила в редакцию
15.06.2021

Ключевые слова:
ферментативный гидролизат, сырье тканевого происхождения, лабораторные животные, химический состав, цитотоксичность, антимикробная активность

Использование биологически активных веществ тканевого происхождения для создания биологически активных добавок и лекарственных препаратов иммуномодулирующего действия является важным направлением научных исследований в области нутрициологии и фармакологии. Цель работы – оценка влияния ферментативного гидролизата из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на цитотоксичность и неспецифический иммунитет мышей на фоне экспериментальной сальмонеллезной инфекции. Для эксперимента сформировали три равные экспериментальные группы белых беспородных мышей. Всем лабораторным животным скармливали ежедневно в течение семи суток ферментативный гидролизат в количестве 750 мг/кг (терапевтическая доза), 150 мг/кг (0,2 терапевтической дозы) и 3750 мг/кг (пять терапевтических доз). Одновременно контрольная группа животных получала внутрижелудочно воду в том же объеме. Через 24 часа после последнего приема ферментативного гидролизата животных внутрибрюшинно заражали культурой *Salmonella enteritidis* 92. В ходе исследования установлено отсутствие цитотоксических свойств и нарушение жизнеспособности клеточных культур L929, J774.1A, HeLa S3, K562 и HCT116 на фоне воздействия различных концентраций ферментативного гидролизата от 0,02 до 10 мг/мл. Отмечен выраженный цитотоксический эффект на опухолевые клетки линии MCF-7 концентрации ферментативного гидролизата в культуре 5 и 10 мг/мл, что свидетельствует о возможности использования ферментативного гидролизата для профилактики опухолевых заболеваний. В результате эксперимента доказано, что введение ферментативного гидролизата мышам повышало в 1,5 раза показатель ЛД50 и выживаемость мышей, зараженных культурой возбудителя сальмонеллеза. Доказано, что применение ферментативного гидролизата лимфоидной ткани цыплят-бройлеров не нарушает жизнеспособность клеток млекопитающих и не проявляет цитотоксических свойств на метаболизм здоровых клеток, что свидетельствует о его безопасности. В эксперименте на мышах выявлено влияние ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на активизацию неспецифического иммунитета в отношении сальмонеллезной инфекции.

Для цитирования

Кольберг Н. А. и др. Оценка влияния ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на цитотоксическую активность и неспецифический иммунитет. Вестник МГТУ. 2021. Т. 24, № 3. С. 259–266. DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2021-24-3-259-266>.

Evaluation of the effect of enzymatic hydrolyzate of the bursa of broiler chickens on cytotoxic activity and nonspecific immunity

Natalia A. Kolberg, Svetlana A. Leontieva, Serge L. Tikhonov*,
Natalia V. Tikhonova, Sergey V. Shikhalev, Ksenia E. Kirpikova

*Ural State Economic University, Yekaterinburg, Russia;
e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Article info

Received
15.06.2021

Key words:
enzymatic hydrolysate, raw materials of tissue chemical composition, cytotoxicity, antimicrobial activity origin, laboratory animals

Abstract

The use of biologically active substances of tissue origin for the creation of biologically active additives and immunomodulatory drugs is an important area of scientific research in the field of nutrition and pharmacology. The aim of the work is to evaluate the effect of enzymatic hydrolysate from the fabricium bag of broiler chickens on the cytotoxicity and nonspecific immunity of mice against the background of experimental salmonella infection using biotechnological methods. For the experiment, three equal experimental groups of white mongrel mice were formed. All laboratory animals were fed daily for seven days with enzymatic hydrolysate at a dose of 750 mg/kg (therapeutic dose), 150 mg/kg (0.2 therapeutic dose) and 3,750 mg/kg (five therapeutic doses). At the same time, the control group of animals received intragastric water in the same volume. 24 hours after the last intake of the enzymatic hydrolysate, the animals were intraperitoneally infected with a culture of *Salmonella enteritidis* 92. The study reveals the absence of cytotoxic properties and impaired cell viability in cultures L929, J774.1A, HeLa S3, K562, and HST116 against the background of exposure to various concentrations of enzymatic hydrolysate from 0.02 to 10 mg/ml. It should be noted that there is a pronounced cytotoxic effect on MCF-7 tumor cells of the concentration of enzymatic hydrolysate in culture of 5 and 10 mg/ml, which suggests the possibility of using enzymatic hydrolysate for the prevention of tumor diseases. As a result of the experiment, it has been proved that the administration of enzymatic hydrolysate to mice increased the LD50 index and the survival rate of mice infected with the culture of the causative agent of salmonellosis by 1.5 times. Based on the conducted studies, it has been shown that the enzymatic hydrolysate of the lymphoid tissue of broiler chickens does not violate the viability of mammalian cells and does not exhibit cytotoxic properties on the metabolism of healthy mammalian cells, which indicates its safety. In an experiment on mice, the effect of enzymatic hydrolysate of the fabricium bag of broiler chickens on the activation of nonspecific immunity against salmonella infection has been revealed.

