

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 577.32+537.876.4; 51-76

DOI: 10.17072/1994-9952-2020-2-109-114.

Б. Л. Ихлов^b, И. Л. Вольхин^a, А. Ю. Ощепков^b

^a Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^b Особое конструкторское бюро «Маяк», Пермь, Россия

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ

Использовались штаммы *Mycobacterium avium* 104 (subsp. *hominissuis*) и *M. tuberculosis*, облучение электромагнитным полем (ЭМП) производилось с помощью генератора сверхвысокой частоты (СВЧ) на частотах, равных резонансным частотам крутильных колебаний ДНК используемых бактерий. Цель: показать в экспериментах, что гормезис наблюдается не только на *E. coli*, но и на других видах бактерий, исследовать гормезис под влиянием СВЧ на микобактериях, предложить объяснение этого эффекта, разработать математическую модель для его компьютерного исследования. Компьютерное моделирование проводилось в пакете MATLAB на основе модифицированного уравнения Ферхюльста. Под действием СВЧ ЭМП в культурах *M. avium* 104 (subsp. *hominissuis*) и *Mycobacterium tuberculosis* на первом клеточном цикле наблюдался почти одинаковый всплеск выживаемости. Для ряда бактерий воздействие СВЧ ЭМП, резонансного собственной частоте крутильных колебаний их ДНК, на первом цикле деления наблюдается гормезис, который объясняется стабилизацией отмирающих микроорганизмов, что подтверждено компьютерным моделированием.

Ключевые слова: бактерии; выживаемость; СВЧ; уравнение Ферхюльста.

В. L. Ikhlov^b, I. L. Volkhin^a, A. Yu. Oshchepkov^b

^a Perm State University, Perm, Russian Federation

^b Special design bureau “Mayak”, Perm, Russian Federation

EXPERIMENTAL STUDIES AND COMPUTER MODELING OF THE HOMESIS OF MICROORGANISMS BY IRRADIATION OF THE ELECTROMAGNETIC FIELD

To show in experiments that hormesis is observed not only on *E. coli*, but also on other types of bacteria, investigate hormesis under influence of microwaves on *Mycobacterium*, suggest an explanation of this effect and develop a mathematical model for its computer research. *M. avium* 104 (subsp. *hominissuis*) and *Mycobacterium tuberculosis* strains were used, and electromagnetic field (EMF) irradiation was performed using an ultrahigh-frequency (UHF) generator at frequencies equal to the resonant frequencies of torsional vibrations of DNA of the bacteria used. Computer modeling was carried out in the MATLAB package on the basis of the modified Verhulst equation. Under the action of UHF EMF in cultures of *M. avium* 104 (subsp. *hominissuis*) and *Mycobacterium tuberculosis* on the first cell cycle, almost the same surges of survival were observed.: for a number of bacteria, the effect of microwave EMF, resonant natural frequency of torsional vibrations of their DNA, on the first division cycle hormesis is observed, which is explained by the stabilization of dying microorganisms, which is confirmed by computer simulation.

Key words: bacteria; survival; microwave; Verhulst equation.

Введение

Гормезис – стимуляция какой-либо системы организма внешними воздействиями, имеющими силу, недостаточную для проявления действия вредных факторов, термин введен С. Зонтманом и Д. Эрлихом в 1943 г. Гормезис могут вызывать токсины, лекарства, вредные агенты окружающей среды и физические факторы воздействия, исполь-

зуемые в радиационных технологиях. Данный эффект выявлен у ряда микроорганизмов при различных типах внешних воздействий.

Например, при облучении микроорганизмов широкополосным видимым светом выявлен стимулирующий эффект.

Объектом воздействия служили клетки *E. coli* М-17. Облучение суспензии клеток, полученной смывом 18-часового косяка (исходная концентра-

ция 104 кл/мл), ЭМП СВЧ-диапазона проводили при 37°C в кюветках из фторопласта, помещенных в волноводную ячейку сечением 35×15 мм, при следующих условиях: несущая частота 9.372 ГГц, плотность потока мощностью от 3.4 до 27.2 мВ/см², время экспозиции 60 мин [Монич и др., 2010; Titova et al., 2013].

