

УДК 613.3; 616.34

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА МЕТАЛЛОВ НА КЛЕТКИ *PSEUDOMONAS PUTIDA K12* В ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

© 2017 А.Ю. Александровская¹, А.В. Сафонов¹, К.Э. Герман², Н.К. Зайцев³

¹Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва

²Филиал частного учреждения образовательной организации высшего образования
«Медицинский университет «Реавиз» в городе Москве, Москва

³Московский технологический университет (МИТХТ), Москва

Статья посвящена одному из важных вопросов общественного здоровья и здравоохранения – санитарно-токсикологической характеристике питьевой воды. Ключевым аспектом статьи является изучение процессов естественной детоксификации тяжелых металлов в организме человека обусловленной воздействием микрофлоры. В качестве модельного объекта была выбрана грамотрицательная факультативная неспорообразующая гаммапротеобактерия *Pseudomonas putida k12*, в аэробных и анаэробных экспериментах, моделирующих экто и эндосимбиотические условия развития организма. Оценка воздействия тяжелых металлов на микрофлору имеет важное значение для понимания роли микробиоты в механизмах детоксификации, для оценки состояния микробного дисбаланса при интоксикации металлами, а также для разработки новых лекарственных биопрепаратов для лечения острой и хронической интоксикации различными по химическим свойствам металлами.

Статья включает ряд фундаментальных данных о величине токсического эффекта в хронических и острых экспериментах, широкого спектра металлов, полученных методами классической микробиологии и методом биосенсора с использованием модифицированного электрода Кларка с иммобилизованными на нем клетками. На основании полученных данных сделан вывод об 40–500 кратном уменьшении токсического воздействия тяжелых металлов на клетках прокариотов по сравнению с организмом человека за счет использования специфических микробных механизмов детоксикации.

Ключевые слова: гаммапротеобактерия *Pseudomonas putida k12*, тяжелые металлы, детоксикация.

Введение. Бурное развитие промышленности с начала XX по настоящее время привело к загрязнению высокотоксичными соединениями металлов водных и наземных экосистем вследствие техногенных аварий, неконтролируемых выбросов производств, неофициального захоронения химических и свалок бытовых отходов. Примером могут служить хвостовые отвалы горнодобывающих предприятий Кирово-Чепецкого комбината [1], свалки химико-металлургических предприятий, добывающих уран в Казахстане и Узбекистане [2], повсеместные многочисленные свалки бытовых отходов. Тяжелые металлы входят в состав удобрений и пестицидов и могут попадать в водоемы вместе со стоком с сельскохозяйственных угодий. Наиболее часто промышленные сточные воды загрязнены солями цинка, кадмия, меди, хрома, никеля, ртути, железа реже содержат кобальт, марганец [3]. Тяжелые металлы по токсичности для питьевой воды занимают второе место после пестицидов при этом многие образуют стойкие органические комплексы с хорошей растворимостью, что способствует их миграции в пищевых цепях и попадание в организм человека. К тяжелым металлам относят более 40 химических элементов, но при учете токсичности, стойкости, способности накапливаться во внешней среде и масштабов распространения токсичных соединений, контроль требуется за меньшим (примерно в четыре раза) числом элементов (Cu, Ni, Co, Pb, Sn, Zn, Cd, Bi, Sb, Hg).

Попадая перорально в организм человека металлы в основном всасываются в кровь в тонком и толстом кишечнике, либо остаются в виде малорастворимых комплексов на стенках постепенно растворяясь или выводятся через ЖКТ, сорбируясь на клетчатке и других не-

растворимых макромолекулах. Возможно попадание металлов через кожу и дыхательные пути. Во всех случаях на пути проникновения стоят слизистые оболочки внутренних органов или наружные покровы со своей микрофлорой.

При этом известно, что многие бактерии способны продуцировать специальные хелатирующие молекулы (в основном полисахаридной или олигопептидной природы), приводящие к связыванию металлов в малорастворимые и низкотоксичные формы.

Известно, что высокой устойчивостью к токсическим эффектам металлов обладают бактериальные клетки [5], обладающие рядом физиологических механизмов детоксикации на основе биохимических процессов восстановления металлов в менее токсические формы, окисления органических молекул, аккумуляции в цитоплазме в виде нерастворимых соединений.

Одним из главных механизмов связывания металлов является их взаимодействие с элементами экзополисахаридов, являющихся наружным защитным слоем клетки и обладающих способностью хелатировать металлы гидроксильными фосфорными и эфирными группами [6, 7].

Бактериальные клетки способны аккумулировать металлы в цитоплазме, пропуская их через мембрану по механизмам простой диффузии и селективного транспорта через ионные каналы. В этом случае накопление металлов происходит, как правило, в виде нерастворимых соединений с фосфатами или органическими природными комплексонами, тем самым снижая токсическое воздействие металла. Одним из вариантов аккумуляции ионов металлов внутри клеток может быть образование коллоидных частиц в виде металла восстановленного до нулевой степени (Ag, Au, Pt) или низшего оксида (CeO) [8]. Зачастую наночастицы в цитоплазме стабилизируются белками или хелатирующими пептидами.

Другим механизмом детоксикации металлов с переменной степенью окисления у прокариотических клеток является их восстановление ферментными системами типа редуктаз, участвующих в анаэробных механизмах, аналогичных окислительному фосфорилированию. При этом происходит восстановление металла до малорастворимой формы внутри клетки, периплазматическом пространстве или на клеточной стенке [8, 9].

Изучение устойчивости прокариотических организмов к воздействию тяжелых металлов и определение механизмов детоксикации является новым важным направлением токсикологии и медицины, поскольку может позволить оценить вклад микрофлоры человека в их иммобилизации и снижения токсичности.

Целью данной работы являлось изучение токсического воздействия металлов в условиях острого и хронического эксперимента на клетки прокариотического организма *Pseudomonas putida k12*, обитающего в загрязненных экосистемах.

Род псевдомонады (*Pseudomonas*), использованный в данной работе, граммотрицательные аэробные или факультативно-аэробные неспорообразующие бактерии. Данный штамм был выделен из природных экосистем, загрязненных тяжёлыми металлами и имеющий естественную высокую приспособленность к ним.

