



Вплив довготривалого введення штаму *Enterococcus sp.* SB12 на показники оксидативного стресу мишей

В. С. Мушинська^{1*}, В. Я. Сирватка^{2,1}, О. В. Штапенко^{3,4}

*arillenmeril@gmail.com

¹Інститут біології тварин НААН України, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

²Львівський національний університет імені Івана Франка, кафедра генетики та біотехнології, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

³Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

⁴Львівський державний університет безпеки життєдіяльності, вул. Клепарівська, 35, м. Львів, 79007, Україна

ORCID:

V. S. Mushynska <https://orcid.org/0000-0001-7921-106X>

V. Y. Syrvatka <https://orcid.org/0000-0003-1326-6206>

O. V. Shtapenko <https://orcid.org/0000-0002-1192-8432>

Authors' Contributions:

MVS: Investigation; Data curation; Formal analysis; Validation; Writing — original draft.

SVY: Conceptualization; Methodology; Supervision; Resources; Writing — review & editing.

OVS: Conceptualization; Methodology; Supervision; Resources; Writing — review & editing.

Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

Ethical approval:

The experimental part of the work was carried out in accordance with the principles of bioethics (protocol of the Bioethics Commission of the Institute of Animal Biology NAAS no. 132 from December 2, 2024).

The conditions of animal husbandry and all manipulations complied with the requirements of the Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruel Treatment" and the provisions of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council from September 22, 2010, on the protection of animals used for scientific purposes.

Acknowledgements:

The research was carried out within the framework of the research projects: "To study the probiotic potential of a new bacterial strain *Enterococcus faecium* SB12 to increase the adaptive capacity of animals to the influence of climatic factors" (state registration number 0124U001989) and 27.00.02.01F "Molecular and genetic foundations of the use of antimicrobial biotechnological platforms as an alternative to antibiotics in animal husbandry".



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

У роботі проаналізовано вплив пробіотичного штаму *Enterococcus sp.* SB12 на систему антиоксидантного захисту організму мишей. Актуальність дослідження зумовлена необхідністю пошуку нових штамів, здатних модулювати редокс-статус без виснаження внутрішніх ресурсів господаря. Експеримент проведено на білих лабораторних мишах, яким упродовж 28 днів перорально вводили суспензію досліджуваного штаму. Стан оксидантно-антиоксидантної рівноваги оцінювали за інтенсивністю пероксидного окиснення ліпідів (вміст гідроперексидів і ТБК-активних продуктів), рівнем окисної модифікації білків та активністю каталази. Встановлено, що тривале застосування *Enterococcus sp.* SB12 не спричиняє достовірних змін вмісту продуктів ліпопероксидації та карбонільних груп білків, що вказує на відсутність прооксидантного впливу на клітинні структури. Активність каталази зберігалася на рівні значень контрольної групи, що свідчить про стабільний стан ферментативної ланки захисту та відсутність метаболічного стресу. Констатовано, що *Enterococcus sp.* SB12 не порушує вільнорадикальний баланс і характеризується високою метаболічною безпекою, що робить його перспективним для використання у складі пробіотичних препаратів.

Ключові слова: *Enterococcus sp.*, пробіотичні штами, оксидативний стрес, каталаза, ТБК-активні продукти, гідроперекиси ліпідів, окисна модифікація білків, миші, пероральне введення

Вступ

Використання пробіотиків набуває дедалі більшої популярності в сучасній фармакології та тваринництві, зокрема як альтернативи антибіотикам. Застосування пробіотичних штамів, виділених із природних джерел, зокрема з молочнокислих продуктів, розглядають як перспективну стратегію в профілактиці й подоланні захворювань кишково-

шлункового тракту та зниженні поширення антибіотикорезистентних мікроорганізмів [15].

Штами роду *Enterococcus* є складовою природної мікробіоти кишківника вищих наземних тварин і людини та характеризуються здатністю до синтезу бактеріоцинів — природних сполук з антимікробною дією [1]. Ця особливість зумовлює можливість використання певних штамів *Enterococcus faecium* у складі пробіотичних препаратів у тваринництві [5].

Проте через здатність ентерококів спричиняти но-зокоміальні інфекції, а також бути носіями детермінант вірулентності й патогенності, постає потреба в ретельному дослідженні та перевірці на безпечність потенційних штамів-кандидатів [11].