For citation

Kolberg, N. A. et al. 2021. Evaluation of the effect of enzymatic hydrolyzate of the bursa of broiler chickens on cytotoxic activity and nonspecific immunity. *Vestnik of MSTU*, 24(3), pp. 259–266. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2021-24-3-259-266>.

Введение

Потребление продуктов специализированного назначения, в том числе биологически активных добавок (БАД), является как важным фактором поддержания нормальной жизнедеятельности здорового организма и предотвращения развития хронических заболеваний, так и составным элементом комплексной терапии различных патологических состояний, включая онкологические и вызванные бактериальной этиологией (Спасов и др., 2002). Для производства пищевых продуктов специализированного и функционального назначения используют экстракты и гидролизаты растительных и животных тканей. Перед оценкой функциональной направленности новых продуктов питания проводят исследования по определению токсичности. Современные методы оценки токсичности предполагают не только доклинические исследования, но и предварительную оценку токсичности на культурах клеток.

Так, авторами (Abdel-Aty et al., 2019) проведено исследование цитотоксической активности латексных экстрактов растений: *Ficus carica* (FCE), *Ficus sycomorus* (FSE) и *Euphorbia tirucalli* (ETE). Доказано, что латексные экстракты ETE, FCE и FSE оказали мощное цитотоксическое действие совместно с доксорубицином – распространенным противоопухолевым препаратом – против острых миелоидных лейкозов HL-60, линий раковых клеток молочной железы MCF-7 и печени HepG2 соответственно. Кроме того, все тестируемые экстракты не оказывали токсического воздействия на нормальные меланоциты человеческой клеточной линии HFB4 в концентрациях до 100 мкг/мл. Авторами (Abdel-Aty et al., 2019) рекомендовано использование БАД из латексных экстрактов FCE, FSE и ETE в качестве комплексной терапии при лечении онкологических заболеваний.

В исследованиях (Kumar et al., 2019) изучалась противоопухолевая эффективность БАД из трех тритерпеноидов, полученных из этилацетатного экстракта *Cassia fistula* L., против линии клеток рака толстой кишки человека (HT-29). Тритерпеноиды оказались нетоксичными для нормальных клеток VERO, но цитотоксичными для раковых клеток. Анализ RT-ПЦР показал, что тритерпеноиды продуцировали повышенную регуляцию экспрессии p53 и пониженную экспрессию ERK2. Скорость инвазии и метастазирования значительно снижалась при их воздействии. Кроме того, антиоксидантная активность проявлялась в разрушении раковых клеток. Результаты исследований показали стабильное взаимодействие между тритерпеноидами и мишенями рака (p53 и ERK2). Полученные данные свидетельствуют о том, что тритерпеноиды проявляют высокий антипролиферативный эффект в клетках HT-29 и имеют перспективы использования в качестве альтернативной терапии онкологических заболеваний.

В работе (Dacoreggio et al., 2019) доказана антимикробная активность экстрактов с использованием ультразвука и ферментов из листьев псидиума (*Psidium cattleianum* Sabine) в отношении грамположительных и грамотрицательных видов бактерий. Установлено, что все исследуемые экстракты проявляют значительную аллелопатическую активность с ингибированием роста более 50 %. Антимикробная активность может быть классифицирована как частично активная к очень активной, где лучшие результаты установлены против *L. monocytogenes*. Доказано, что экстракты *P. cattleianum* являются источником биологически активных соединений, обладающих антиоксидантной, аллелопатической и антибактериальной активностью.