В [Чиж и др., 2011] обнаружено, что эффект воздействия ионизирующих излучений на микроорганизмы зависит от величины поглощенной дозы. В малых дозах проявляется стимулирующее действие (эффект радиационного гормезиса). Повышение выживаемости бактерий под действием СВЧ отмечалось в различных работах: в малых дозах (при времени экспозиции порядка одного клеточного цикла) и при низкой плотности потока мощности проявляется стимулирующее действие – эффект электромагнитного гормезиса. Гормезис может быть вызван полями разного диапазона частот, не только СВЧ.

Деление *E. coli* под воздействием ЭМП с частотами 8.55 и 9.22 ГГц ускоряется примерно на 30%

В [Гераськин, Казьмин, 1995] обнаружено как снижение скорости деления клеток под воздействием СВЧ, так и повышение.

В [Козьмин, Егорова, 2006] также обнаружено повышение выживаемости *E. coli* при кратковременном воздействии СВЧ ЭМП.

В [Ихлов и др., 2016] получено повышение выживаемости *E. coli* ATCC 25992 на 70–87% при одно-временном воздействии СВЧ и дневного света.

Материалы и методы

Может ли наблюдаться гормезис для других типов бактерий, кроме *E. coli*?

Для проверки использовался лабораторный штамм *M. avium* 104 (subsp. *hominissuis*), подобный по структуре *Mycobacterium tuberculosis*. В качестве подопытного, данный штамм был выделен из крови ВИЧ-инфицированных. Безопасный для здорового человека, штамм вызывает гибель ВИЧ-инфицированных.

Штамм *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv (*Pasteur*) ATCC 25618 получен из государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных структур «ГКПМ-ОБОЛЕНСК» ФБУН ГНЦ ПМБ. Культура тест-микроба свежая, 4-дневная.

Данные штаммы выбраны в связи с тем, что при лечении туберкулеза в качестве вспомогательного используется СВЧ-разогрев (СМВ- и ДМВ-терапия), соответственно, необходимо знать, какие могут возникнуть ограничения на его применение.

Подготовка штаммов и обработка результатов проводились по методике, изложенной в [Маслов, Одинцова, 1997].

Воздействие ЭМП с частотой, резонансной соб-

ственной частоте крутильных колебаний спирали ДНК, приводит к тому, что ДНК не реплицируется, деление клетки оказывается неподготовленным, и клетка погибает.

Нуклеотидная последовательность хромосомной ДНК данного штамма состоит из 5 475 491 пар нуклеотидов [Бородулин, Бородулина, 2006].

Соответствующая частота крутильных колебаний [Ихлов и др., 2016]:

$$\omega = 21,75 \cdot \sqrt{BP} \text{ ГГц}, \quad (1)$$

где BP – число пар нуклеотидов в ДНК. Отсюда резонансная частота крутильных колебаний данной молекулы ДНК – 9,3 ГГц. Цикл клеточного деления – 1 ч.

Источником СВЧ-излучения служил генератор Agilent Technologies E82570 1. Опытный и контрольный штаммы изолировались от воздействия дневного света. Плотность потока мощности – 2.5 мВт/см². Время экспозиции подбиралось из следующих соображений: цикл деления *E. coli* – не более 30 мин., эксперимент [Ихлов и др., 2016] показал, что 150 мин. экспозиции недостаточно, чтобы преодолеть сопротивляемость штамма *E. coli*, но достаточно шести циклов деления, т.е. трех часов, чтобы выживаемость снизилась на 80%. Отсюда максимальное время экспозиции выбрали равным 1 ч. × 6 = 6 ч.

Клеточный цикл палочек Коха – 14–19 ч., соответственно. максимальное время облучения – свыше 104 ч., выбрано 114 ч.

Число повторов экспериментов – 6.

Результаты

Культуры *M. avium* 104 и *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv растирали стеклянными бусами в питательной жидкой среде Middlbrook 7H9 с помощью *Vortex*. Отстаивали 10 мин. Переносили в стерильную пробирку и доводили питательной жидкой средой *Middlbrook 7H9* по стандарту мутности № 5 ГНИИСК (5 × 10⁸ КОЕ/мл). Разводили 10 раз. Стеклянные пробирки диаметром 15.5 мм и с толщиной стенки 1 мм тщательно закрывали стерильными резиновыми пробками. Высота столба жидкости с микроорганизмами – 10 см. Для предохранения использовали защитные медицинские маски и перчатки, а также специальный раствор, уничтожающий микобактерии.

