

При сравнении рисунков 1–2 и 3–4 становится очевидным, что высокочастотный показатель HF значительно преобладает у пловцов. У пловчих этот показатель выше на 11 %, чем у гимнасток. У юношей разница составляет 19 %.

Анализ показателей, характеризующих влияние вегетативной нервной системы на деятельность сердца, выявил у юношей более высокие парасимпатические влияния на синусовый ритм, чем у девушек независимо от вида спорта. Об этом свидетельствуют — выраженное преобладание мощности HF над LF, более высокие показатели SDNN и dX, а также снижение показателей AMo и ИН. Преобладание автономной регуляции сердечного ритма у юношей, доказываемое большим разбросом кардиоинтервалов — dX, большими значениями полного спектра частот (TF) и дыхательных HF волн. У девушек, занимающихся спортивной гимнастикой и плаванием, по сравнению с юношами меньше значения показателей: dX, RMSSD, HF, TF, SDNN, и как следствие, индекс напряженности — ИН выше.

Анализ ВСР выявил у девушек, занимающихся спортивной гимнастикой, более низкие показатели SDNN, RMSSD и pNN50, чем у трех других групп спортсменов. Малая суммарная мощность спектров HF и LF, небольшая разница между ними, высокие показатели VLF и ИН дают возможность сделать заключение о большей роли центрального контура в регуляции сердечного ритма у этих спортсменок по сравнению с другими группами. Кроме того, у них выявлено самое большое напряжение регуляторных систем — ИН ( $78,9 \pm 36,4$ ), об этом свидетельствуют также более низкие показатели SDNN ( $64,1 \pm 21,3$ ) и RMSSD ( $55,0 \pm 20,1$ ). Резкое снижение SDNN и повышение ИН обусловлено значительным напряжением регуляторных систем, когда в процесс регуляции включаются высшие уровни управления. Известно, что показатели СКО зависят не от половозрастных особенностей, а в большей степени от тренированности и от специфики спорта [2]. Мощность VLF, по данным авторов, возрастает при высоком уровне тревожности, а также в условиях остро и хронического эмоционального стресса [3, 5]. Поскольку амплитуда VLF тесно связана с психоэмоциональным состоянием, можно предположить, что на показатели ВСР влияет направленность тренировочного процесса.

#### **Заключение**

Таким образом, наши исследования показали, что специфика спорта отражается на показателях вегетативной регуляции сердечного ритма

спортсменов. Выявились особенности регуляторных механизмов у спортсменов, занимающихся плаванием и спортивной гимнастикой.

Наиболее оптимальное состояние регуляторных систем, высокие показатели тренированности и уровня адаптации к физическим нагрузкам выявлены у юношей-пловцов. У гимнастов вегетативный статус характеризуется преобладанием мощности очень низких частот VLF, что можно объяснить повышенным уровнем тревожности, неизбежным в спортивной гимнастике, являющейся ациклическим сложно-координированным видом спорта, требующим постоянного напряжения центральной нервной системы. Для пловцов характерно преобладающее парасимпатическое влияние, обуславливающее повышение выносливости при выполнении повторяющихся однотипных движений. Полученные данные могут использоваться для создания «вегетативного портрета» спортсменов различных видов спорта. Обобщая приведенные данные, можно сделать следующие **выводы**:

1. У пловцов выявлено большее преобладание автономной регуляции на ритм сердца, для гимнастов характерно преобладание центрального контура регуляции с более выраженными гуморально-метаболическими воздействиями.

2. Специфика спорта оказывает более значительное влияние на вегетативный статус спортсмена, чем поло-возрастные особенности.

3. Преобладание центрального контура регуляции у гимнастов может быть связано с повышенным уровнем координации двигательной активности, требующей постоянного напряжения всех регуляторных механизмов.