Полученные в статье данные позволят изучить ответ микрофлоры человека на токсический стресс тяжелых металлов и возможно разработать метод детоксикации организма за счет воздействия на его микрофлору при пероральном поступлении тяжелых металлов.

Материалы и методы. Культивирование бактериальных клеток для проведения острого эксперимента было проведено в течение 5 суток в пенициллиновых флаконах на жидкой богатой среде состава: пептон – 4 г/л; дрожжевой экстракт – 2,5 г/л; глюкоза – 1 г/л; NaCl – 1 г/л; pH 7,0 – 8,0.

Для проведения хронического эксперимента (колориметрический метод) культивирование бактерий проводили в течение 5 суток в пенициллиновых флаконах в аэробных условиях на минеральной среде Адкинса, составом: NH_4Cl – 1 г/л; NaCl – 0,8 г/л; KCl – 0,1 г/л; NaNO_3 – 0,9 г/л; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1 г/л; CaCl_2 – 0,01 г/л; pH 7,0 – 8,0; с ацетатом натрия – 1 г/л и глюкозой 2 г/л в качестве источника углерода и металлами в заданных концентрациях.

Хронический анаэробный эксперимент (потенциометрический метод) проводили на минеральной среде Адкинса с нитратом натрия (1 г/л) и ацетатом натрия (2 г/л) аналогично аэробному. Перед засевом инокулята среду продували аргоном методом вытеснения воздуха из газовой фазы.

Для оценки токсического эффекта в острых и хронических экспериментах в работе был использован ряд методов: биоэлектрохимический (биосенсор), колориметрический и потенциометрический.

Биоэлектрохимический метод использовался для проведения острых экспериментов на рецепторе из отмытых от среды клеток *Pseudomonas putida k12*.

После культивирования биомассу отделяли центрифугированием при 12 тыс. об/мин в течение 5 мин., и 3 раза отмывали фосфатным буфером состава K_2HPO_4 – 1,5 г/л и KH_2PO_4 – 0,75 г/л. 10 мкл клеточной суспензии, содержащей 1 мг клеток (в расчете на сухую биомассу), иммобилизовали путем физической сорбции на носителе из стекловолна (тип GF/A, Whatman). Микробный биорецептор размером $5 \times 5 \text{ мм}^2$ фиксировали на измерительной поверхности кислородного электрода типа Кларка.

Измерения проводили в открытой кювете, объем которой 2 мл, с помощью Р-8-NANO (ООО Элинс, Черноголовка).

Колориметрический метод использовался для оценки количества мертвых клеток в хроническом эксперименте. После культивирования измеряли оптическую плотность биомассы при длине волны 550 нм, рассчитывали общее количество клеток, после чего в среду добавляли метиленовый синий в концентрации 10 мг на 10 мл, который окрашивал только мертвые клетки в среде. Затем суспензию клеток осаждали центрифугированием при 7000 об/мин. и проводили спектрофотометрирование оставшегося в растворе красителя на спектрофотометре СФ2000 (ОКБ Спектр), при длине волны 570 нм.

Потенциометрический метод использовался для проведения хронического анаэробного эксперимента для оценки эффективности потребления нитрата клетками *Pseudomonas putida k12* при разных концентрациях металла. После культивирования бактерий в течение 5 суток измеряли остаточное количество нитрата потенциометрическим титрованием с использованием ионоселективного нитратного электрода марки на приборе Анион-4100. Эффективность потребления нитрата рассчитывали, используя разность между начальными и конечными значениями. Токсический эффект оценивали, используя данные об эффективности потребления нитрата при разных концентрациях металла.

Результаты и обсуждения

Оценка токсического эффекта металлов в ионной форме в остром эксперименте в аэробных условиях. В начале работы были проведены эксперименты по изучению токсичности нитрат-ионов в зависимости от их концентрации в растворе, поскольку большинство солей металлов в опытах были азотнокислыми. Установлено (рис. 1), что заметный токсический эффект проявлялся для бактерий при концентрации нитрат-ионов 50 ммоль/л. Для сравнения, значения ПДК питьевой воды для человека составляют 0,725 ммоль/л, так для исследуемых прокарриот токсичность нитрат-ионов меньше более чем в 50 раз.

Изучение влияния уранил-ионов (рис. 2) выявило резкий токсический эффект, начиная с концентрации 0,05 ммоль. При концентрации 2,5 ммоль произошло пятикратное уменьшение скорости дыхания. Это можно объяснить высокой миграционной активностью металлов в высоких степенях окисления и высокой комплексообразующей активностью f – элемента с клеточными структурами, а также радиотоксичностью.

В экспериментах был использован стабильный изотоп цезия (рис. 3), не обладающий радиотоксичностью, однако, была выявлена закономерность снижения клеточного дыхания уже при дозах 10^{-2} ммоль/л. Это может быть объяснено его быстрым проникновением в клетку по ионным каналам натрия и калия и перераспределением в клеточных структурах на функциональных местах калия, при этом клетка, по каким-то причинам не выводила цезий наружу по механизму активного транспорта. Известно, что значительная часть поглощенного клеткой цезия сорбируется оболочкой клетки, которая имеет матрикс, состоящий из полимерных молекул, всегда заряженных отрицательно, что способствует адсорбции положительно заряженных ионов среды. Значения ПДК по цезию в питьевой воде для человека составляет 0,004 ммоль/л, для исследуемых прокариот значимые изменения наблюдались при концентрации металла 0,06 ммоль/л, что свидетельствует о меньшей токсичности (в 15 раз).

Минимальная концентрация стронция (рис. 4), повлиявшая на скорость дыхания клеток, была 0,6 ммоль/л, что на порядок выше, чем для цезия и урана.