Розвиток уявлень про функціональні властивості пробіотиків змістив акцент з простого пригнічення патогенів на системну модуляцію метаболізму господаря. Одним з ключових механізмів позитивного впливу пробіотиків є їхня здатність модулювати окисно-відновний гомеостаз [4]. Вільнорадикальні процеси є невід'ємною частиною клітинного метаболізму, проте надмірне накопичення активних форм кисню (АФК) призводить до розвитку оксидативного стресу, пошкодження біомембран і денатурації білків. Пробиотичні мікроорганізми здатні нівелювати дію агресивних радикалів шляхом продукування власних антиоксидантних ферментів або синтезу низькомолекулярних захисних сполук.

Важливим аспектом оцінювання впливу нового штаму є дослідження інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Накопичення продуктів ПОЛ, зокрема гідроперекисів ліпідів і ТБК-активних сполук, призводить до порушення проникності та функціональної цілісності клітинних мембран. Встановлення стабільності цих показників при введенні пробіотика дозволяє стверджувати, що немає цитотоксичної дії та що мікроорганізм здатний підтримувати структурний гомеостаз клітин макроорганізму [12]. Паралельно з ліпідами, значної деструкції під дією оксидантів зазнають протеїни. Окисна модифікація білків (ОМБ) є раннім і чутливим маркером ушкодження тканин, що часто передує клінічним проявам інтоксикації. Моніторинг рівня карбонільних груп білків дає змогу оцінити «метаболічний комфорт» тварин за умов тривалого перорального навантаження пробіотиком для підтвердження його безпечності як кормової добавки чи фармакологічного засобу [5].

Ефективність антиоксидантного захисту значною мірою залежить від активності ферментативної ланки, де провідну роль відіграє каталаза. Цей фермент забезпечує швидку деградацію пероксиду водню, запобігаючи утворенню найбільш агресивного гідроксильного радикала. Вивчення активності каталази в поєднанні з моніторингом продуктів пероксидації дозволяє сформувати цілісну картину адаптаційної відповіді організму на колонізацію кишківника новим мікроорганізмом [4].

Оскільки стабільність оксидантно-антиоксидантної рівноваги є фундаментальним маркером біологічної інертності й відсутності токсичного впливу бактеріального агента, оцінка редокс-статусу є обов'язковим етапом валідації нових штамів-кандидатів [11]. Саме комплексний аналіз інтенсивності вільнорадикальних процесів *in vivo* дозволяє об'єктивно підтвердити безпечність застосування ізоляту для макроорганізму.

У наших попередніх дослідженнях методами біоінформатичного та мікробіологічного аналізу було охарактеризовано пробіотичний потенціал, а також оцінено потенційну безпечність штаму *Enterococcus* sp. SB12, виділеного з овечої карпатської бринзи. Штам продемонстрував відсутність ключових факторів патогенності, а також характеризувався наявністю кластерів генів синтезу бактеріоцинів, що дозволяє розглядати його як потенційно безпечний для експериментального використання [13].

З огляду на це мета поточного дослідження полягала в комплексному оціненні безпеки та фізіологічного впливу потенційного пробіотичного штаму *Enterococcus* sp. SB12 в умовах *in vivo*. Дослідження спрямоване на верифікацію пробіотичного профілю штаму через аналіз біохімічних показників та оцінювання його впливу на стан антиоксидантної системи організму на моделі лабораторних мишей, що дозволить обґрунтувати доцільність його подальшого промислового застосування як безпечної пробіотичної культури.

Матеріали та методи

Експериментальну частину роботи виконано з дотриманням принципів біоетики (протокол Комісії з питань біоетики ІБТ НААН № 132 від 02.12.2024 року). Умови утримання тварин і всі маніпуляції відповідали вимогам Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» й положенням Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту та Ради від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, що використовуються для наукових цілей.

У роботі використано білих безпородних нелінійних мишей-самок двомісячного віку. На підготовчому етапі перед проведенням експерименту тварини проходили тижневу акліматизацію в умовах віварію для стабілізації фізіологічних показників.

Мишей утримували в умовах контрольованого мікроклімату за сталої температури (22–24 °С), відносної вологості повітря (50–65 %) і регульованого світлового режиму (12 год світло / 12 год темрява).