#### **БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Баевский, Р. М. Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения / Р. М. Баевский, Г. Г. Иванов // Ультразвуковая и функциональная диагностика. — 2001. — № 3. — С. 108–127.
2. Бань, А. С. Особенности вегетативной регуляции сердечного ритма баскетболистов различного уровня квалификации / А. С. Бань, Г. М. Загородный: материалы конф., 24–27 мая 2003 г. / Белорусская медицинская академия последипломного образования. — Минск, 2003.
3. Шлык, Н. И. Сердечный ритм и тип регуляции у детей, подростков и спортсменов / Н. И. Шлык. — Ижевск: Изд-во «Удмуртский университет», 2009. — 255 с.
4. Фармакология спорта / Н. А. Горчакова [и др.]; под общ. ред. С. А. Олейника, Л. М. Гуниной, Р. Д. Сейфуллы. — К.: Олимп. л-ра, 2010. — 640 с.: Библиограф.: С. 631–639.
5. Хаспекова, Н. Б. К природе очень низкочастотной составляющей вариабельности ритма сердца // Вариабельность сердечного ритма: Теоретические аспекты и практическое применение; Тез. междунар. симпоз. — Ижевск: Изд-во Удм. ун-та, 1996. — С. 184–185.

Поступила 14.02.2014

УДК 579:543.211/.215-034

## **АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ КАТИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

**О. И. Савченко, Т. Н. Кравчук, Д. В. Тапальский, В. А. Филиппова**

**Гомельский государственный медицинский университет**

**Цель:** изучить бактерицидные свойства катионов металлов в отношении золотистого стафилококка и синегнойной палочки.

**Материалы и методы.** Методом разведений в бульоне определены минимальные подавляющие концентрации и минимальные бактерицидные концентрации солей металлов. Кинетику роста и отмирания *S.aureus* и *P.aeruginosa* изучали в бульонной питательной среде в присутствии катионов металлов в концентрациях, в четыре раза превышающих минимальную бактерицидную концентрацию.

**Результаты.** Выраженным бактерицидным действием обладали катионы серебра и меди. Показано, что с ростом окислительно-восстановительного потенциала увеличивается антибактериальная эффективность катионов металлов.

**Заключение.** Установлена зависимость бактерицидного действия катионов металлов от их окислительной способности.

**Ключевые слова:** тяжелые металлы, стафилококк, синегнойная палочка, бактерицидная активность

## ANTIBACTERIAL EFFECT OF CATIONS ON HEAVY METALS

O. I. Savchenko, T. N. Kravchuk, D. V. Tapalsky, V. A. Filipova

Gomel State Medical University

**Objective:** to study bactericidal properties of metal cations against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

**Material and methods.** Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of metal salts were determined by the method of broth dilution. The kinetics of growth and dying of *S.aureus* and *P.aeruginosa* was studied in broth culture medium in the presence of metal cations in concentrations four times exceeding the minimum bactericidal concentrations.

**Results.** The cations of silver and copper proved to possess a marked bactericidal effect. It was showed that an increase of oxidation-reduction potential leads to an increase of the antibacterial efficiency of the metal cations.

**Conclusion.** A relation of the oxidizing activity of the metal cations and their bactericidal action was revealed.

**Key words:** heavy metals, staphylococcus, *Pseudomonas aeruginosa*, bactericidal activity.

### Введение

К тяжелым металлам относят более 40 металлов периодической системы Д. И. Менделеева с атомной массой выше 50 атомных единиц. Многие из них обладают высокой токсичностью для живых организмов в относительно низких концентрациях, а также способностью к биоаккумуляции. Некоторые тяжелые металлы (марганец, железо, кобальт, никель, медь, цинк, молибден) относятся к биогенным элементам, необходимым для функционирования ферментных систем прокариотной клетки [1].

Ионы металлов являются компонентами многих природных систем. В зависимости от pH среды, ее окислительно-восстановительного потенциала и присутствия лигандов тяжелые металлы могут присутствовать в разных степенях окисления и входить в состав различных неорганических и металлоорганических соединений.