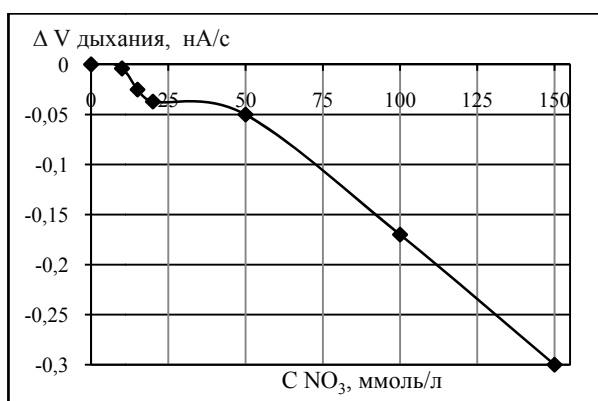


Рис. 1. Зависимость скорости клеточного дыхания от концентраций нитрат-иона (нитрат натрия)

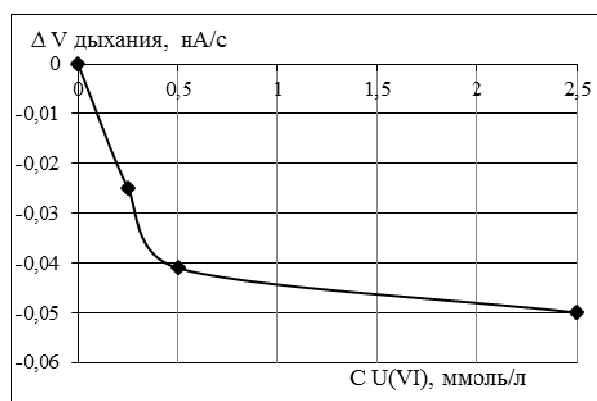


Рис. 2. Зависимость скорости клеточного дыхания от концентраций урана (уранил нитрат)

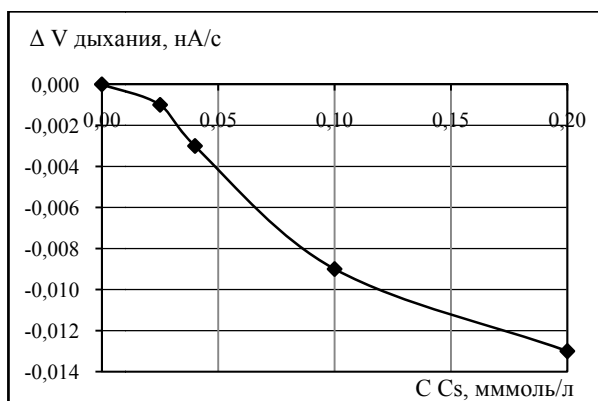


Рис. 3. Зависимость скорости клеточного дыхания от концентраций цезия (нитрат цезия)

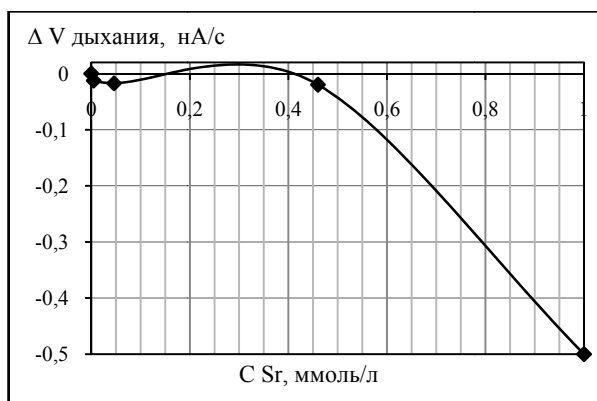


Рис. 4. Зависимость скорости клеточного дыхания от концентраций стронция (нитрат стронция)

В табл. 1 приведено сравнение минимального токсического эффекта токсикантов в остром эксперименте и значение ПДК для питьевой воды для человека.

Таким образом, в остром эксперименте установлено, что наиболее токсичными для про-кариотических клеток являются катионы цезия и уранил-ионы.

Таблица 1

**Минимальный токсический эффект нитрат-ионов и металлов
в остром эксперименте и значение ПДК для питьевой воды для человека**

Токсикант	LD _{min} , ммоль/л	ПДК, ммоль/л	LD _{min} /ПДК
NO ₃ ⁻	50	0,725	68,88
UO ₂ ²⁺	0,05	0,000063	793,333
Cs	0,06	0,003762	15,94
Sr	0,6	0,079909	7,508

Оценка токсического эффекта металлов в ионной форме в хроническом эксперименте

Аэробные условия. Результаты хронического эксперимента приведены на рис. 5–10.

Было установлено, что за 5 суток происходило воздействие цезия, приведшее к гибели 100 % клеток при концентрации 50 ммоль/л, при этом LD_{min} было достигнуто при концентрации 1,2 ммоль/л, что на 2 порядка больше – что меньше, чем в остром эксперименте. При этом значение полулетальной дозы соответствовало 17 ммоль металла (рис. 5, 6).