В таблице 1 приведены усредненные данные по выживаемости *M. avium* 104 в зависимости от времени экспозиции; поскольку число экспериментов невелико, математическая обработка данных не проводилась. Из данных этой таблицы видно, что в начале экспозиции происходит резкий рост культуры, через 3 ч. СВЧ-поле снижает число колоний до контрольного, через 5 ч. – до 5–12.5%, а за 6 клеточных циклов уничтожает *M. avium* пол-

ностью.

Таблица 1

Выживаемость *M. avium* 104 в зависимости от времени экспозиции поля

Экспозиция, час	1	2	3	4	5	6
Выживаемость, %	174	121	102	28	8	0

Из данных табл. 2 видим, что в начале экспозиции происходит рост культуры.

Таблица 2

Выживаемость *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* в зависимости от времени экспозиции поля

Экспозиция, час	19	72	114
Выживаемость, %	172.7	125	0,1

Повышение выживаемости за короткое время экспозиции объясняется стимуляцией метаболизма бактерий.

Возникает вопрос: почему же на резонансной частоте, которая гасит репликацию ДНК и заставляет бактерию откладывать на некоторое время деление, на первом клеточном цикле выживаемость все же возрастает, пусть меньше, чем на нерезонансных частотах?

Можно было бы предположить, что эффект вызван тепловым разогревом. Но гормезис наблюдается и при нетепловых плотностях потока мощности СВЧ.

То, что гормезис при действии СВЧ на первом клеточном цикле проявляется, как у *E. coli*, так и у *M. avium* 104 и *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*, причем одинаково, говорит о том, что механизм данного типа гормезиса – единый. Скорее всего, авторы [Гераськин, Казьмин, 1995] оценивали не увеличение частоты делений, а увеличение выживаемости. После экспоненциальной фазы выживаемость бактерий выходит на плато, когда число удвоившихся бактерий ровно компенсируется числом погибших. Единственным разумным, не противоречащим эксперименту и логике предположением, может быть следующее: на первом клеточном цикле СВЧ заставляет часть бактерии, готовых к делению, отложить его. Ту же часть бактерий, которые должны погибнуть, то есть, те, которые не собирались удваиваться с репликацией ДНК, СВЧ предохраняет от гибели. Эта своего рода стабилизация касается ДНК в хромосоме, которая ускоряет метаболизм клетки.

Как показано С.С Антиповым [2007], облучение суспензии клеток *E. coli* ЭМП СВЧ сопровождается дифференциальными изменениями в уровне экспрессии генов *groS*, *groH*, *groA*, *groB*, *dps* и *hns*. Возможно, именно это приводит к резкому снижению смертности бактерий при воздействии поля в течение первого (что существенно) клеточного цикла.

Если же частота нерезонансная, действие СВЧ

может вызвать какие-либо продольные, изгибные колебания в ДНК, крутильные колебания кольца ДНК как целого или крутильные колебания половинок, четвертей и т.д. кольца ДНК и привести к уменьшению клеточного цикла, т.е. к ускорению деления бактерий – так же за счет экспрессии генов. Эксперимент показывает значительно меньший всплеск выживаемости на резонансной частоте.

Затем экспрессия генов прекращается, и воздействие СВЧ приводит к снижению выживаемости.

Составим математическую модель рассматриваемого явления. В естественных условиях изменение численности популяции бактерий $N(t)$, размножающихся делением, обычно описывают нелинейным дифференциальным уравнением Ферхюльста [Фурсова, Тёрлова, Ризниченко, 2008]:

$$\dot{N}(t) = \frac{1}{\tau} N(t) \cdot \left(1 - \frac{N(t)}{K} \right), \quad (2)$$

где τ – характерное время экспоненциального роста популяции, а параметр K является ёмкостью среды, соответствующей максимально достижимой численности популяции.

Для описания влияния внешнего воздействия введём два параметра, зависящих от времени: $p_1(t) \geq 0$ и $p_2(t) \geq 0$. Математическую модель представим в виде модифицированного уравнения Ферхюльста:

$$\dot{N}(t) = \frac{1}{\tau} N(t) \cdot \left(p_1(t) - p_2(t) \cdot \frac{N(t)}{K} \right). \quad (3)$$

По смыслу уравнения (3) параметр p_1 является параметром роста, а параметр p_2 – параметром гибели микроорганизмов.