Для проведення досліджень тварин було розподілено методом рандомізації на дві групи по 10 тварин у кожній. Миші контрольної групи отримували стандартний лабораторний раціон і чисту питну воду без добавок. Тварини дослідної групи додатково до основного раціону щоденно отримували суспензію пробіотичного штаму *Enterococcus* sp. SB12 у дозі 1×10^8 КУО/г маси тіла. Введення штаму здійснювали методом вільного випоювання *ex tempore* з питною водою, що є найбільш фізіологічно наближеним до природного перорального надходження мікроорганізмів і реальних умов застосування пробіотиків. Для верифікації фактично отриманої дози пробіотика та контролю фізіологічного стану тварин в обох групах здійснювали щоденний моніторинг об'єму спожитої води.

На 29-ту добу експерименту тварин виводили з досліджу шляхом цервікальної дислокації шийних хребців з дотриманням принципів гуманного поводження з лабораторними тваринами. Для біохімічних досліджень відібрано зразки крові, а також тканин внутрішніх органів (печінки, нирок і кишківника). Отримані зразки гомогенізували в 1М Tris-HCl буфері (рН 7,4) на льоді, заморожували й зберігали за температури -20°C . Вміст загального білка визначали фотометричним методом з використанням комерційного набору реагентів «Total Protein» (*Filisit*, Україна) згідно з інструкціями виробника.

Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів проводили за реакцією з тiocіанатом амонію згідно з методиками, описаними в довіднику [18]. Інтенсивність забарвлення визначали колориметрично при довжині хвилі 480 нм.

Інтенсивність ПОЛ у сироватці крові та гомогенатах тканин оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів. Метод базується на здатності малонового діальдегіду (МДА) взаємодіяти з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) в кислому середовищі за високої температури з утворенням забарвленого триметинового комплексу й спектрофотометричній детекції при довжині хвилі 535 нм.

Ступінь ОМБ в сироватці крові та гомогенатах тканин оцінювали за методом, що базується на взаємодії карбонільних груп (альдегідних і кетонних) окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4-ДФГ) [18]. У результаті реакції утворюються 2,4-динітрофенілгідразони, інтенсивність забарвлення яких прямо пропорційна рівню пошкодження білкових молекул. Спектрофотометричну детекцію проводили при трьох довжинах хвиль для диференціації стадій і характеру протеодеструкції при $\lambda = 274$ нм реєстрували рівень ранніх продуктів окиснення (модифікованих амінокислотних залишків); при $\lambda = 370$ нм — альдегідо- й кетонпохідні нейтрального характеру (ОМБ₃₇₀); при $\lambda = 430$ нм — карбонільні похідні основного характеру (ОМБ₄₃₀), що свідчать про глибоку деструкцію білків. Розрахунок результатів проводили за оптичною щільністю зразків і виражали в одиницях ОМБ на 1 мг білка (або г тканини).

Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за здатністю пероксиду водню утворювати стійкий кольоровий комплекс із молібдатом амонію, інтенсивність забарвлення якого вимірювали при довжині хвилі 410 нм.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням програми *Excel* з пакету послуг *Microsoft Office 2010*. Дані мали нормальний розподіл. Результати представлено у вигляді середнього арифметичного значення та стандартної похибки середнього ($M \pm SEM$). Для оцінювання достовірності відмінностей застосовували *t*-критерій Стьюдента. Відмінності між групами вважали статистично достовірними при $P < 0,05$.

Результати

Дослідження інтенсивності генерації вільних радикалів дозволяє об'єктивно оцінити фізіологічну прийнятність і відсутність негативного впливу нових мікробних культур на метаболічний гомеостаз. Надмірна продукція АФК спричиняє каскад деструктивних процесів, що включають пошкодження нуклеїнових кислот, пероксидацію мембранних ліпідів та окисну модифікацію білків [17]. Внаслідок незворотних структурних змін ДНК і цитозольних ферментів, АФК докорінно змінюють хімічну природу клітинних компонентів, що призводить до втрати їхньої функціональної активності [19]. Продукти ліпопероксидації, зокрема МДА та гідроксिनоненаль, виявляють високу генотоксичність завдяки здатності формувати ковалентні аддукти й основи Шиффа з аміногрупами білків та основ ДНК. Такі модифікації призводять до виникнення внутрішньо- та міжмолекулярних зшивок, що спричиняє незворотну деградацію протеїнів і мутагенні ураження генетичного апарату клітини [8].