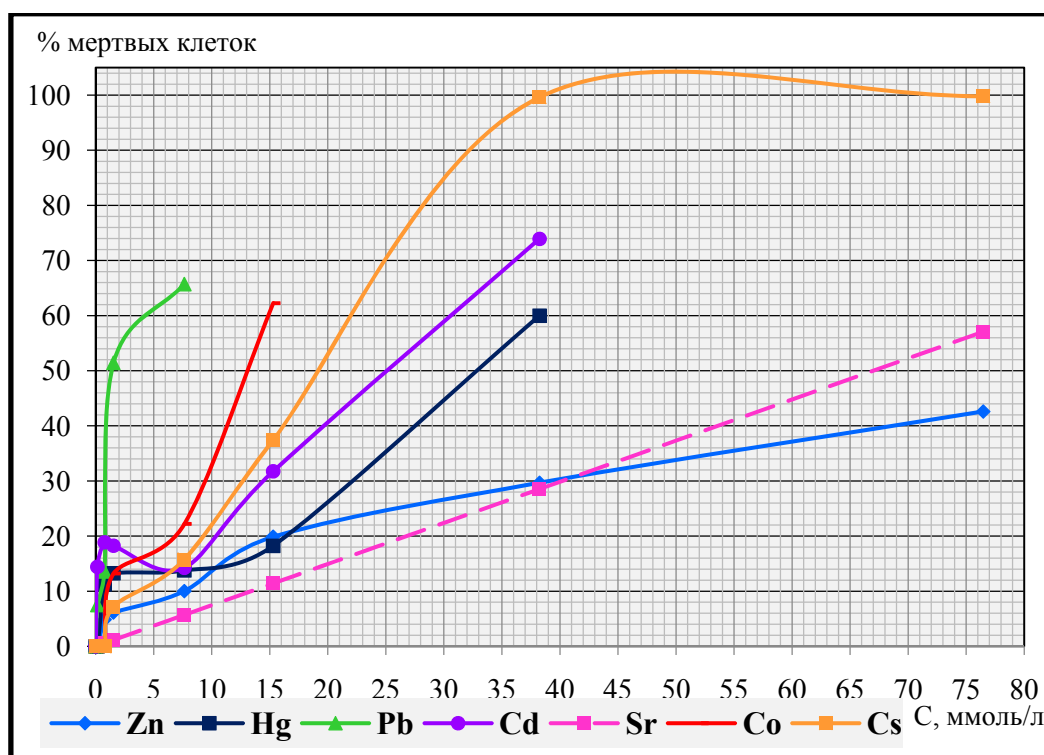


Рис. 5. Зависимость количества мертвых клеток (%) от концентраций металлов: цинка, кобальта, ртути, кадмия, свинца, цезия и стронция

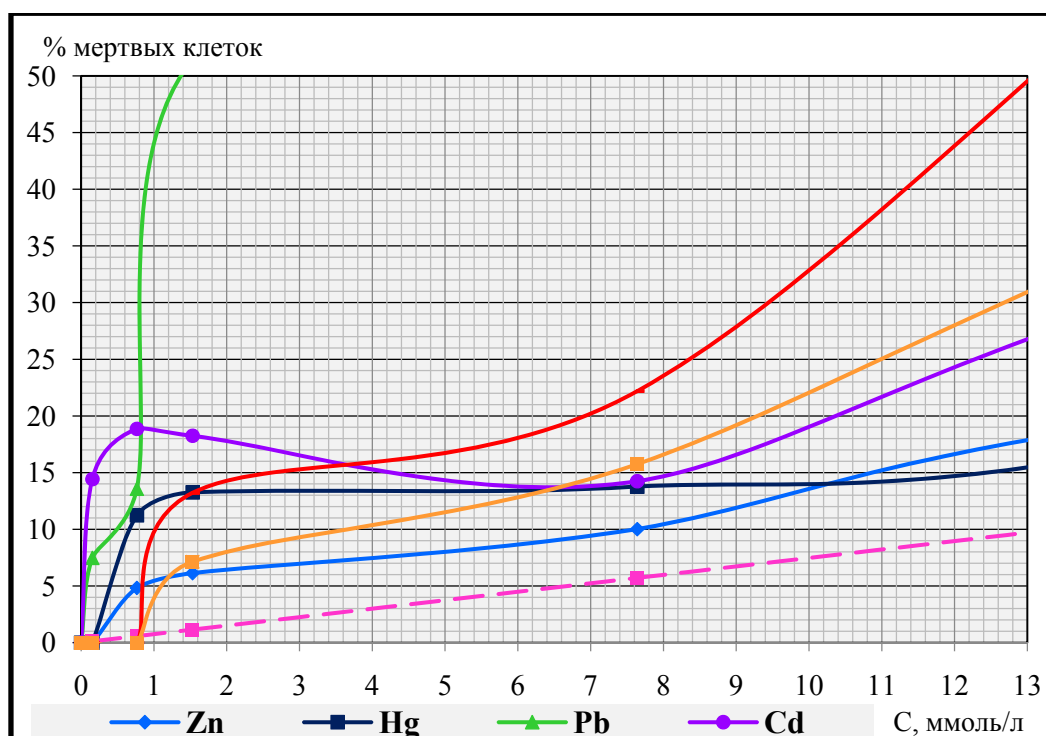


Рис. 6. Зависимость количества мертвых клеток (%) от концентраций металлов: цинка, кобальта, ртути, кадмия, свинца, цезия и стронция

Концентрация урана до 0,1 ммоль/л не вызывала значимого токсического эффекта, что в 15 раз больше, чем в остром эксперименте, причем при маленьких концентрациях наличие урана в среде незначительно стимулировало развитие биомассы. Снижение количества клеток в 2 раза происходило при концентрации урана 0,5 ммоль/л (рис. 7). С некоторым приближением это значение можно принять за LD_{50} .

Значимая токсическая концентрация стронция в хроническом эксперименте соответствовала значениям 7 ммоль/л, что в среднем на 1 порядок превышало таковую для острого эксперимента. Значение LD_{50} достигалось при концентрации 65 ммоль/л (рис. 5, 6).

При добавлении цинка минимальные значимая доза соответствовала концентрации 0,8 ммоль/л, значения полулетальной дозы находились в районе 90 ммоль/л (рис. 5, 6).

Для ртути данные значения достигали 0,4 ммоль/л для минимальной значимой дозы и 32,5 ммоль/л для полулетальной дозы (рис. 5, 6).

Для свинца проявлялся резкий скачок токсического эффекта, так LD_{min} соответствовало 0,01 ммоль/л, а LD_{50} – 0,05 (рис. 5, 6).

Токсичность кадмия, как и свинца в минимальных значениях проявлялась при 0,01 ммоль/л, а LD_{50} – при 25 ммоль/л (рис. 5, 6).

Для кобальта минимальная значимая концентрация была около 0,9 ммоль/л, а полулетальная доза была – 12 ммоль/л (рис. 5, 6).

Применительно к шестивалентному хрому значения минимальной значимой дозы соответствовали 5 ммоль/л, полулетальной дозы около 65 ммоль/л (рис. 8).

Для серебра минимальная доза не превышала 0,5 ммоль, и полулетальная в районе 30 ммоль/л (рис. 9).

Токсичность марганца (рис. 10) наблюдалась в диапазоне от 0,1 (минимальная доза) и 15 ммоль/л – полулетальная доза около 30 ммоль/л – летальная доза.