Бактерицидное и бактериостатическое действие катионов и наночастиц ряда тяжелых металлов (серебра, меди, цинка) широко используется в медицинской практике. Повреждающее действие ионов металлов на микробную клетку реализуется через блокирование функциональных групп ферментов и полинуклеотидов, денатурацию белков, повреждение и блокирование мембранных транспортных систем, вытеснение и замещение биогенных катионов [2]. При значительном антропогенном загрязнении природных экосистем у присутствующих в них микроорганизмов возможно

формирование устойчивости к катионам тяжелых металлов, связанное с активацией эффлюксных систем, обеспечивающих активное выведение катионов из клетки, или со снижением токсичности тяжелых металлов в результате их окисления или хелатирования [3, 4].

### Цель исследования

Изучить бактерицидные свойства катионов серебра, меди, свинца, кобальта, железа и цинка в отношении тест-культур золотистого стафилококка и синегнойной палочки.

### Материалы и методы

Одномолярные растворы солей  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ , стерилизовали автоклавированием. Из суточных культур *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 готовили бактериальные суспензии с оптической плотностью 0,5 МакФарланд (McF). Готовили ряд двукратных серийных разведений растворов солей на бульоне Мюллер-Хинтона (МХБ) в пробирках в объеме 5 мл и вносили 50 мкл бактериальной суспензии 0,5 McF (конечная концентрация микробных клеток в среде  $\sim 10^6$  клеток/мл). Посевы инкубировали 18–20 часов при температуре 37°C, после чего учитывали минимальную подавляющую концентрацию (МПК), соответствующую наименьшей концентрации катионов металла, способной подавлять видимый рост микроорганизмов. Для определения минимальной бактерицидной концентрации

(МБК) из каждой пробирки делали высев 25 мкл среды на сектор чаши Петри с питательной средой Мюллер-Хинтонагар (МХА) и инкубировали посеvy 18 часов при температуре 37 °С. МБК соответствовала минимальной концентрации катионов металлов, полностью устраняющей рост колоний микроорганизмов на плотной питательной среде.

Кинетику роста и отмирания *S.aureus* и *P.aeruginosa* изучали в пробирках с МХБ в присутствии катионов металлов в концентрациях, в четыре раза превышающих минимальную бактерицидную концентрацию (4xМБК). В качестве контролей использовали МХБ без внесения катионов металлов. В контрольные и опытные пробирки вносили 50 мкл суспензии тест-культуры с оптической плотностью 0,5 McF для достижения концентрация микробных клеток в среде ~10<sup>6</sup> клеток/мл.

Контрольные и опытные пробирки инкубировали при постоянном встряхивании в шейкере-инкубаторе при температуре 37 °С в течение 240 мин. Через 30, 60, 120 и 240 минут от начала инкубации проводили подсчет количества жизнеспособных клеток (колониеобразующих единиц, КОЕ) в каждой пробирке. Для этого в микропланшетах готовили десятикратные серийные разведения бульонной среды в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия и делали

высев 20 мкл из каждого разведения на сектор чаши Петри с МХА. После 20-часовой инкубации при температуре 37 °С определяли количество КОЕ для каждой контрольной точки. На основании полученных данных для каждого из изучаемых штаммов микроорганизмов строились кинетические кривые роста/отмирания клеток в полулогарифмических координатах.

В условиях эксперимента концентрация катионов тяжелых металлов оставалась постоянной, что позволило рассчитать удельную скорость гибели клеток по уравнению:

$$\frac{dN}{dt} = \mu N$$

где N — число клеток микроорганизмов;  
 $\mu$  — удельная скорость гибели клеток, с<sup>-1</sup>;  
 $\tau$  — время проведения эксперимента, с.

Поскольку приведенное уравнение содержит разделяющиеся переменные, оно может быть преобразовано следующим образом:

$$\ln N = \ln N_0 + \mu \tau$$

где N<sub>0</sub> — исходное количество клеток микроорганизмов.

Исходя из полученного уравнения, удельная скорость гибели клеток рассчитывалась как тангенс угла наклона прямолинейного отрезка кинетической кривой, построенной в полулогарифмических координатах (рисунок 1).