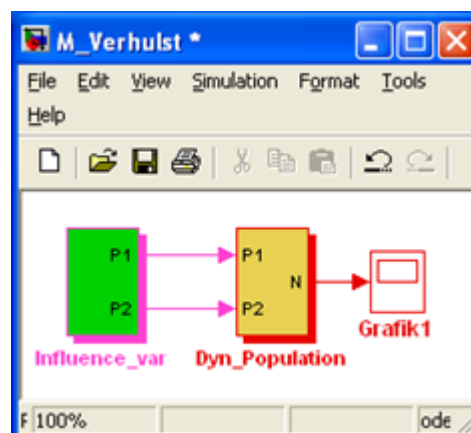


Рис. 1. S-модель динамики популяций

В отсутствие внешнего воздействия $p_1 = p_2 = 1$, поэтому решение уравнения (3) совпадает с решением уравнения (2), график которого называют логистической кривой Ферхюльста. Внешнее воздействие в экспериментах начиналось, когда численность популяции выходила на плато и равнялась ёмкости среды K .

Динамику численности популяции под влиянием внешнего воздействия исследовали с помощью компьютерной модели $M_Verhulst$, созданной в среде MATLAB с пакетом расширения Simulink [Ощепков, 2018] (см. рис. 1). Блок “*Dyn_Popula-*

tion” реализует решение уравнения (3), блок “*Influence_var*” формирует переменные параметры p_1 и p_2 , характеризующие внешнее воздействие.

Для описания результатов экспериментов можно предложить следующую динамику изменения параметров модели: в начале воздействия резко (скачком) возрастает параметр роста p_1 , который постепенно приходит в норму, а затем начинает увеличиваться параметр гибели p_2 , который возрастает до некоторого предельного значения. Пример такого поведения параметров, реализованного в S-модели в виде циклограмм, приведен на рис. 2.

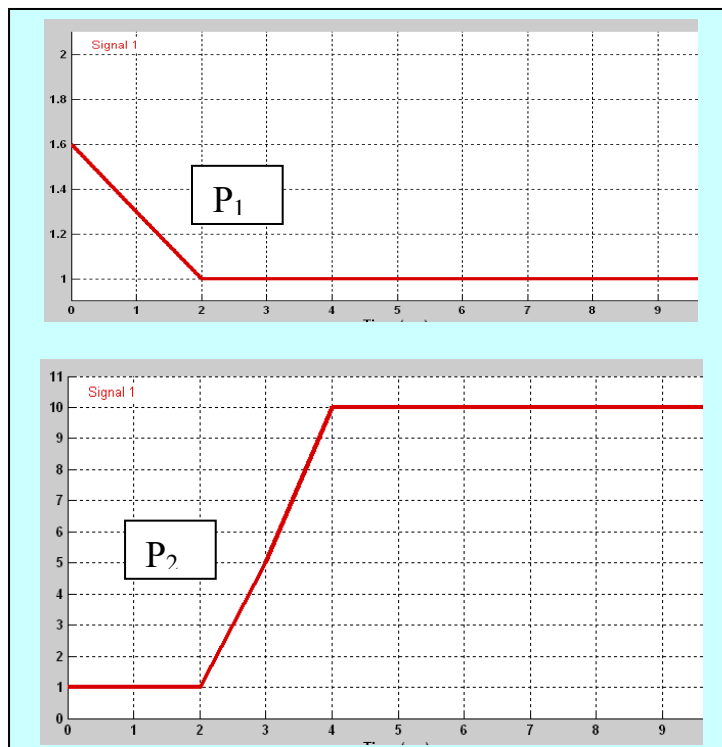


Рис. 2. Циклограммы изменения параметров при моделировании действия микроволнового облучения малой мощности

Результаты моделирования в графическом виде изображены на рис. 3.

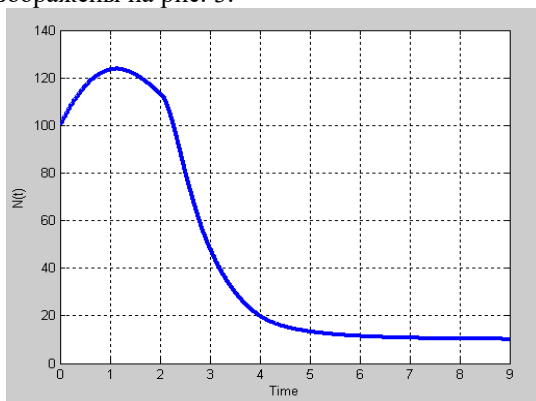


Рис. 3. Динамика численности популяции при изменении параметров и в соответствии с циклограммой, приведенной на рис. 2

По оси ординат приведена численность популяции в процентах от величины K , по оси абсцисс – время, измеряемое в циклах деления.