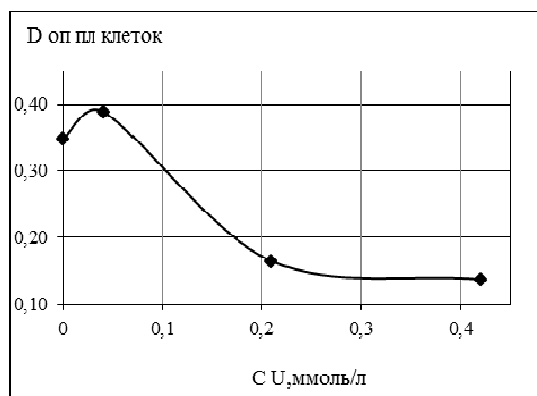


Рис. 7. Зависимость оптической плотности клеток от концентрации урана (уранил нитрат)

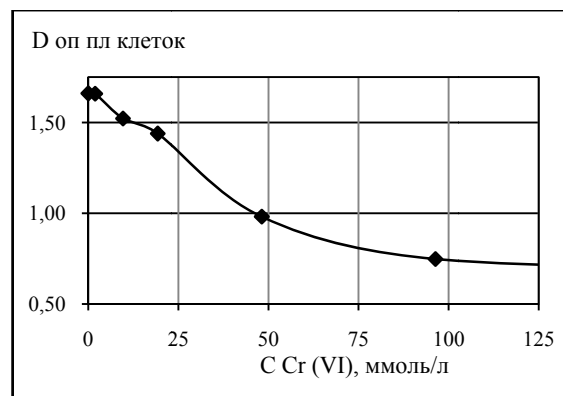


Рис. 8. Зависимость оптической плотности метиленового синего от концентрации хрома (VI) (хромат калия)

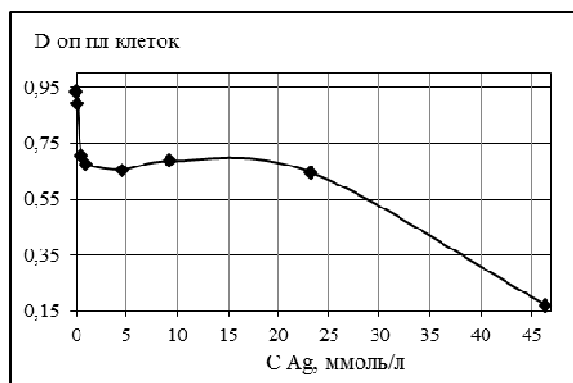


Рис. 9. Зависимость оптической плотности клеток от концентрации серебра (нитрат серебра)

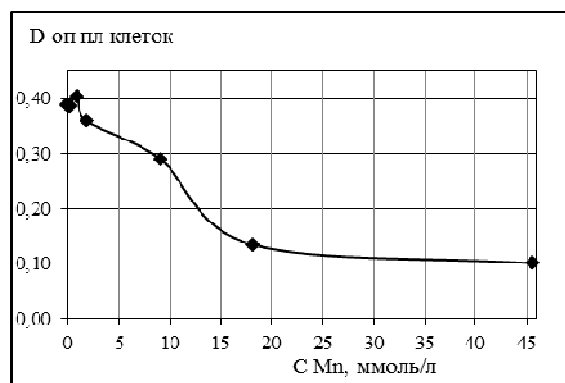


Рис. 10. Зависимость оптической плотности клеток от концентрации марганца (хлорид марганца)

Сводные данные по значению показателей токсичности в аэробном эксперименте представлены в табл. 2.

Таблица 2

Значение показателей токсичности в аэробном эксперименте

Токсикант	LD _{min} , ммоль/л	LD ₅₀ , ммоль/л	LD ₁₀₀ , ммоль/л
Zn	0,8	90	> 100
Hg	0,4	32,5	> 45
Cd	0,01	25	> 45
Cs	1,2	17	> 50
Pb	0,01	1,5	> 2
Sr	7	65	> 100
Co	0,9	12	> 20
Cr ⁺⁶	5	–	> 150
Mn	0,1	15	> 30
Ag	1	–	> 50
U	0,07	0,2	> 0,4

Таким образом, наиболее токсичными металлами в хронических экспериментах в аэробных условиях являлись кадмий, уран, кобальт, ртуть, цинк и марганец, их воздействие на клетку было значительнее ионного серебра, известного антибактериальной активностью. На основе полученных данных по LD_{min} составлен ряд токсичности металлов: U > Pb > Cd > Mn > Hg > Zn > Co > Ag > Cs > Cr⁺⁶ > Sr >.

Анаэробные условия. Следующим этапом работы были эксперименты по культивированию бактерий в анаэробных условиях в среде, содержащей нитрат-ионы в качестве акцепторов электронов. Известно, что в анаэробных условиях бактерии разных родов способны использовать металлы с переменной степенью окисления в качестве акцепторов электронов при дыхании, восстанавливая их до форм с низшей валентностью (металлоредукция), как правило, отличающихся меньшей растворимостью и, следовательно, токсичностью для клетки. В качестве примера таких металлов были взяты соли хрома в низшей и высшей степени окисления (рис. 11, 12) и соль пятивалентного ванадия.

В ходе экспериментов получены данные о разной токсичности солей хрома в разных степенях окисления. Так, минимальная токсичная концентрация шестивалентного хрома составляла 10,4 ммоль/л, для трехвалентного хрома 2,25 ммоль/л. Трехвалентный хром далее проявлял большую токсичность, чем шестивалентный, хотя обе формы не доходили до полуживотной дозы в выбранных диапазонах концентраций. Известно, что одним из способов защиты клетки от воздействия хрома является его редукция (восстановление) и комплексообразование в органических клеточных комплексах, чем можно объяснить выход на плато кривой доза-доза эффект при увеличении концентрации металла. Для ванадия установлены похожие закономерности, по всей вероятности, ванадат-ионы, попавшие в раствор, подвергаются восстановлению и осаждению в различных органеллах клетки. Так, для ванадия в данном эксперименте не получено концентрационных зависимостей при содержании более чем 10 ммоль/л металла. При этом потребление нитрат-ионов упало всего лишь на 4 процента.

Медь в данных экспериментах (рис. 11, 12) не проявила токсического эффекта в заданных небольших концентрациях, наоборот, проявилась как стимулятор потребления нитрата, поскольку является активным центром некоторых ферментов.