Авторами (Mancabelli et al., 2021) с помощью методов биотехнологии изучен антибактериальный потенциал экстрактов метанольного экстракта корня *H. indicus* (HI), который оценивали против нозокомиальных бактериальных патогенов, таких как метициллинрезистентный и чувствительный *S. aureus* и *S. pyogenes*. Установлено, что минимальная ингибирующая концентрация экстракта HI составляет 300 и 150 мкг/мл для *S. Aureus* и *S. pyogenes* соответственно. Дальнейшие результаты микроскопических анализов и *in vitro* биотесты подтвердили ингибирующий потенциал экстрактов из HI. Экстракт корня HI может быть использован в качестве подходящей альтернативы для лечения бактериальных инфекций.

В результате исследований (Kannappan et al., 2019) разработан БАД из растительного экстракта *K. aegyptiaca*. Полученная БАД была исследована методами биотехнологии против двух линий опухолевых клеток человека: молочной железы (MCF-7) и толстой кишки (HCT-116). Установлен высокий процент цитотоксичности БАД при концентрации 100 мкг/мл с 91,1 и 37,9 против MCF-7 и HCT-116 соответственно.

В работе (Farid et al., 2019) выделен *Streptomyces sp.* из морской водоросли *Sargassum myriocystum*. Из полученной культуры *Streptomyces sp.* выделено действующее вещество Vs биосурфактант (Бс) липидной природы. Доказана высокая антимикробная активность Vs биосурфактанта в дозе 200 мкг в отношении патогенных бактерий и грибов.

В исследованиях (Javee et al., 2020) были синтезированы наночастицы оксида цинка (ZnO NPs) с использованием экстракта листьев *Melia azedarach* и нитратом цинка в качестве иницирующего материала. Доказано, что биосинтезированные ZnO NPs обладают высокой антибактериальной активностью.

Авторами (Dhandapani et al., 2020) разработан БАД из гриба *Aspergillus oryzae* и доказана ее активность *in vitro* в отношении выбранной клеточной линии (линия клеток рака легких человека – NCI-H460).

В исследованиях (Suresh et al., 2020) синтезированы наночастицы – ферментные биоконъюгаты α -амилазы и AgNPs с использованием *Bacillus horikoshii* и исследовано их бактерицидное действие против

мультирезистентных биопленок штаммов *Kl. pneumoniae* и метициллинрезистентного *S. aureus* с использованием различных концентраций (25, 50, 100, 200, 400, 800 мкг/мл). Образцы ферментных биоконъюгатов показали значительную антибактериальную активность вплоть до самой низкой используемой концентрации и продемонстрировали значительное ингибирование образования биопленки и диспергирование предварительно сформированных биопленок дозозависимым образом.

БАД, полученная ферментативным гидролизом мышечного белка *O. woodmasoni* с использованием термолитина и пепсина с последующей ультрафильтрацией на мембранной установке, очисткой с помощью гель-фильтрационной хроматографии (GFC) и быстрой белковой жидкостной хроматографии (FPLC), состоит из 5 аминокислотных последовательностей (Asn-Gly-Val-Ala-Ala) с молекулярной массой 431 Да через LC-MS/MS TH1-A1. Исследованиями доказано, что БАД – пептид – токсичен для клеток MCF-7, имеет высокую антиоксидантную активность при pH от 2 до 10. Пептид может быть лучшей альтернативой нутрицевтической и функциональной пище после дополнительных исследований (Abeleda et al., 2020).

БАД на основе катионного изопептида ϵ -поли-L-лизин (ϵ -PL) проявляет антимикробную активность против широкого спектра бактерий, дрожжей и грибов, нацеливаясь на клеточную мембрану, и является термостабильным и активным в различных пищевых матрицах (Joshi et al., 2020; Xu et al., 2016).

Нами разработана технология производства ферментативного гидролизата из фабрициевой сумки (ФС) цыплят-бройлеров. ФС – это орган иммунной системы птицы, где формируются и созревают В-лимфоциты, функцией которых является выработка антител, также они продуцируют интерлейкин, который активирует НК-клетки. Соответственно, можно предположить, что полученная БАД обладает иммуномодулирующим действием.

Целью работы является оценка влияния ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на цитотоксичность и неспецифический иммунитет мышей на фоне экспериментальной сальмонеллезной инфекции.