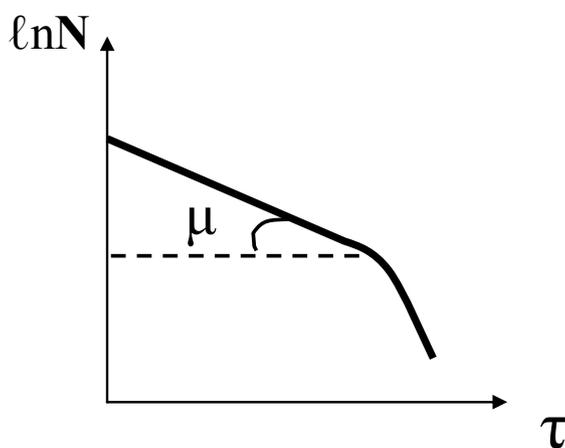


Рисунок 1 — Определение удельной скорости гибели клеток микроорганизмов

Величины окислительно-восстановительных потенциалов (ОВП) сопряженных пар Me<sup>+n</sup>/Me при данном содержании катионов в исследуемых средах при температуре 310К рассчитывались по уравнению Нернста [5]:

$$E_{Me^{+n}/Me} = E^0_{Me^{+n}/Me} + \frac{RT}{nF} \ln[Me^{+n}]$$

где E — окислительно-восстановительный потенциал, В;

E<sup>0</sup> — стандартный окислительно-восстановительный потенциал, В;

R — универсальная газовая постоянная, равная 8,31Дж/(моль•К);

T — абсолютная температура, К;

F — число Фарадея (96500 Кл·моль<sup>-1</sup>);

n — число моль электронов, участвующих в процессе;

[Me<sup>+n</sup>] — концентрация катионов, моль/л.

**Результаты и их обсуждение**

Результаты определения МПК и МБК тяжелых металлов для тест-культур *S. Aureus* ATCC 25923 и *P.aeruginosa* ATCC 27853 представлены в таблице 1.

Таблица 1 — МПК и МБК катионов тяжелых металлов для тест-культур *S. aureus* и *P.aeruginosa*

№ п/п	Показатели	<i>S.aureus</i> ATCC 25923		<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	
		МПК, мкмоль/мл	МБК, мкмоль/мл	МПК, мкмоль/мл	МБК, мкмоль/мл
1.	AgNO <sub>3</sub>	<0,15	0,31	<0,15	<0,15
2.	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,25	2,5	2,5	5
3.	Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	5	10	2,5	10
4.	CuSO <sub>4</sub>	5	10	10	10
5.	FeCl <sub>3</sub>	5	5	10	10
6.	FeSO <sub>4</sub>	10	10	10	10
7.	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,5	10	5	>10
8.	Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	10	>10	10	>10
9.	ZnSO <sub>4</sub>	5	5	10	>10

Наиболее эффективное ингибирование роста исследуемых микроорганизмов происходит под воздействием катионов серебра и кобальта. МПК катионов серебра составляет менее 0,15 мкмоль/мл для обеих культур, МПК катионов кобальта — 1,25 мкмоль/мл для *S.aureus* и 2,5 мкмоль/мл для *P.aeruginosa*. Эти же металлы характеризуются минимальными значениями МБК в отношении как *S. Aureus* ATCC 25923, так и *P.aeruginosa* ATCC 27853.

Кинетика гибели клеток указанных штаммов микроорганизмов изучалась в присутствии катионов четырех металлов, для которых при определении МБК установлена наибольшая бактерицидная активность: серебра (I), меди (II), хрома (III) и кобальта (II). Концентрация катионов соответствовала четырехкратным значениям их МБК.

Кинетические кривые в полулогарифмических координатах представлены на рисунках 2 и 3.