Из графика следует, что участок гормезиса составляет 2 цикла деления, затем начинается уменьшение численности популяции. По истечении срока действия 6 циклов деления, численность выходит на стационарный уровень (в данной реализации модели – 10% от начального значения).

Как видим, динамика численности популяции, изображенная на рис. 3, качественно полностью соответствует экспериментальным данным, приведенным в табл. 1–2. Таким образом, подтверждается вышеприведённая гипотеза, объясняющая явление гормезиса и последующего уменьшения численности бактерий под влиянием электромагнитного поля малой мощности. Отметим также, что количественные динамические характеристики

различны для разных бактерий, следовательно, применяя уравнение (3) для экстраполяции экспериментальных данных с помощью разработанной S-модели, можно детально исследовать влияние нетеплового СВЧ-излучения на различные микроорганизмы.

В настоящее время в мировой литературе широко обсуждается эффект гормезиса под влиянием различного рода излучений (см., например, Z. Jaworowski [2010]), в том числе, исследуется негативное воздействие на человека СВЧ в диапазоне мобильной связи. Но есть также возможности как для полезного использования эффекта гормезиса, так и для формулирования различных рекомендаций в медицине.

Повышение выживаемости бактерий под действием слабого электромагнитного поля можно использовать, например, для увеличения массы бактериальных культур, необходимых в различных сферах: фармакологии, медицине, пищевой промышленности. Модифицированное уравнение Ферхюльста позволит установить характеристики и время внешних воздействий для гормезиса.

В СМВ- и ДМВ-терапии есть ограничения по времени экспозиции. Но поскольку гормезис микобактерий возникает уже при нетепловом уровне СВЧ, это время должно быть уменьшено с 15–20 мин. по крайней мере до 8–10 мин.

Библиографический список

- Антипов С.С. Влияние ЭМИ СВЧ на регуляторные системы *Escherichia coli*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пушино, 2007. 22 с.
- Бородулин Б.Е., Бородулина Е.А. Фтизиатрия. М., 2006. 240 с.
- Гераськин С.А., Казьмин Г.В. Оценка последствий воздействия физических факторов на природные и аграрные экологические системы // Экология. 1995. № 6. С. 419–423.
- Ихлов Б.Л. и др. О влиянии электромагнитного поля высокой частоты на *E. coli* // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 5. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=25259> (дата обращения: 05.10.2017).
- Козьмин Г.В., Егорова В.И. Устойчивость биоценозов в условиях изменяющихся электромагнитных свойств биосферы // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2006. № 3. С. 61–72.
- Маслов Ю.Н., Одинцова О.В. Экономичный метод количественного учета микроорганизмов // Пермский медицинский журнал. 1997. № 1. С. 99.
- Монич В.А. и др. Особенности воздействия низкочастотных электромагнитных излучений различных диапазонов на микроорганизмы // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2010. № 2. С. 435–438.
- Ощепков А.Ю. Компьютерная модель для исследования динамики популяций микроорганизмов при наличии внешних управляющих воздействий // Вестник Пермского университета. Сер. Информационные системы и технологии. 2018. Вып. 1. С. 40–45.
- Фурсова П.В., Тёрлова Л.Д., Ризниченко Г.Ю. Математические модели в биологии. М; Ижевск, 2008. 100 с.
- Чиж Т.В. и др. Радиационная обработка как технологический прием в целях повышения уровня продовольственной безопасности // Вестник РАЕН. 2011. Т. 11, № 4. С. 44–49.
- Jaworowski Z. Radiation hormesis as a remedy for fear // Hum. Exp. Toxicol. 2010. Vol. 29. P. 263–270.
- Tiphlova O.A., Karu T.J. Stimulation of *Escherichia coli* division by low-intensity monochromatic visible light // Photochem. Photobiol. 1988. Vol. 48, № 1. P. 467–471.
- Titova L.V. et al. Intense THz pulses down regulate genes associated with skin cancer and psoriasis: a new therapeutic avenue? // Sci. Rep. 2013. Vol. 3. DOI: 10.1038/srep02363.