Материалы и методы

Для оценки возможного цитотоксического влияния ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на метаболизм клеток млекопитающих использовали перевиваемые культуры клеток человека и мыши (табл. 1), полученные из коллекции клеточных культур Института цитологии Российской академии наук. Перед использованием в экспериментах культуры клеток были тестированы на жизнеспособность и функциональную активность согласно соответствующим стандартам.

При изучении общей токсичности использовали биотехнологические методы в виде различных биотестов оценки общей жизнеспособности клеточного монослоя. Нарушение любой из жизненно важных клеточных функций неминуемо влечет за собой через определенное время снижение жизнеспособности и гибель клетки, поэтому все эти биотесты в своей основе используют регистрацию либо количества погибших, либо количество живых клеток в испытуемой культуре.

Таблица 1. Перечень использованных в исследованиях клеточных линий и первичных культур клеток экспериментальных животных

Table 1. List of cell lines and primary cell cultures used in experimental animal studies

Название клеточной линии	Дифференцировочные признаки
Мышиные фибробласты L929	Фибробласты мыши, адгезивная культура с образованием монослоя
Макрофагоподобная мышьяная клеточная линия J774.1A	Макрофаги мыши, адгезивная культура с образованием монослоя
Человеческая линия эпителиальных клеток матки HeLaS3	Клетки эпителия человека, адгезивная культура с образованием монослоя
Человеческая линия эпителиальных клеток карциномы кишечника HCT116	Клетки эпителия человека, суспензионная культура
Человеческая эритромиелобластоидная линия K562	Эритромиелобластные клетки крови человека, суспензионная культура
Опухолевые клетки линии MCF-7	Клеточная культура аденокарциномы молочной железы

Изменения метаболического состояния клеток оценивали биотехнологическим методом, сущность которого заключается в оценке снижения суммарной активности митохондриальных дегидрогеназ в микротетразолиевом тесте (МТТ), который является одним из наиболее общепринятых биотехнологических методов оценки цитотоксичности и основан на способности дегидрогеназ митохондрий восстанавливать

желтую растворимую соль МТТ (3-(4,5-диметитиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид) до синего нерастворимого формазана, который накапливается в цитоплазме клеток. Реакция происходит только в живых клетках с активными митохондриальными ферментами. Таким образом, количество окрашенных клеток и степень фиолетово-синего окрашивания их цитоплазмы коррелирует с общей жизнеспособностью клеточного монослоя.

Ферментативный гидролизат в различных концентрациях добавляли к кондиционированным клеткам и инкубировали в течение 48 часов. После окончания периода инкубации с тестируемым препаратом в лунки добавляли раствор МТТ до конечной концентрации 500 мкг/мл и инкубировали еще 4 часа в стандартных условиях. Затем аккуратно убирали питательную среду и растворяли клеточный монослой в 10%-м растворе додецилсульфата натрия в 0,01 М соляной кислоте. После полного растворения клеток измеряли оптическую плотность растворов при длине волны 595 на многоканальном спектрофотометре ("Пикон", Россия). Оптическая плотность раствора в контрольных лунках, содержащих клетки без добавления ферментативного гидролизата, принималась за 100 %. Процент жизнеспособных клеток в лунках с ферментативным гидролизатом рассчитывался как отношение их оптической плотности к оптической плотности контрольных лунок без ферментативного гидролизата, умноженной на 100. В каждом отдельном эксперименте все пробы готовили в триплетах. По изменению оптической плотности в лунках с клетками, содержащих ферментативный гидролизат, делали вывод о цитотоксической активности БАД.

Исследуемый ферментативный гидролизат добавляли к клеткам-мишеням в концентрации от 10 мг/мл до 0,02 мг/мл. Разведение исходного образца ферментативного гидролизата готовили на питательной среде для культивирования клеток. Период инкубации препарата с клетками составлял 48 часов. По истечении этого периода производили оценку жизнеспособности клеток, подвергавшихся действию препарата.