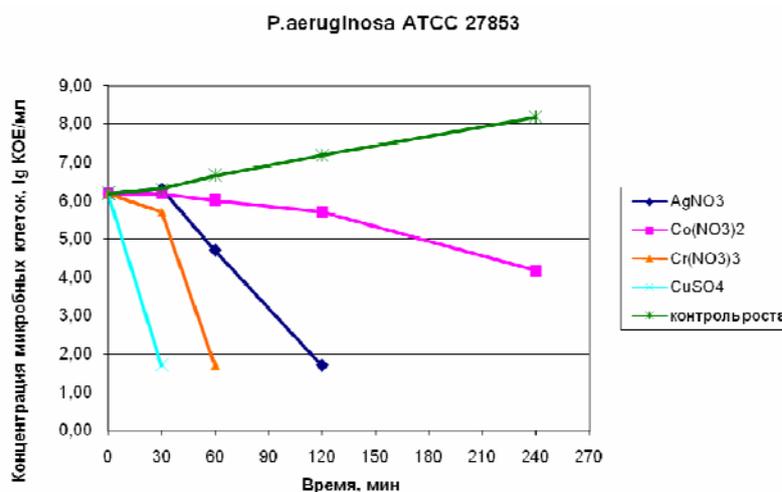


Рисунок 2 — Кинетические кривые роста и гибели клеток *P.aeruginosa* ATCC 27853

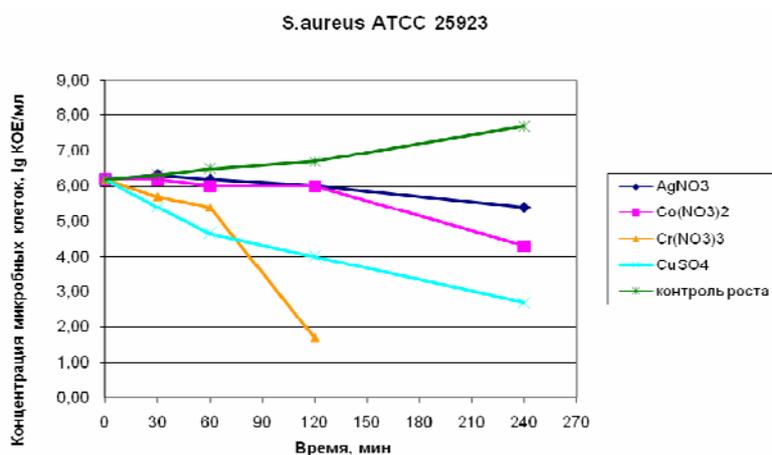


Рисунок 3 - Кинетические кривые роста и гибели клеток *S. Aureus* ATCC 25923

Полученные данные позволили рассчитать удельные скорости гибели клеток микроорганизмов под воздействием катионов тяжелых металлов (таблицы 2–3). При высоких концентрациях ионов кобальта, хрома и меди их ингибирующее действие не уступает, а в некоторых случаях, даже превышает ингибирующее действие сред с

низким содержанием катионов серебра. Чтобы исключить различия, связанные с неодинаковыми концентрациями катионов серебра, меди, кобальта и хрома в средах, были рассчитаны приведенные эффективные удельные скорости гибели клеток, соответствующие содержанию катионов металлов, равных 1 мкмоль/мл (таблица 4).

Таблица 2 — Удельная скорость гибели клеток *P. aeruginosa* ATCC 27853 в растворах солей тяжелых металлов

№ п/п	Катион металла	Содержание катионов, мкмоль/мл	Удельная скорость гибели клеток синегнойной палочки $\times 10^4$ , $c^{-1}$
1	Co <sup>+2</sup>	20,0	1,53 $\pm$ 0,29
2	Ag <sup>+</sup>	0,630	1,55 $\pm$ 0,80
3	Cr <sup>+3</sup>	40,0	6,11 $\pm$ 0,74
4	Cu <sup>+2</sup>	40,0	57,3 $\pm$ 0,35

Таблица 3 — Удельная скорость гибели клеток *S. Aureus* ATCC 25923 в растворах солей тяжелых металлов