Гідроперекиси ліпідів (ГПЛ) є первинними молекулярними продуктами пероксидації, поява яких свідчить про початкові етапи вільнорадикальної деструкції ліпідного бішару клітинних мембран. Накопичення ГПЛ у біологічних системах вказує на рівновагу між процесами ініціації ланцюгових реакцій окиснення та ефективністю функціонування антиоксидантних ферментів, що нейтралізують ці сполуки до нетоксичних спиртів. Оскільки надмірний рівень ГПЛ може призводити до фрагментації ліпідів і порушення бар'єрної функції мембран, стабільність цього показника є важливим індикатором збереження клітинного гомеостазу за дії екзогенних чинників.

Аналіз динаміки ГПЛ дозволив оцінити первинну реакцію організму на введення пробіотичного штаму й визначити стан ліпідного матриксу в тканинах з різною метаболічною активністю (табл. 1.).

Встановлено, що вміст ГПЛ у тканинах печінки та кишківника тварин дослідної групи мав чітку тенденцію до зниження, порівняно з контрольними значеннями (відповідно 1,346 нмоль/мг проти 1,508 нмоль/мг білка та 0,988 нмоль/мг проти 1,112 нмоль/мг білка). Зменшення концентрації первинних продуктів ПОЛ у паренхімі печінки й епітелії кишківника свідчить про антиоксидантний потенціал штаму *Enterococcus* sp. SB12. Така динаміка вказує на зміцнення локальних систем захисту, які ефективно нівелюють ініціацію вільнорадикальних ланцюгів безпосередньо в зонах первинного контакту й активного метаболізму пробіотика.

Водночас на тлі тканинної стабілізації спостерігалося помірне підвищення рівня ГПЛ у сироватці крові (4,290 нмоль/мг проти 3,532 нмоль/мг у контролі). Зафіксована динаміка може свідчити про адаптивну реакцію організму у відповідь на введення екзогенного біологічного чинника, яка потребує подальшого дослідження. Це зростання не супроводжувалося накопиченням вторинних токсичних продуктів, що під-

тверджує контрольованість процесу та відсутність розвитку системного окисного стресу.

У нашому дослідженні аналіз вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові, а також у гомогенатах печінки і нирок не виявив статистично значущих відмінностей між дослідною та контрольною групами тварин (табл. 2).

У сироватці крові стабільність рівня ТБК-активних продуктів також вказує на відсутність системної прооксидантної відповіді організму на введення штаму *Enterococcus* sp. SB12. У тканинах печінки й нирок, які є основними органами метаболізму та екскреції, відсутність накопичення продуктів ПОЛ підтверджує, що штам не ініціює локальне ураження паренхіматозних клітин.

Вільні радикали й АФК, що генеруються в організмі, окрім пероксидації ліпідів, також ініціюють процеси ОМБ, які супроводжуються утворенням карбонільних сполук — альдегідів і кетонів, накопичення яких є маркером розвитку карбонільного стресу й системної деструкції біомолекул. Такі модифіковані білки набувають антигенних властивостей, провокуючи імунну відповідь, а продукти їхнього розпаду можуть спричинити вторинне пошкодження клітинних структур.

У цій роботі було проведено комплексне оцінювання показників ОМБ, що дозволило диференціювати стадії протеодеструкції та визначити ступінь окисних пошкоджень у тканинах печінки й кишківника (табл. 3).

Отримані дані показали, що введення пробіотичного штаму *Enterococcus* sp. SB12 не призводило до статистично достовірної інтенсифікації процесів окиснення білків, порівняно з контрольною групою ($P > 0,05$). У тканині печінки показники всіх фракцій карбонільних похідних залишалися на рівні значень контрольних тварин. Враховуючи важливу роль печінки у процесах детоксикації та чутливість її протеому до ксеногенного навантаження, стабільність показників ОМБ вказує на збереження структурно-функціональної цілісності гепатоцитів і відсутність негативного впливу штаму SB12.