Для эксперимента по определению влияния ферментативного гидролизата на неспецифическую резистентность к инфекциям сформировали три равные экспериментальные группы белых беспородных мышей (самцы/самки, 20 ± 2 г). Всем лабораторным животным скармливали ежедневно в течение семи суток ферментативный гидролизат в дозе 750 мг/кг (терапевтическая доза), 150 мг/кг (0,2 терапевтической дозы) и 3 750 мг/кг (пять терапевтических доз). Одновременно контрольная группа животных получала внутрижелудочно воду в том же объеме. Через 24 часа после последнего приема ферментативного гидролизата животных внутрибрюшинно заражали различными дозами (5, 50, 500, 5000 КОЕ) суточной агаровой культуры *Salmonella enteritidis* 92. В те же сроки культуру вводили контрольным (интактным) мышам. Каждая экспериментальная и контрольная группа животных состояла из 6 мышей обоего пола. Наблюдение за животными длилось в течение 21 суток после заражения.

Защитное действие испытуемого ферментативного гидролизата определяли двумя биологическими способами: по выживаемости мышей из различных экспериментальных групп и показателю ЛД₅₀. Кроме того, определяли эффективную терапевтическую дозу, отмечая выживаемость мышей, получавших различные дозы ферментативного гидролизата и инфицированных 700 ЛД₅₀ штамма *S. enteritidis* 92. Средняя летальная доза (ЛД₅₀) данного штамма для мышей – 7 микробных клеток (м.к.) при внутрибрюшинном заражении. У всех павших мышей проводился бактериологический анализ селезенки на наличие специфического возбудителя.

Результаты и обсуждение

Разработана технология производства ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, состоящая из промывки проточной водой сырья, куттерования, гомогенизации, ферментирования, ультрафильтрации и упаковки.

Для производства ферментативного гидролизата отбирают фабрициевую сумку после убоя цыплят-бройлеров в возрасте 35 дней. Затем сырье помещают в емкость и промывают проточной водой в течение 10 минут при температуре воды 16–18 °С.

Следующим этапом производства является куттерование сырья в течение 3 минут при частоте вращения ножей 2400 об/мин с последующей гомогенизацией. Сырье загружают в емкость гомогенизатора, оборудованного рубашкой, наполненной дистиллированной водой и имеющей встроенный нагревательный элемент, гомогенизируют при скорости вращения насадки L5M компании "Сильверсон" (МВ) 6 000 об/мин при температуре 4 °С.

Указанную температуру задавали с помощью насоса и компрессора холодильной установки, имеющихся в гомогенизаторе. Затем полученную массу нагревали до температуры оптимума активности фермента папаина (40°) и вносили фермент (Papain, КФ 3.4.22.2), растворенный в фосфатно-буферном растворе с рН 6,0 из расчета 0,15 % к основному сырью (фабрициева сумка), выдерживали в течение 8 часов. Затем ферментированное сырье пропускали через ультрафильтрационную лабораторную установку с размером пор 10 кДа. Ультрафильтрацию сырья проводили при следующих технологических параметрах: $u \geq 1,5$ м/с; $P = 0,3$ МПа; $t = 20 \pm 5$ °С.

В табл. 2 представлены сводные данные трех экспериментов о жизнеспособности всех используемых клеточных линий после их обработки ферментативным гидролизатом фабрициевой сумки цыплят-бройлеров.

Таблица 2. Процент жизнеспособных клеток после 48-часовой инкубации с ферментативным гидролизатом в различных концентрациях
 Table 2. Percentage of viable cells after 48-hour incubation with enzymatic hydrolysate in various concentrations

Линия клеток	Концентрация ферментативного гидролизата, мг/мл									
	0,02	0,04	0,08	0,16	0,31	0,63	1,25	2,5	5,0	10,0
L929	99,3 ± 8,1	105,9 ± 1,9	99,2 ± 4,1	106,3 ± 9,7	102,8 ± 4,8	106,3 ± 11,3	106,8 ± 5,2	109,1 ± 5,9	110,2 ± 11,6	99,7 ± 4,4
J774.1A	111,2 ± 8,8	106,9 ± 2,7	103,0 ± 3,6	108,6 ± 12,4	108,1 ± 13,2	108,9 ± 7,6	107,5 ± 12,6	112,7 ± 12,3	98,1 ± 13,7	103,0 ± 16,5
HeLa S3	104,2 ± 4,4	103,4 ± 8,6	100,0 ± 11,2	100,7 ± 11,7	97,1 ± 13,0	92,6 ± 11,3	97,7 ± 11,5	96,4 ± 4,9	104,3 ± 6,0	104,4 ± 7,2
K562	99,8 ± 8,3	103,7 ± 2,3	101,8 ± 1,3	106,3 ± 4,7	107,0 ± 7,5	104,7 ± 2,0	104,9 ± 3,8	104,3 ± 1,7	105,1 ± 6,6	103,3 ± 2,7
HCT116	112,8 ± 7,1	108,6 ± 8,4	104,1 ± 10,1	114,0 ± 5,8	101,9 ± 10,3	100,6 ± 4,1	109,8 ± 8,0	106,2 ± 5,0	107,8 ± 4,0	105,5 ± 4,1
MCF-7	100,8 ± 2,1	100,1 ± 3,7	100,1 ± 5,2	100,0 ± 4,3	99,8 ± 5,1	99,7 ± 6,8	100,2 ± 7,2	92,3 ± 2,4	81,5 ± 3,7	76,2 ± 3,5