№ п/п	Катион металла	Содержание катионов, мкмоль/мл	Удельная скорость гибели клеток золотистого стафилококка $\times 10^4$ , $c^{-1}$
1	Co <sup>+2</sup>	10,0	0,569 $\pm$ 0,29
2	Ag <sup>+</sup>	1,25	1,24 $\pm$ 0,80
3	Cr <sup>+3</sup>	40,0	4,97 $\pm$ 0,74
4	Cu <sup>+2</sup>	40,0	9,78 $\pm$ 0,35

Таблица 4 — Сравнительный анализ скорости роста и гибели клеток синегнойной палочки и золотистого стафилококка

№ п/п	Катион металла	Содержание катионов, мкмоль/мл	Удельная эффективная скорость гибели синегнойной палочки $\times 10^4$ , $c^{-1}$	Удельная эффективная скорость гибели золотистого стафилококка $\times 10^4$ , $c^{-1}$
2	Ag <sup>+</sup>	1,00	2,46	0,992
3	Cu <sup>+2</sup>	1,00	1,43	0,245
4	Cr <sup>+3</sup>	1,00	0,153	0,124
5	Co <sup>+2</sup>	1,00	0,0765	0,0569

Как следует из данных таблицы 4, гибель клеток *P. aeruginosa* и *S. aureus* быстрее всего происходит под воздействием катионов серебра (эффективные скорости гибели клеток составляют  $2,46 \times 10^{-4}$  и  $0,992 \times 10^{-4} c^{-1}$  соответственно). Ингибирующее действие катионов меди не может конкурировать с действием катионов серебра, но все же является достаточно эффективным ( $1,43 \times 10^{-4}$  и  $0,245 \times 10^{-4} c^{-1}$  для синегнойной палочки и золотистого стафилококка). Скорость гибели клеток, вызванной катионами хрома и кобальта, существенно ниже скорости гибели клеточных культур, инициированной ионами меди и серебра. Вероятно, соли кобальта и хрома малоэффективны для борьбы с вышеназванными микроорганизмами.

Механизм бактерицидного действия тяжелых металлов до конца не изучен. Известно,

что ионы тяжелых металлов могут взаимодействовать с гидроксильными, сульфгидрильными, карбоксильными группами, а также аминокислотными группами, вызывая изменение свойств белков и ферментов.

Чтобы проверить гипотезу о взаимосвязи бактериостатического действия катионов тяжелых металлов и их окислительной способности, было изучено влияние окислительно-восстановительных потенциалов катионов серебра, меди, хрома и кобальта на скорость гибели клеток синегнойной палочки и золотистого стафилококка (рисунок 4).

Очевидно, что с ростом окислительно-восстановительного потенциала возрастает эффективность ингибирующего действия катионов металлов на рост культур *P. aeruginosa* и *S. aureus*.