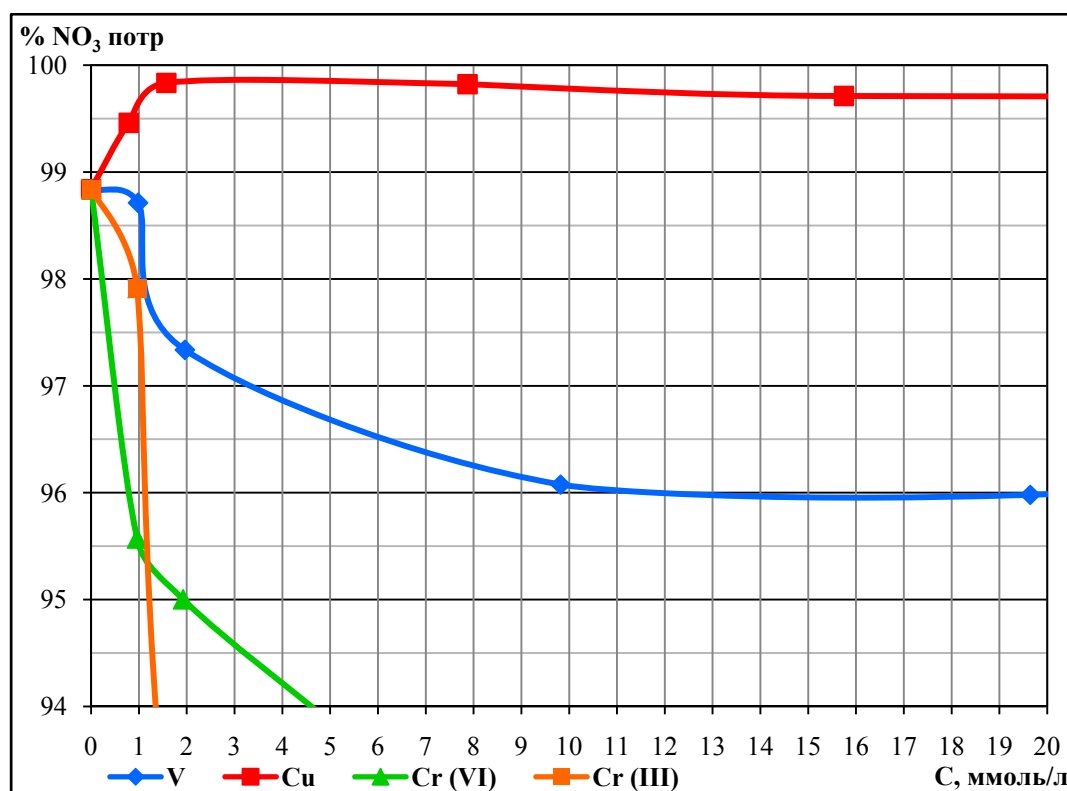


Рис. 11. Зависимость процента потребленного нитрата от концентрации металлов: ванадия, меди, хрома (III), хрома(VI)

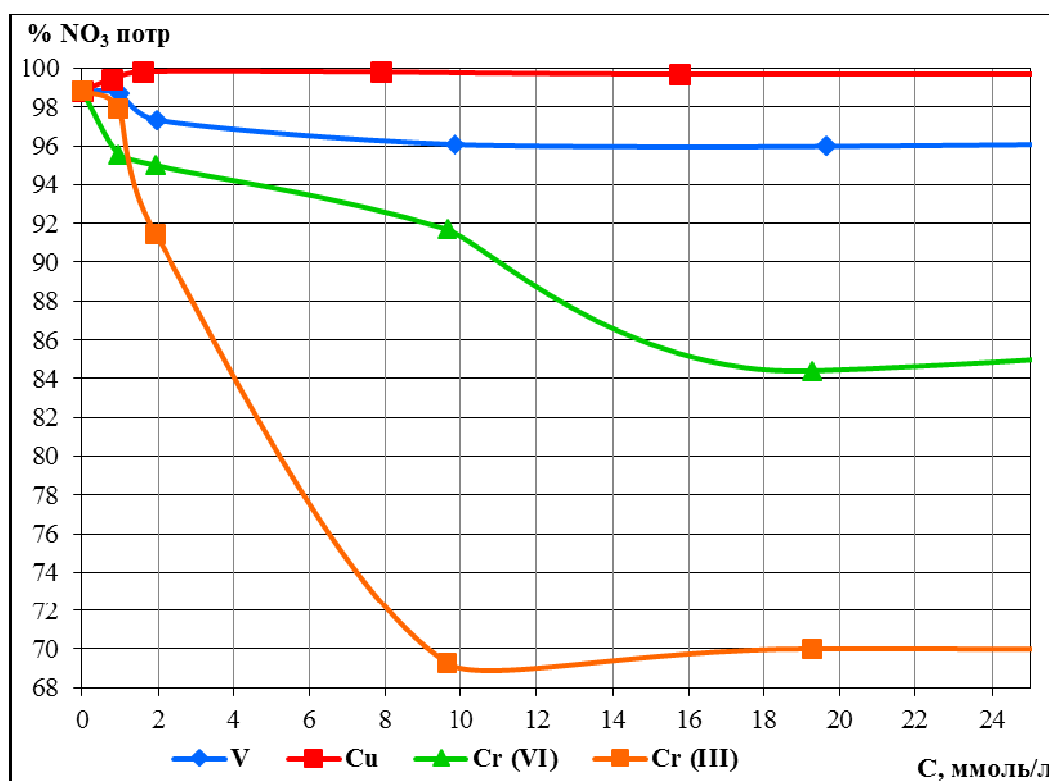


Рис. 12. Зависимость процента потребленного нитрата от концентрации металлов: ванадия, меди, хрома (III), хрома(VI).

На основе полученных данных построен следующий ряд токсичности металлов: Cr (III) > Cr (VI) > Ag > V > Cu.

В табл. 3 приведены сводные данные по результатам острого, анаэробного и аэробного хроническим экспериментам и показатели ПДК для питьевой воды человека.