В ходе исследования установлено отсутствие метаболического ответа, цитотоксических свойств и нарушение жизнеспособности клеток в культурах L929, J774.1A, HeLa S3, K562 и НСТ116 на фоне воздействия различных концентраций БАД от 0,02 до 10 мг/мл. Следует отметить, что наблюдается выраженный цитотоксический эффект на опухолевые клетки линии MCF-7 концентрации БАД в культуре 5 и 10 мг/мл, что свидетельствует о возможности использования ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров для профилактики опухолевых заболеваний.

В результате эксперимента выявлено, что ферментативный гидролизат не оказывал заметного защитного действия при заражении мышей культурой возбудителя сальмонеллеза в дозе 500 м.к. (70 ЛД₅₀). Все животные из экспериментальной и контрольной группы погибали на 2–9 сутки. В связи с этим эффективную терапевтическую дозу ферментативного гидролизата установить не удалось. От всех павших мышей высевалась культура возбудителя, что подтверждало специфичность экспериментальной инфекции.

Средняя смертельная доза *S. enteritidis* 92 для мышей, получавших ферментативный гидролизат в дозе 150, 750 и 3 750 мг/кг, составила 11, 11 и 7 КОЕ соответственно. Данный показатель в контрольной группе мышей – 7 КОЕ. Полученные результаты демонстрируют положительное влияние ферментативного гидролизата на устойчивость животных к сальмонеллезной инфекции: использование ферментативного гидролизата в дозах 150 и 350 мг/кг повышало показатель ЛД₅₀ в 1,5 раза по сравнению с контролем. Данные о выживаемости мышей, инфицированных культурой сальмонеллеза, представлены в табл. 3.

Таблица 3. Влияние ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на выживаемость мышей после внутрибрюшинного заражения культурой *S. enteritidis* 92

Table 3. Effect of enzymatic hydrolysate of the fabricium bag of broiler chickens on the survival of mice after intraperitoneal infection with *S. enteritidis* 92

Доза <i>S. enteritidis</i> , КОЕ	Количество выживших мышей и ССГ* (сутки)			
	150 мг/кг	750 мг/кг	3 750 мг/кг	–
5	4/6 (3,5)	5/6 (3,5)	4/6 (3,5)	2/6 (3,5)
50	0/6 (3,5)	0/6 (3,5)	0/6 (3,5)	2/6 (3,5)
500	0/6 (3,5)	0/6 (3,5)	0/6 (3,5)	0/6 (3,5)
5 000 (700 ЛД ₅₀)	1/6 (3,5)	0/6 (3,5)	0/6 (3,5)	0/6 (3,5)
Показатель ЛД ₅₀	11 м.к.	11 м.к.	7 м.к.	7 м.к.
ССГ, сутки	7,5	7,4	6,2	7,4

Примечание. * – средний срок гибели животных.