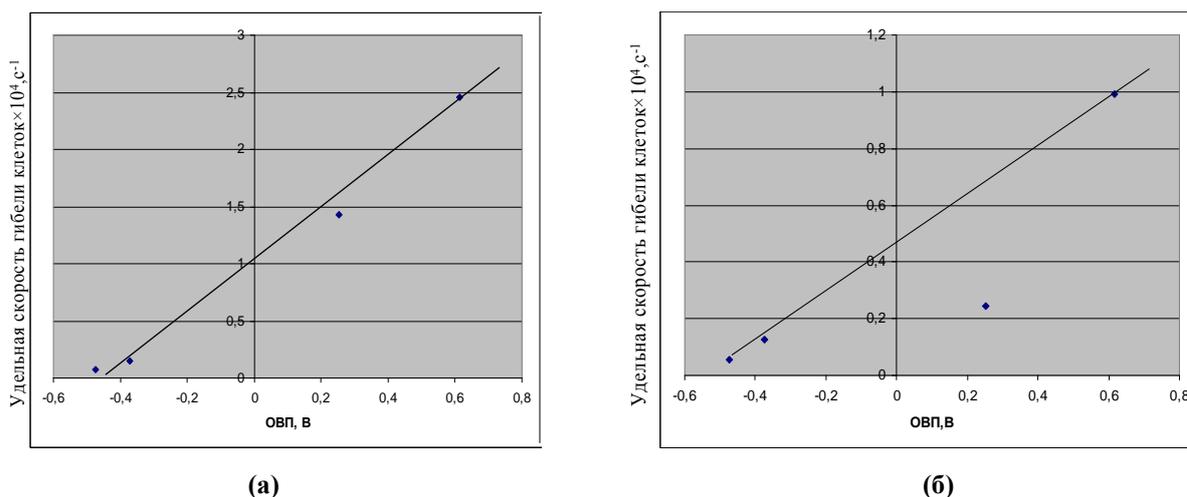


Рисунок 4 — Влияние окислительной способности катионов тяжелых металлов на удельную скорость гибели (а) синегной палочки и (б) золотистого стафилококка

### Выводы

Катионы тяжелых металлов обладают высокой ингибирующей активностью по отношению к росту клеток микроорганизмов *P.aeruginosa* и *S. aureus*. Изучение МПК, МБК, а также кинетики гибели клеток микроорганизмов показало, что самым выраженным микробоцидным действием обладают катионы серебра и меди. Выполненные исследования позволили выявить особенности отмирания клеток *P.aeruginosa* и *S.aureus* в присутствии катионов металлов, а также установить зависимость эффективности ингибирующего действия катионов от их окислительной способности.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Nies, D. H. Microbial heavy-metal resistance / D. H. Nies // Applied Microbiology and Biotechnology. — 1999. — Vol. 51. — P. 730–750.
2. Gadd, G. M. Metals and microorganisms: a problem of definition / G. M. Gadd // FEMS Microbiology Letters. — 1992. — Vol. 100. — P. 197–204.
3. Resistance of bacteria isolated from Otamiri river to heavy metals and some selected antibiotics / I. C. Mgbemena [et al.] // Current Research Journal of Biological Sciences. — 2012. — Vol. 4. — P. 551–556.
4. Isolation and characterization of *Pseudomonas* resistant to heavy metals contaminants / V. Singh [et al.] // International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. — 2010. — Vol. 3. — P. 164–167.
5. Варфоломеев, С. Д. Биокинетика. Практический курс / С. Д. Варфоломеев, К. Г. Гуревич. — М.: ФАИР-Пресс, 1999. — 720 с.

Поступила 25.04.2014

УДК 617:615.468.6:620.3:546.57]:616 – 001.4 – 002:579  
**ВЛИЯНИЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ШОВНОГО МАТЕРИАЛА, МОДИФИЦИРОВАННОГО НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА, НА ТЕЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО РАНЕВОГО ПРОЦЕССА *IN VIVO* В УСЛОВИЯХ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ**

Б. О. Кабешев, Д. А. Зиновкин, Д. Н. Бонцевич, Э. А. Надыров

Республиканский научно-практический центр  
 радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель  
 Гомельский государственный медицинский университет

**Цель:** изучить влияние на течение воспалительного раневого процесса *in vivo* нового антибактериального хирургического шовного материала на основе полиамида, модифицированного наночастицами серебра, полученными методом металло-парового синтеза.

**Материал и методы.** В работе использованы полиамидные нити, производитель «Волоть» (РФ), ТУ 9432–001–24648800–95, а также их аналоги, модифицированные наночастицами серебра. Имплантацию шовного материала выполняли самкам беспородных белых крыс в мышцы спины. Локальную воспалительную и тканевую реакцию оценивали в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий».

**Результаты.** Выявлено более раннее наступление пролиферативной стадии воспаления при использовании модифицированной нити и образование хорошо кровоснабжаемой тонкой соединительнотканной капсулы, что позволяет рассматривать это как предпосылку заживления раны первичным натяжением.

**Заключение.** Модифицированная наночастицами серебра нить имеет большую биоинертность и вызывает менее выраженную воспалительную реакцию тканей на имплантацию.

**Ключевые слова:** наночастицы серебра, шовный материал, имплантация, воспаление.