Враховуючи, що кишківник є зоною безпосереднього контакту при пробіотичній корекції, виявлена нами позитивна тенденція до зниження вмісту кетоніпохідних на 25 % (0,03 нмоль/мг проти 0,04 нмоль/мг білка) може вказувати на локальний цитопротекторний ефект штаму SB12 та його здатність посилювати антиоксидантний ресурс тканин, запобігаючи інтенсивній окисній деградації протеїнів.

Ефективність застосування пробіотика значною мірою визначається здатністю штаму підтримувати або посилювати ферментативну ланку антиоксидантного захисту організму, не викликаючи водночас виснаження його метаболічних ресурсів. Важливим показником стабільності антиоксидантного захисту є активність каталази — ферменту, що забезпечує швидку нейтралізацію пероксидних сполук у тканинах. Моніторинг її активності дозволяє оцінити наявність або відсутність системного напруження метаболічних шляхів у відповідь на введення екзогенного чинника.

Таблиця 1. Вміст ГПЛ у крові й тканинах мишей за введення *Enterococcus* sp. SB12 ($\lambda=480$ нм), нмоль/мг білка ($M \pm SEM$, $n=10$)
Table 1. LHP content in the blood and tissues of mice under the administration of *Enterococcus* sp. SB12 ($\lambda=480$ nm), nmol/mg protein ($M \pm SEM$, $n=10$)

Група / Group	Печінка Liver	Кишківник Intestine	Кров Blood
Контрольна Control	1,508 \pm 0,37	1,112 \pm 0,165	3,532 \pm 0,715
Дослідна (SB12) / Experimental (SB12)	1,346 \pm 0,339	0,988 \pm 0,243	4,29 \pm 0,967

Таблиця 2. Вміст ТБК-активних продуктів у крові й тканинах мишей за введення *Enterococcus* sp. SB12 ($\lambda=540$ нм), нмоль/мл ($M \pm SEM$; $n=10$)
Table 2. TBA-reactive product content in the blood and tissues of mice under the administration of *Enterococcus* sp. SB12 ($\lambda=540$ nm), nmol/mL ($M \pm SEM$; $n=10$)

Група / Group	Печінка Liver	Кишківник Intestine	Кров Blood
Контрольна Control	36,813 \pm 1,34	5,106 \pm 0,54	6,33 \pm 0,315
Дослідна (SB12) / Experimental (SB12)	39,414 \pm 1,323	4,93 \pm 0,45	6,85 \pm 0,160

Таблиця 3. Показники ОМБ у тканинах мишей за введення *Enterococcus* sp. SB12, нмоль/мг білка ($M \pm SEM$, $n=10$)
Table 3. Parameters of protein carbonyls in the tissues of mice under the administration of *Enterococcus* sp. SB12, nmol/mg protein ($M \pm SEM$, $n=10$)

Група / Group	Печінка Liver	Кишківник Intestine
$\lambda=274$ нм (ранні продукти) / $\lambda=274$ nm (early products)		
Контрольна Control	7016,20 \pm 1340,37	0,09 \pm 0,01
Дослідна (SB12) / Experimental (SB12)	7413,70 \pm 383,36	0,10 \pm 0,02
$\lambda=370$ нм (нейтральні похідні) / $\lambda=370$ nm (neutral derivatives)		
Контрольна Control	11191,69 \pm 747,19	0,08 \pm 0,007
Дослідна (SB12) / Experimental (SB12)	10421,54 \pm 772,74	0,06 \pm 0,007
$\lambda=430$ нм (основні похідні) / $\lambda=430$ nm (basic derivatives)		
Контрольна Control	5252,06 \pm 398,24	0,04 \pm 0,004
Дослідна (SB12) / Experimental (SB12)	5645,61 \pm 468,29	0,03 \pm 0,003

Встановлено, що застосування штаму *Enterococcus* sp. SB12 не спричинило достовірних змін активності досліджуваного ензиму в мишей, порівняно з контролем (рис.).