Заключение

На основании проведенных исследований получен ферментативный гидролизат фабрициевой сумки цыплят-бройлеров. С использованием биотехнологических методов оценки цитотоксичности и неспецифического иммунитета доказано, что ферментативный гидролизат лимфоидной ткани цыплят-бройлеров не нарушает жизнеспособность клеток млекопитающих и не проявляет цитотоксических свойств на метаболизм здоровых клеток, что свидетельствует о его безопасности. Доказан выраженный цитотоксический эффект ферментативного гидролизата на опухолевые клетки линии MCF-7. В эксперименте на мышах было выявлено влияние ферментативного гидролизата фабрициевой сумки цыплят-бройлеров на активизацию неспецифического иммунитета в отношении сальмонеллезной инфекции, что выражалось в повышении в 1,5 раза показателя ЛД₅₀ и увеличении выживаемости мышей, получавших гидролизат в количестве 3 750 мг/кг, в сравнении с контрольными животными.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Библиографический список

- Спасов А. А., Иёжица И. Н., Гурова Н. А., Ивахненко И. В. Биологически активные пищевые добавки в гастроэнтерологии: современное состояние проблемы // Новые лекарства и новости фармакотерапии. 2002. № 1. С. 27–40.
- Abdel-Aty A. M., Hamed M. B., Salama W. H., Ali M. M. [et al.]. *Ficus carica*, *Ficus sycomorus* and *Euphorbia tirucalli* latex extracts: Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic properties // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. Vol. 20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101199>.
- Abeleda H. E. P., Javier A. P., Murillo A. Q. M., Baculi R. Q. Alpha-amylase conjugated biogenic silver nanoparticles as innovative strategy against biofilm-forming multidrug resistant bacteria // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2020. Vol. 29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101784>.

- Dacoreggio M. V., Moroni L. S., Kempka A. P. Antioxidant, antimicrobial and allelopathic activities and surface disinfection of the extract of *Psidium cattleianum* Sabine leaves // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101295>.
- Dhandapani K. V., Anbumani D., Gandhi A. D., Annamalai P. [et al.]. Green route for the synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Melia azedarach* leaf extract and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101517>.
- Farid M. M., Marzouk M. M., El-Shabrawy M., Salem M. A. [et al.]. Isoscutellarein 8, 4'-Dimethyl ether glycosides as cytotoxic agents and chemotaxonomic markers in *Kickxia aegyptiaca* // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101431>.
- Javee A., Karuppan R., Subramani N. Bioactive glycolipid biosurfactant from seaweed *Sargassum myriocystum* associated bacteria *Streptomyces sp.* SNJASM6 // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101505>.
- Joshi I., Janagaraj K., Peer M., Noorani K. [et al.]. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme (ACE-I) inhibition and antioxidant peptide from by-catch shrimp (*Oratosquilla woodmasoni*) waste // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101770>.
- Kannappan A., Santhakumari S., Srinivasan R., Pandian S. K. [et al.]. *Hemidesmus indicus*, a traditional medicinal plant, targets the adherence of multidrug-resistant pathogens to form biofilms // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101338>.
- Kumar R. M., Jeyapriyadharshini S., Roy A. A., Ludas A. [et al.]. Triterpenoids from *Cassia fistula* L. regulate p53 & ERK2 genes to induce apoptosis in HT-29 colon cancer cells // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101286>.
- Mancabelli L., Mancino W., Lugli G. A., Argentini C. [et al.]. Amoxicillin-clavulanic acid resistance in the genus bifidobacterium // *Applied and Environmental Microbiology*. 2021. Vol. 87, Iss. 7. DOI: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.03137-20>.
- Suresh G., Kokila D., Suresh T. C., Kumaran S. [et al.]. Mycosynthesis of anticancer drug taxol by *Aspergillus oryzae*, an endophyte of *Tarenna asiatica*, characterization, and its activity against a human lung cancer cell line // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101525>.
- Xu Z., Xu Z., Feng X., Xu D. [et al.]. Recent advances in the biotechnological production of microbial poly(ϵ -lysine) and understanding of its biosynthetic mechanism // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016. Vol. 100, Iss. 15. P. 6619–6630. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7677-3>.

