

УДК 615.33; УДК 577.32+537.876.4

О ВОЗМОЖНОСТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ
АНТИБИОТИКОВ

Ихлов Борис Лазаревич, К.ф.м.н., ведущий инженер-исследователь
Пермский государственный национальный
исследовательский университет, Пермь
boris.ichlov@gmail.com

Аннотация. Получена формула для собственной частоты крутильных колебаний спирали ДНК. Произведен анализ данных зависимости выживаемости *E. coli* от времени облучения сантиметровыми волнами, определен численный коэффициент в полученной формуле. По данной формуле найдена резонансная частота для ДНК другого штамма *E. coli*. При облучении сантиметровыми волнами данной частоты получено существенное снижение выживаемости другого штамма *E. coli*. Аналогичные эксперименты на трех других бактериальных культурах подтвердили справедливость полученной формулы.

Ключевые слова: микроволны, ДНК, резонанс, выживаемость

ABOUT THE POSSIBILITY OF IMPROVING EFFICIENCY
ANTIBIOTICS

Ikhlov B. L.

Perm State National Research University

Annotation. The formula for the natural frequency of torsional vibrations of the DNA helix is obtained. The data on the dependence of *E. coli* survival on the time of exposure to centimeter waves were analyzed, the numerical coefficient in the resulting formula was determined. According to this formula, the resonant frequency for the DNA of another strain of *E. coli* was found. When irradiated with centimeter waves of this frequency, a significant decrease in the survival rate of another strain of *E. coli* was obtained. Similar experiments on three other bacterial cultures confirmed the validity of the formula obtained.

Keywords: microwaves, DNA, resonance, survival

Введение

В 95% случаев инфекционного цистита его возбудителем является кишечная палочка. Для ее подавления используют различные антибиотики, канаферон (Германия), цистон (Индия), «5-НОК» (Россия) и т.д. Однако цистит может перейти в хроническую форму, либо бактерии мутируют, приобретая иммунитет к антибиотикам, либо образуют устойчивые к лекарствам бактериальные пленки. Итогом у женщин может стать бесплодие.

Проблема привыкания патогенных бактерий к антибиотикам имеет общий характер. Поэтому актуальной является задача создания такой системы лечения, которая бы исключала привыкание бактерий к лекарствам. Одним из направлений решения данной проблемы является применение сантиметрового электромагнитного излучения.

Действию электромагнитных волн на бактерии, включая видимый диапазон, УФ, ИК, крайне высокочастотный (КВЧ) и диапазон терагерц, посвящена обширная литература. Бактерицидное действие сантиметровых волн (сверхвысокочастотных, СВЧ) на среды с кишечными палочками было обнаружено еще в 1958 году [1]. Экологический аспект влияния СВЧ на бактерии рассмотрен в [2].

В [3] авторы исследовали воздействие электромагнитного поля (ЭМП) частотой 136 Гц на штамм *E. Coli B* и пришли к выводу, что ЭМП данной частоты ингибирует деление клеток *E. Coli*, не вызывая их гибели. В [4] показано, что воздействие СВЧ ЭМП порядка нескольких десятков гигагерц на короткие ДНК лимфоцитов приводит к резкому увеличению числа однонитевых разрывов ДНК, механизм воздействия не раскрыт. В [5] предполагается, что «молекулярная структура носителей генетической информации представляет собой спиральный резонатор или цепочку большого количества сильно связанных колебательных контуров. В итоге воздействия высокочастотного поля генетическая информация не может быть считана, что приводит к потере репродуктивной функции биологического объекта». Действительно, в ДНК, как в соленоиде, может возникнуть паразитный

резонанс, ведь в ДНК – система обобщенных π -связей. Однако расчет показывает, что это предположение неверно. Частота свободных колебаний контура $f = 1 / T$, где T – период колебаний, или $f = 1/2\pi\sqrt{LC}$. Индуктивность соленоида $L = \mu_0\mu_r s_e N^2 / l_e$, где μ_0 — магнитная постоянная, μ_r — относительная магнитная проницаемость, материала сердечника (зависит от частоты), s_e - площадь сечения сердечника, l_e - длина средней линии сердечника, N - число витков. Магнитная постоянная $\mu_0 \approx 10^{-6}$ Гн/м. Т.к. нужно оценить лишь порядок величины, можем считать, не пользуясь таблицами, что собственная емкость однослойной катушки в виде ДНК в пФ численно приблизительно равна радиусу «намотки» в см. Диаметр витка ДНК – 2 нм, площадь $3,14 \times 10^{-38}$. паразитная емкость 10^{-7} см, пикофард = 10^{-19} фарад. Длина ДНК кишечной палочки $\sim 10^{-3}$ м. Шаг спирали - $3,4 \times 10^{-9}$ м. Число витков = длина/размер шага. Тогда паразитный резонанс ДНК $f \sim (0,584... 29,20) \times 10^{24}$ Гц, что превышает частоту гамма-излучения 10^{19} Гц, т.е. паразитный резонанс ДНК на частотах порядка 10 ГГц отсутствует.