Виявлена тенденція до незначного зростання цього показника може вказувати на формування стабільного антиоксидантного резерву, проте відсутність статистичної достовірності ($P > 0,05$) дозволяє трактувати ці результати насамперед як збереження редокс-гомеостазу та функціональної цілісності системи детоксикації АФК. Така динаміка, у поєднанні з низьким вмістом продуктів ліпопероксидації й окисної модифікації білків, підтверджує високу біосуміс-

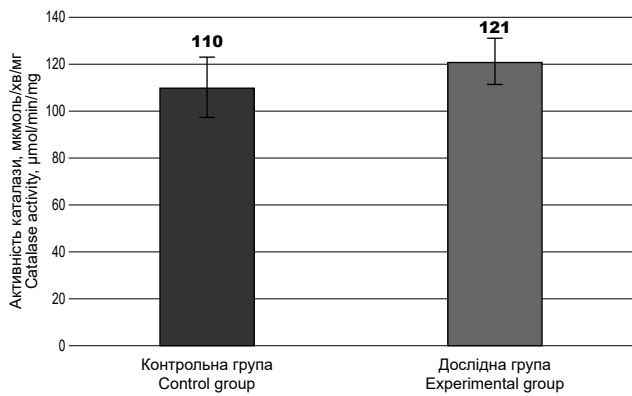


Рис. Активність каталази у крові мишей за введення *Enterococcus sp.* SB12, мкмоль/хв/мг ($M \pm SEM$, $n=10$)
Fig. Activity of catalase in the blood of mice under the administration of *Enterococcus sp.* SB12, $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ($M \pm SEM$, $n=10$)

ність досліджуваного ізоляту і його потенційну безпечність для прооксидантно-антиоксидантної рівноваги організму.

Обговорення

Важливим критерієм безпеки та функціональної цінності нових пробіотичних штамів є їхня взаємодія з оксидантно-антиоксидантною системою організму господаря. Здатність мікроорганізмів протидіяти оксидативному стресу є однією з їхніх фундаментальних переваг, що запобігає клітинним пошкодженням. У нашому дослідженні стабільність рівнів ОМБ, ТБК-активних продуктів і активності каталази в мишей після введення *Enterococcus sp.* SB12 вказує на високу біосумісність штаму та його здатність інтегруватися в екосистему організму без порушення редокс-гомеостазу макроорганізму.

Такий ефект може бути зумовлений власною антиоксидантною дією досліджуваного ізоляту. Згідно з літературними даними, представники роду *Enterococcus* та інші молочнокислі бактерії виробляють численні біоактивні метаболіти, зокрема фенольні сполуки й кислі екзополісахариди, які мають здатність безпосередньо поглинати гідроксильні радикали [7, 20]. Подібні протекторні властивості щодо нівелювання проявів оксидативного пошкодження були описані також для штамів *L. brevis* VJ20 та *L. plantarum* 7FM10 [3]. Отже, зафіксована нами стабільність біохімічних показників вказує на те, що введення *Enterococcus sp.* SB12 не тільки не виснажує внутрішні ресурси організму, а й, імовірно, створює додатковий захисний бар'єр завдяки метаболічній активності самого пробіотику [9, 16].

Особливу увагу під час оцінюванні безпеки штаму приділяють стану ферментативної ланки захисту. Встановлено, що активність каталази в мишей, які отримували *Enterococcus sp.* SB12, зберігалася на рівні значень контрольної групи. Згідно з оглядовими

даними [6], здатність підтримувати метаболічну рівновагу господаря є критичним фактором безпечного застосування ентерококів. Оскільки каталаза відіграє вирішальну роль у детоксикації АФК, її незмінний рівень у нашому експерименті свідчить про відсутність потреби в компенсаторній відповіді організму на окисний стрес, що зазвичай спостерігається при патогенному чи токсичному навантаженні.

У науковій літературі підкреслюють, що пробіотичні ентерококи часто діють як модулятори антиоксидантних систем, підтримуючи активність ферментів першої лінії захисту [14]. Результати нашого дослідження щодо збереження редокс-рівноваги корелюють з даними для низки інших безпечних ентерококів [2], що слугує прямим доказом метаболічної інертності й токсикологічної безпеки штаму SB12.

Таким чином, низька інтенсивність пероксидації ліпідів, відсутність надмірної модифікації білків і стабільна ферментативна активність, вказує на біологічну безпеку досліджуваного штаму. Це дозволяє класифікувати *Enterococcus sp.* SB12 як біосумісний агент, що підтримує функціональний резерв антиоксидантних систем організму та не порушує вільнорадикальний баланс господаря.