Таблица 3

Сводная таблица значений показателей токсичности по острому, анаэробному и аэробному хроническим экспериментам

Металл	Хронический эксперимент				Острый экспери- мент (биосенсор)	ПДК для человека, ммоль/л
	Аэробный		Анаэробный			
	LD ₅₀ , ммоль/л	LD _{min} , ммоль/л	LD ₅₀ , ммоль/л	LD _{min} , ммоль/л	LD _{min} , ммоль/л	
Pb	1,4	0,01	НД	НД	НД	0,00014
Co	12	0,9	НД	НД	НД	0,00169
Zn	90	0,8	НД	НД	НД	0,07657
Sr	65	7	НД	НД	0,60	0,07990
Hg	32,5	0,4	НД	НД	НД	0,000002
Cd	25	0,01	НД	НД	НД	0,000009
U	0,2	0,07	НД	НД	0,05	0,000063
Cs	17	1,2	НД	НД	0,06	0,003762
Mn	15	0,1	НД	НД	НД	0,00182
Ag	НД	1	> 46	> 46	НД	0,00046
Cu	НД	НД	> 78	> 78	НД	0,01574
Cr (III)	НД	НД	> 96	2,25	НД	0,00096
Cr (VI)	НД	5	> 96	10,4	НД	0,00096
V	НД	НД	> 98	> 98	НД	0,00196

Установлено, что исследуемый микроорганизм имеет высокую степень адаптации к существованию в загрязненных металлами средах. Наиболее близкие показатели наблюдались по цинку (разница приблизительно в 10 раз), по остальным металлам разница в концентрациях металла, вызывающего токсический эффект, достигала в среднем 2–3 порядка. Ионное серебро, используемое в медицине в качестве антибактериального средства для бактерий, оказалось более чем на 3 порядка менее токсично, чем для человека.

При сравнении результатов, полученных в аэробных и анаэробных экспериментах на примере серебра и шестивалентного хрома, установлено, что в анаэробных условиях токсический эффект при одинаковых концентрациях снижается в 2–50 раз, что связано с понижением средней скорости метаболизма в анаэробных условиях, формированием специальных путей детоксикации, например биоосаждения восстановленной формы, хотя на примере четырехвалентного хрома было доказано, что он является более токсичным для клетки, по сравнению с хромат-ионом +6.

Оценка токсичности металлов в виде комплексов с ЭДТА. Известно, что при попадании комплексонов в окружающую среду одним из нежелательных эффектов является интенсификация процессов растворения малорастворимых металлических комплексов и их миграции в окружающей среде [9]. Наиболее прочные комплексы образуются с цинком и кобальтом, которые характеризуются не только высокими константами стойкости, но и низкой биодеграционной активностью [10]. В медицине одним из способов детоксикация организма при отравлении металлами принято использовать интенсивную терапию с использованием растворов ЭДТА.

В данной работе проведена оценка токсичности указанных металлов в ионной форме и в виде лиганда (рис. 13, 14). Установлено, что токсический эффект в наибольшей степени вызывается именно ЭДТА комплексом металлов как цинка, так и кобальта. Так, значения LD 100 для Zn-ЭДТА достигается при концентрации комплекса 10 ммоль/л, при этом для ионного цинка при концентрации 40 ммоль/л не достигается и значения полулетальной дозы и разница в летальных дозах будет более чем на порядок.

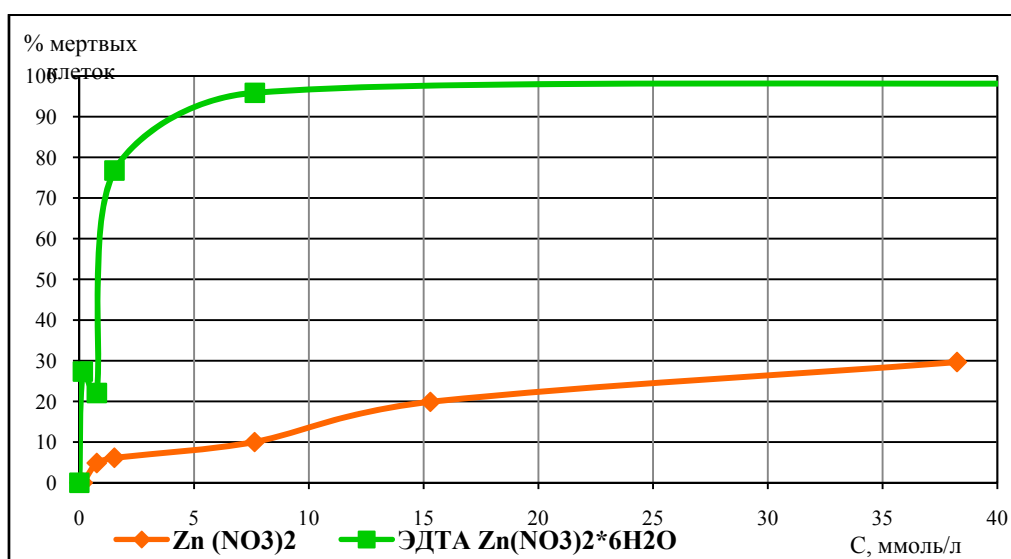


Рис. 13. Зависимость количества мертвых клеток (%) от концентраций цинка и комплекса цинка с ЭДТА

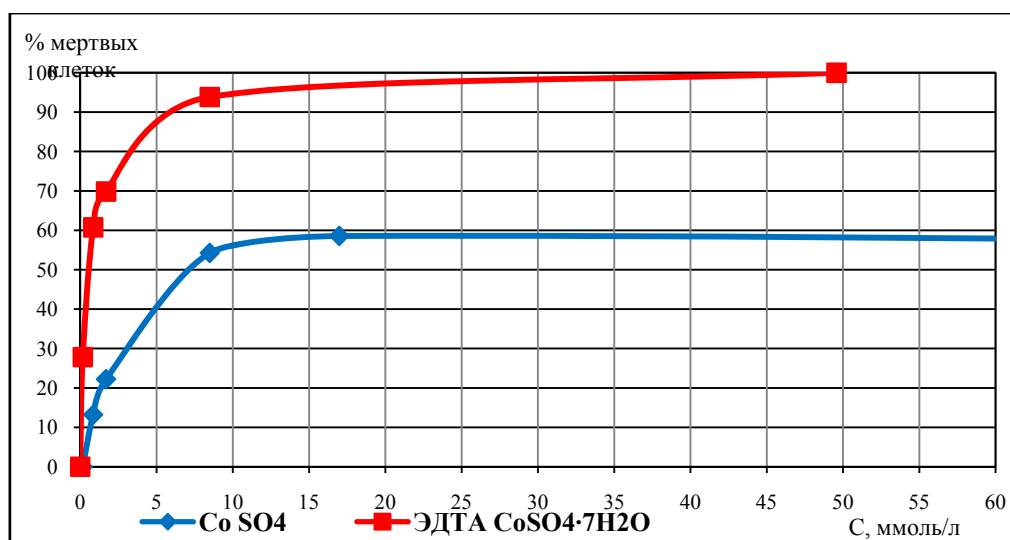


Рис. 14. Зависимость количества мертвых клеток (%) от концентраций кобальта и комплекса кобальта с ЭДТА