В качестве механизма адаптации клеток *E. Coli* к СВЧ ЭМП в [6], где на клетки *E. coli* воздействовали нетепловым ЭМП от 8,5 ГГц до 18 ГГц при экспозиции 5-110 минут, было предложено влияние ЭМП СВЧ на экспрессию конкретных генов ДНК *E. coli*.

Теоретическое определение резонанса

Возбужденная пикосекундным лазером ДНК испускает СВЧ электромагнитные волны, связанные с крутильными колебаниями ее спирали [7]. Частоту оценили в несколько гигагерц. Т.е. ДНК должна и поглощать электромагнитные волны в этом диапазоне.

Поскольку спираль ДНК имеет собственную частоту крутильных колебаний, внешнее воздействие на ДНК ЭМП с частотой, равной собственной частоте колебаний ее спирали, вызовет резонанс, который мешает подготовке клетки к митозу и ведет к ее гибели.

Кольцевая ДНК кишечной палочки сверхспирализуется, что характерно для кольцевых ДНК. Перед репликацией ДНК клетка разворачивает сверхспираль, в том числе для того, чтобы «проверить» целостность макромолекулы, налипло ли на ней что-либо ненужное и т.п. Если ДНК повреждена, клетка «откладывает» деление и залечивает ДНК. Если же начинает действовать ЭМП СВЧ, ДНК начинает сворачиваться обратно в сверхспираль. Таким образом, СВЧ препятствует разведению сверхспирали, репликация задерживается, и клетка откладывает деление. Откладывать деление бесконечно невозможно, потому клетка погибает после некоторого характерного времени, превышающего время клеточного цикла.

Макромолекулы нуклеиновых кислот являются природными полиамфолитами. Пары пуриновых и пиримидиновых оснований аденин-тимин (А-Т) и гуанин-цитозин (Г-Ц), образующие полинуклеотидную цепь ДНК, как асимметричные образования, являются диполями. Таким образом, спираль ДНК – это система разнонаправленных диполей.

Энергия электромагнитной волны $E = h\nu$, где $h = 6,63 \cdot 10^{-34}$ Дж·с – постоянная Планка, ν – частота в герцах. Для СВЧ-излучения при $\nu = 1-20$ ГГц эта энергия составляет $(0,7 - 13)10^{-24}$ Дж или $(0,4 - 8)10^{-5}$ эВ, что на 3 порядка меньше тепловой энергии $kT = 0,03$ эВ ($k = 1,38 \times 10^{-23}$ К⁻¹ х Дж – постоянная Больцмана, $T = 300$ К – комнатная температура), на 4 порядка меньше энергии водородной связи, составляющей 0,1 эВ, на 5 порядков меньше энергии ковалентной связи (1–10) эВ. Но энергии СВЧ хватает для возбуждения вращательных уровней основного электронно-колебательного состояния некоторых молекул.

Молекула ДНК состоит из миллиардов атомов, поэтому воздействие СВЧ на ДНК имеет не квантовый, а классический характер. Гипотеза «белок-машина» предполагает, что ЭМП приводит к возбуждению колебаний макромолекулы как сплошного тела, эти колебания передаются отдельным фрагментам молекулы, принудительное движение которых («качание») препятствует образованию необходимых связей [8]. В классическом приближении действие ЭМП на ДНК описывается вектором Умова-Пойнтинга \mathbf{S} – вектором плотности потока энергии ЭМП через единичную площадь, нормальную к \mathbf{S} , в единицу времени (иначе – плотностью потока мощности):

$$\vec{S} = [\vec{E}, \vec{H}]$$

где E и H — вектора напряжённости электрического и магнитного полей соответственно. В [7] испускаемая волна вызывается колебаниями системы элементарных диполей (осцилляторов Герца), расположенных по длине ДНК кишечной палочки. Эта же система диполей взаимодействует с электрическим полем \mathbf{E} в векторе \mathbf{S} падающей волны. Используемые нетепловые плотности потока мощности – порядка $0,1 \text{ мВт/см}^2$ – вполне достаточны для возбуждения крутильных колебаний спирали ДНК.