З'ясовано вплив нового штаму *Enterococcus sp.* SB12 на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів і протеїнів, а також стан антиоксидантного захисту в мишей за умов його перорального введення упродовж 28 днів.

Встановлено, що при тривалому застосуванні штаму показники вмісту ТБК-активних продуктів, окисної модифікації білків і ферментативної активності каталази залишалися в межах фізіологічної норми. Це свідчить про високу біосумісність досліджуваного ізоляту й відсутність системного навантаження антиоксидантних систем господаря при тривалому надходженні в макроорганізм.

Констатована стабільність редокс-гомеостазу та ключових ланок системи детоксикації свідчить про відсутність негативного впливу цього пробіотичного штаму. Такий ефект підтверджує здатність *Enterococcus sp.* SB12 до інертної інтеграції в обмінні процеси організму без провокування прооксидантного навантаження.

Джерела

- Afrin S, Hoque MA, Sarker AK, Satter MA, Bhuiyan MNI. Characterization and profiling of bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria from cheese samples. *Access Microbiol.* 2021; 3 (6): 000234. DOI: 10.1099/acmi.0.000234.
- Ben Braïek O, Smaoui S. Enterococci: Between emerging pathogens and potential probiotics. *BioMed Res Int.* 2019; 2019: 5938210. DOI: 10.1155/2019/5938210.
- Das D, Goyal A. Antioxidant activity and γ -aminobutyric acid (GABA) producing ability of probiotic *Lactobacillus plantarum* DM5 isolated from Marcha of Sikkim. *LWT Food Sci and Technol.* 2015; 61 (1): 263–268. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.11.013.

4. Divyashri G, Krishna G, Muralidhara, Prapulla SG. Probiotic attributes, antioxidant, anti-inflammatory and neuromodulatory effects of *Enterococcus faecium* CFR 3003: *in vitro* and *in vivo* evidence. *J Med Microbiol.* 2015; 64 (12): 1527–1540. DOI: 10.1099/jmm.0.000184.
5. Essa MOA, Cheng C, Chen L, Chi GY, Abdelhadi LAM, Hassan HA, Yaqoob S, Adam SY, Husien HM, Saleh AA, Cheng D. Effects of *Bacteroides fragilis* and *Enterococcus faecium* administration as probiotic candidates: Impact on growth performance, organ indices, and gut microbiota balance in mice. *Vet Sci.* 2025; 12 (11): 1093. DOI: 10.3390/vetsci12111093.
6. Im EJ, Lee HHY, Kim M, Kim MK. Evaluation of enterococcal probiotic usage and review of potential health benefits, safety, and risk of antibiotic-resistant strain emergence. *Antibiotics.* 2023; 12 (8): 1327. DOI: 10.3390/antibiotics12081327.
7. İncili GK, Karatepe P, Akgöl M, Güngören A, Koluman A, İlhak O, Kanmaz H, Kaya B, Hayaloğlu AA. Characterization of lactic acid bacteria postbiotics, evaluation of *in-vitro* antibacterial effect, microbial and chemical quality on chicken drumsticks. *Food Microbiol.* 2022; 104: 104001. DOI: 10.1016/j.fm.2022.104001.
8. Juan CA, Pérez de la Lastra JM, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: Outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (9): 4642. DOI: 10.3390/ijms22094642.
9. Łepecka A, Szymański P, Okoń A, Zielińska D. Antioxidant activity of environmental lactic acid bacteria strains isolated from organic raw fermented meat products. *LWT.* 2023; 174: 114440. DOI: 10.1016/j.lwt.2023.114440.
10. Li S, Zhao Y, Zhang L, Zhang X, Huang L, Li D, Niu C, Yang Z, Wang Q. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food Chem.* 2012; 135 (3): 1914–1919. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.06.048.
11. Mechoub D, Meguenni N, Titouche Y, Elandoulsi RB, Dhaouadi S. Unveiling the probiotic potential of *Enterococcus* spp.: Mechanisms and roles in animal and human health, A comprehensive review. *World J Microbiol Biotechnol.* 2025; 41 (7): 214. DOI: 10.1007/s11274-025-04389-5.
12. Milkovic L, Cipak Gasparovic A, Cindric M, Mouthuy PA, Zarkovic N. Short overview of ROS as cell function regulators and their implications in therapy concepts. *Cells.* 2019; 8 (8): 793. DOI: 10.3390/cells8080793.
13. Mushynska V, Tistechok S, Roman I, Slyvka I, Tsisaryk O, Gromyko O, Shtapenko O, Syrvatka V. Genome analysis and characterization of *Enterococcus* sp. SB12 Isolated from Carpathian artisanal cheese. *Curr Microbiol.* 2025; 82 (8): 349. DOI: 10.1007/s00284-025-04337-4.
14. Nidamarthi PP, Poongavanam SS, Karlapudi AP. Screening and characterization of *Enterococcus faecium* as a potential probiotic: probiotic parameters and efficacy evaluation. *Biologia.* 2026; 81: 37. DOI: 10.1007/s11756-025-02074-4.
15. Peng M, Tabashsum Z, Anderson M, Truong A, Houser AK, Padilla J, Akmel A, Bhatti J, Rahaman SO, Biswas D. Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020; 19 (4): 1908–1933. DOI: 10.1111/1541-4337.12565.
16. Pristavu MC, Diguță FC, Aldea AC, Badea F, Dragoi Cudalbeanu M, Ortan A, Matei F. Functional Profiling of *Enterococcus* and *Pediococcus* strains: An *in vitro* study on probiotic and postbiotic properties. *Microorganisms.* 2025; 13 (6): 1348. DOI: 10.3390/microorganisms13061348.
17. Sies H, Belousov VV, Chandel NS, Davies MJ, Jones DP, Mann GE, Murphy MP, Yamamoto M, Winterbourn C. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2022; 23: 499–515. DOI: 10.1038/s41580-022-00456-z.
18. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory Research Methods in Biology, Animal Husbandry and Veterinary Medicine.* A handbook. Lviv, Spolom. 2012: 764 p. (in Ukrainian)
19. Yadav DK, Kumar S, Choi EH, Chaudhary S, Kim MH. Molecular dynamic simulations of oxidized skin lipid bilayer and permeability of reactive oxygen species. *Sci Rep.* 2019; 9: 4496. DOI: 10.1038/s41598-019-40913-y.
20. Yamamoto N, Shoji M, Hoshigami H, Watanabe K, Watanabe K, Takatsuzu T, Yasuda S, Igoshi K, Kinoshita H. Antioxidant capacity of soymilk yogurt and exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Biosci Microbiota Food Health.* 2019; 38 (3): 97–104. DOI: 10.12938/bmfh.18-017.