Для кобальтового комплекса ЭДТА 100 % летальная доза соответствует значениям 25 ммоль/л, а для растворенного кобальта LD_{50} достигается при концентрации 7 ммоль, после чего выходит на плато и не достигает летальной дозы до концентрации 60 ммоль/л. Повышенная токсичность комплексов может быть объяснена их высокой проникающей способностью в клетку в виде высокорастворимых соединений.

Выводы: 1. Впервые обосновано использование биосенсорного метода для определения токсичности металлов на биорецепторе из прокариотических клеток в условиях острого эксперимента, и разработан подход для описания полученных результатов на основе значения минимального воздействия токсиканта LD_{min} .

2. LD_{min} в остром эксперименте был для прокариота ниже, чем для человека в среднем более чем в 40 раз, а для урана более чем в 500 раз.

3. На основе хронических экспериментов в аэробных условиях на основе LD_{min} составлен ряд токсичности металлов: $U > Pb > Cd > Mn > Hg > Zn > Co > Ag > Cs > Cr^{+6} > Sr$.

4. Токсический эффект Ag и Cr^{+6} в анаэробных условиях по сравнению с аэробными был снижен в 2–50 раз, что может быть связано с понижением средней скорости метаболизма в анаэробных условиях и формированием специальных путей детоксикации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Ревич Б.А. «Горячие точки» химического загрязнения окружающей среды и здоровье населения России / под ред. В.М. Захарова. – М.: Акрополь, Общественная палата РФ, 2007. – 192 с.
- 2 http://www.rusnauka.com/2_KAND_2013/Ecologia/3_125418.doc.htm
- 3 Пимнева Л.А. Очистка сточных вод от токсичных тяжелых металлов // Современные наукоемкие технологии. – 2013. – № 2. – С. 99–101.
- 4 Будников Г.К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 5. – С. 23–29.
- 5 Анисимова, Л. Н. Устойчивость к металлам граммотрицательных бактерий, изолированных из почв и сточных вод промышленных районов // Микробиология. – 1993. – Т. 62, Вып. 5. – С. 843–848.
- 6 Квасников, Е. И. Биология бактерий, используемых при очистке промышленных сточных вод от тяжелых металлов // Микробиол. журн. – 1993. – Т. 55, № 6. – С. 66–72.
- 7 Корневский А. А. Изучение закономерностей сорбции металлов микроорганизмами: автореферат дис. ... канд. биол. наук / А. А. Корневский. – М., 1997. – 24 с.

- 8 Singh R, Shedbalkar U.U, Wadhwani S.A. Chopade BA. Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications //Appl Microbiol Biotechnol (2015) Jun; 99 (11).
 - 9 Дедюхина Э.Г. Биодegradация ЭДТА / Э.Г. Дедюхина, Т.И. Чистякова, И.Г. Минкевич // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2007. – Т. 3, № 2. – С. 40–49.
 - 10 Капаруллина Е. Н. Дegrадация этилендиаминтетраацетата аэробными бактериями: дис. ... канд. биол. наук по спец. 03.00.07. – Пушкино, 2009. – 124 с.
 - 11 Дмитриенко Г. Н. Восстановление Cr (VI) бактериями рода *Pseudomonas* / Г. Н. Дмитриенко, В. В. Конова-лова, О. А. Шум // Микробиология. – 2003. – Т. 72, № 3. – С. 370–373.
 - 12 Илялетдинов А. Н. Микробиологические превращения металлов. – Алма-Ата : Наука, 1984. – 268 с.
-

Рукопись получена: 1 июля 2017 г.

Принята к публикации: 7 июля 2017 г.

УДК 616.16

ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА КОМПЬЮТЕРНОЙ КАПИЛЛЯРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ КАПИЛЛЯРОВ КОЖИ КИСТЕЙ РУК ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

© 2017 А.В. Логина, А.А. Супильников, Е.В. Антипов

Частное учреждение образовательная организация высшего образования
«Медицинский университет «Реавиз», Самара

В статье рассмотрены возможности метода компьютерной капилляроскопии для исследования структуры капилляров кожи кистей рук после воздействия гликолевой кислотой. Установлено, что компьютерная капилляроскопия дает возможность прижизненного измерения структурных и функциональных параметров микроциркуляторного русла у испытуемых различного возраста и пола. Это позволяет изучать морфологические изменения капилляров в процессе старения и прогнозировать развитие возможных сосудистых заболеваний. Метод капилляроскопии может успешно применяться в дерматологии для оценки эффективности применения пилинговых агентов, например гликолевой кислоты.

Ключевые слова: плотность капиллярной сети, периваскулярная зона, гликолевая кислота, хроностарение, компьютерная капилляроскопия.

Химический пилинг позволяет корректировать морфологические изменения в структуре кожного покрова, вызванные фото- и хроностарением (статические морщины, снижение тонуса, актинические и себорейные кератомы, дисхромии, лентигозные высыпания). Гликолевая кислота активно используется при повышенной сальности кожи, расширенных порах, постакне.

Эффективность химического пилинга зависит от состояния кожного покрова. Важным показателем является толщина кожи. Она варьирует в зависимости от пола, возраста, участка тела и включает в себя толщину эпидермиса, дермы, а также плотность и активность сальных, потовых желез, волосяных фолликулов. Например, кожа в области век тоньше, чем в области щеки. У мужчин кожа грубая и жирная, кожа у женщин тонкая и чувствительная [6, 8].

Многообразный терапевтический эффект гликолевой кислоты дает возможность для ее широкого использования в лечении и профилактике фото- и хроностарения. Из-за малой мо-