References

- Antipov S.S. *Vlijanie ÈMI SVČ na reguljatornye sistemy Escherichia coli*. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [Influence of microwave EMR on regulatory systems. Abstract Cand. Diss.]. Pušćino, 2007. 22 p. (In Russ.).
- Borodulin B.E., Borodulina E.A. *Ftiziatrija* [Phthiology]. Moscow, 2006. 240 p. (In Russ.).
- Geras'kin S.A., Kaz'min G.V. [Assessment of the impact of physical factors on natural and agricultural ecological systems]. *Èkologija*. N 6 (1995): pp. 419-423. (In Russ.).
- Ikhlov B.L. et al. [On the effect of a high-frequency electromagnetic field on *E. coli*]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija*. N 5 (2016). Available at: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=25259> (accessed 05.10.2017). (In Russ.).
- Koz'min G.V., Egorova V.I. [Stability of biocenoses in conditions of changing electromagnetic properties of the biosphere]. *Biomedicinskie tehnologii i radioèlektronika*. N 3 (2006): pp. 61-72. (In Russ.).
- Maslov Ju.N., Odincova O.V. [Cost-effective method for quantitative accounting of microorganisms]. *Permskij medicinskij žurnal*. N 1 (1997): p. 99. (In Russ.).
- Monich V.A. et al. [Features of the impact of low-intensity electromagnetic radiation of various ranges on microorganisms]. *Vestnik Nižegorodskogo universiteta imeni N.I. Lobačevskogo*. N 2 (2010): pp. 435-438. (In Russ.).
- Oshchepkov A.Yu. [Computer model for studying the dynamics of microbial populations in the presence

- of external control actions]. *Vestnik Permskogo universiteta. Informacionnye sistemy I tehnologii*. Iss. 1 (2018): pp. 40-45. (In Russ.).
- Fursova P.V., Terlova L.D., Riznicenko G.Ju. *Matematičeskie modeli v biologii* [Mathematical models in biology]. Moscow, Iževsk, 2008. 100 p. (In Russ.).
- Chizh T.V. et al. [Radiation treatment as a technological technique for improving food security]. *Vestnik RAEN*. V. 11, N 4 (2011): pp. 44-49. (In Russ.).
- Jaworowski Z. Radiation hormesis as a remedy for fear. *Hum. Exp. Toxicol*. V. 29 (2010): pp. 263-270.
- Tiphlova O.A., Karu T.J. Stimulation of *Escherichia coli* division by low-intensity monochromatic visible light. *Photochem. Photobiol*. V. 48, N 1 (1988): pp. 467-471.
- Titova L.V. et al. Intense THz pulses down regulate genes associated with skin cancer and psoriasis: a new therapeutic avenue? *Sci. Rep*. V. 3 (2013). DOI: 10.1038/srep02363.

Поступила в редакцию 12.02.2020

Об авторах

Ихлов Борис Лазаревич, ведущий инженер-исследователь
ФГУП «ОКБ «Маяк»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4744-7064>
614990, Пермь, ул. Данщина, 19;
boris.ichlov@gmail.com; +7-9194540358

Вольхин Игорь Львович, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры радиоэлектроники и защиты информации ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614990, Пермь, ул. Букирева, 15;
volkhin@psu.ru; +7-9048430249

Ощепков Александр Юрьевич, кандидат физико-математических наук, доцент, директор ФГУП «ОКБ «Маяк»
614990, Пермь, ул. Данщина, 19; aos57@mail.ru;
+7-9124837636

About the authors

Ikhlov Boris Laarevich, lead research engineer
Special design bureau “Mayak”.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4744-7064>
19, Danščina str., Perm, Russia, 614990;
boris.ichlov@gmail.com; +7-9194540358

Volkhin Igor L’vovich, associate Professor of the Department of radio electronics and information security
Perm State State University.
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990;
volkhin@psu.ru; +7-9048430249

Oshchepkov Alexandr Yur’evich, candidate of physical and mathematical Sciences, director
Special design bureau “Mayak”.
19, Danščina str., Perm, Russia, 614990;
aos57@mail.ru; +7-9124837636

Информация для цитирования:

Ихлов Б.Л., Вольхин И.Л., Ощепков А.Ю. Исследование влияния электромагнитного поля на жизнеспособность микробактерий // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2020. Вып. 2. С. 109–114. DOI: 10.17072/1994-9952-2020-2-109-114.

Ikhlov B.L., Volkhin I.L., Oshchepkov A.Yu. [Experimental studies and computer modeling of the homesis of microorganisms by irradiation of the electromagnetic field]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2020): pp. 109-114. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2020-2-109-114.