References

- Spasov, A. A., Iyozhitca, I. N., Gurova, N. A., Ivakhnenko, I. V. 2002. Biologically active food additives in gastroenterology: Current state of the problem. *Novye lekarstva i novosti farmakoterapii*, 1, pp. 27–40. (In Russ.)
- Abdel-Aty, A. M., Hamed, M. B., Salama, W. H., Ali, M. M. et al. 2019. *Ficus carica*, *Ficus sycomorus* and *Euphorbia tirucalli* latex extracts: Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101199>.
- Abeleda, H. E. P., Javier, A. P., Murillo, A. Q. M., Baculi, R. Q. 2020. Alpha-amylase conjugated biogenic silver nanoparticles as innovative strategy against biofilm-forming multidrug resistant bacteria. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101784>.
- Dacoreggio, M. V., Moroni, L. S., Kempka, A. P. 2019. Antioxidant, antimicrobial and allelopathic activities and surface disinfection of the extract of *Psidium cattleianum* Sabine leaves. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101295>.
- Dhandapani, K. V., Anbumani, D., Gandhi, A. D., Annamalai, P. et al. 2020. Green route for the synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Melia azedarach* leaf extract and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101517>.
- Farid, M. M., Marzouk, M. M., El-Shabrawy, M., Salem, M. A. et al. 2019. Isoscutellarein 8, 4'-Dimethyl ether glycosides as cytotoxic agents and chemotaxonomic markers in *Kickxia aegyptiaca*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101431>.
- Javee, A., Karuppan, R., Subramani, N. 2020. Bioactive glycolipid biosurfactant from seaweed *Sargassum myriocystum* associated bacteria *Streptomyces sp.* SNJASM6. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101505>.
- Joshi, I., Janagaraj, K., Peer, M., Noorani, K. et al. 2020. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme (ACE-I) inhibition and antioxidant peptide from by-catch shrimp (*Oratosquilla woodmasoni*) waste. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101770>.
- Kannappan, A., Santhakumari, S., Srinivasan, R., Pandian, S. K. et al. 2019. *Hemidesmus indicus*, a traditional medicinal plant, targets the adherence of multidrug-resistant pathogens to form biofilms. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101338>.

- Kumar, R. M., Jeyapriyadharshini, S., Roy, A. A., Ludas, A. et al. 2019. Triterpenoids from *Cassia fistula* L. regulate p53 & ERK2 genes to induce apoptosis in HT-29 colon cancer cells. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101286>.
- Mancabelli, L., Mancino, W., Lugli, G. A., Argentini, C. et al. 2021. Amoxicillin-clavulanic acid resistance in the genus *Bifidobacterium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(7). DOI: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.03137-20>.
- Suresh, G., Kokila, D., Suresh, T. C., Kumaran, S. et al. 2020. Mycosynthesis of anticancer drug taxol by *Aspergillus oryzae*, an endophyte of *Tarenna asiatica*, characterization, and its activity against a human lung cancer cell line. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101525>.
- Xu, Z., Xu, Z., Feng, X., Xu, D. et al. 2016. Recent advances in the biotechnological production of microbial poly(ϵ -l-lysine) and understanding of its biosynthetic mechanism. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(15), pp. 6619–6630. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7677-3>.

Сведения об авторах

Кольберг Наталья Александровна – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, канд. ветеринар. наук, доцент; e-mail: kolberg_na@usue.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6548-5104>

Natalia A. Kolberg – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Cand. Sci. (Veterinary), Associate Professor; e-mail: kolberg_na@usue.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6548-5104>

Тихонов Сергей Леонидович – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, д-р техн. наук, профессор; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Sergey L. Tikhonov – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Dr Sci. (Engineering), Professor; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Тихонова Наталья Валерьевна – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, д-р техн. наук, профессор; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

Natalya V. Tikhonova – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Dr Sci. (Engineering), Professor; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

Леонтьева Светлана Александровна – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, инженер; e-mail: sv-leo@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0832-4547>

Svetlana A. Leontyeva – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Engineer; e-mail: sv-leo@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0832-4547>

Шихалев Сергей Валерьевич – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, д-р техн. наук, доцент; e-mail: sershih@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9236-7154>

Sergey V. Shikhalev – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Dr Sci. (Engineering), Associate Professor; e-mail: sershih@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9236-7154>

Кирпикова Ксения Евгеньевна – ул. Профессора Попова, 14, лит. А 197376, г. Санкт-Петербург, Россия, 197376; Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет, ассистент кафедры; e-mail: ksenija.kirpikova@pharminnotech.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3230-6413>

Ksenia E. Kirpikova – 14 lit. A 197376, Professor Popov Str., St. Petersburg, Russia, 197376; St. Petersburg Chemical-Pharmaceutical University, Assistant; e-mail: ksenija.kirpikova@pharminnotech.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3230-6413>