Effect of long-term administration of *Enterococcus* sp. SB12 on oxidative stress markers of mice

V. S. Mushynska^{1*}, V. Y. Syrvatka^{2,1}, O. V. Shtapenko^{3,4}
arillenmeril@gmail.com

¹Institute of Animal Biology NAAS, 38 V. Stusa str., Lviv, 79034, Ukraine

²Ivan Franko National University of Lviv, Genetic and Biotechnology Department, 4 Hrushevskoho str., Lviv, 79005, Ukraine

³Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

⁴Lviv State University of Life Safety, 35 Kleparivska str., Lviv, 79007, Ukraine

The study analyzes the effect of the probiotic strain *Enterococcus* sp. SB12 on the antioxidant defense system of mice. The relevance of the study is due to the need to search for new strains capable of modulating the redox status without depleting the internal resources of the host organism. The experiment was conducted on white laboratory mice, which were orally administered a suspension of the studied strain for 28 days. The state of the oxidative-antioxidant balance was assessed by the intensity of lipid peroxidation (content of hydroperoxides and TBA-reactive substances, the level of protein carbonyls, and catalase activity). It was found that long-term use of *Enterococcus* sp. SB12 does not cause significant changes in the content of lipoperoxidation products and carbonyl groups of proteins, which indicates the absence of a prooxidant effect on cellular structures. Catalase activity remained at the level of the control group, indicating a stable state of the enzymatic defense chain and the absence of metabolic stress. It was found that *Enterococcus* sp. SB12 does not disturb the balance of free radicals and is characterized by high metabolic safety, which makes it promising for use in probiotic preparations.

Key words: *Enterococcus* sp., probiotic strains, oxidative stress, catalase, TBA-reactive substances, lipid hydroperoxides, protein carbonyls, mice, oral administration