Крутильные колебания ДНК были промоделированы в [9], где для 400 пар нуклеотидов показано, что в спектре колебаний молекулы присутствуют частоты в районе 1 ТГц, им соответствуют акустические крутильные колебания цепи ДНК. Формулы для собственной частота крутильных колебаний изогнутой спирали крайне сложна, частота не выражается явно. Кроме того, неизвестна жесткость спирали ДНК, которая зависит от компактизации ДНК. Для упрощения используется модель ДНК как упругого одинарного стержня. То, что ДНК при скручивании ведет себя именно как стержень, показано в [10, 11].

Вместо уравнения Шредингера, выражение для собственной частоты, можно получить из уравнений Лагранжа

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial L}{\partial \dot{q}_i} - \frac{\partial L}{\partial q_i} = 0, i = 1, 2, \dots, n, \quad (1)$$

где L – функция Лагранжа системы с n степенями свободы определяется через кинетическую энергию T и потенциальную энергию U :

$$L(q, \dot{q}) = T(q, \dot{q}) - U(q). \quad (2)$$

Здесь q, \dot{q} - векторы обобщенных координат и обобщенных скоростей.

Рассмотрим стержень с двумя закручивающимися дисками на концах. Такая модель соответствует закручиванию спирали ДНК. Обозначим жёсткость стержня на кручение через G ; моменты инерции дисков относительно продольной оси системы – через J_1 и J_2 . В качестве обобщённых координат принимаем углы поворотов дисков φ_1 и φ_2 относительно некоторого начального положения, в котором стержень не закручен. Функция Лагранжа (2) для рассматриваемой модели примет вид

$$L = \frac{J_1 \dot{\varphi}_1^2}{2} + \frac{J_2 \dot{\varphi}_2^2}{2} - \frac{G \cdot (\varphi_2 - \varphi_1)^2}{2} \quad (3)$$

Подставляя (3) в (1), получим систему дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned} J_1 \ddot{\varphi}_1 - G \cdot (\varphi_2 - \varphi_1) &= 0, \\ J_2 \ddot{\varphi}_2 + G \cdot (\varphi_2 - \varphi_1) &= 0. \end{aligned} \quad (4)$$

Решение системы (4) ищется в виде

$$\varphi_j = A_j \cdot e^{i\omega t}, \quad j=1,2. \quad (5)$$

Подстановка (5) в уравнения (4) приводит к однородной системе алгебраических уравнений для определения коэффициентов A_j , которая имеет решения только при определенных значениях частоты ω . Последняя должна определяться из условия

$$J_1 J_2 \omega^4 - (J_1 G + J_2 G) \omega^2 = 0. \quad (6)$$

Биквадратное уравнение (6) имеет решения:

$$\omega_1 = 0, \quad \omega_2 = \sqrt{G \frac{J_1 + J_2}{J_1 J_2}}. \quad (7)$$

Нулевая частота в силу вырожденности системы, соответствует решению, которое описывает равномерное вращение всей системы как жёсткого целого (без закручивания стержня). Второе значение частоты в (7) и есть искомая

собственная частота. Предполагая молекулу симметричной, т.е. полагая $J_1 = J_2 = J$, окончательно получим для линейной частоты $f = \frac{\omega}{2\pi}$ выражение, аналогичное выражению для частоты крутильных колебаний пружинного маятника

$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{2G}{J}} \quad (8)$$

где J - момент инерции спирали ДНК относительно оси, проходящей через центры ее витков. Из формулы (8) следует чрезвычайно важный для последующих рассуждений вывод. Дело в том, что величина J пропорциональна длине молекулы, т.е. пропорциональна числу пар нуклеотидов N . Таким образом, резонансная частота ЭМП должна быть обратно пропорциональна корню квадратному из N :

$$f = kN^{-1/2} \quad (9)$$

где коэффициент k , через который можно найти коэффициент жесткости ДНК относительно крутильных колебаний, определяется эмпирически. Это общая формула крутильных колебаний любых ДНК. Коэффициент k интегральным образом включает в себя компактизацию спирали ДНК.

ДНК бактерий не линейны, они замкнуты. Однако формула (9) остается справедливой в виду соотношения $d \ll L$, где d - диаметр спирали ДНК, L - ее длина. Отметим, что в уравнениях не учтено окружение ДНК, эффективное трение, которое должно приводить к снижению частоты вынуждающей силы.

Экспериментальное определение резонанса

В [12] было исследовано воздействие СВЧ в диапазоне от 8,82 ГГц до 10,4 ГГц при плотности потока мощности 0,2 мВт/см² на клетки мутантного штамма *E. Coli hcr' exr'*, получено достоверное снижение выживаемости *E. Coli hcr' exr'* более чем на 50%.

Пересчитаем зависимость выживаемости *E. coli* от времени облучения ЭМП в [12] на зависимость выживаемости от частоты.

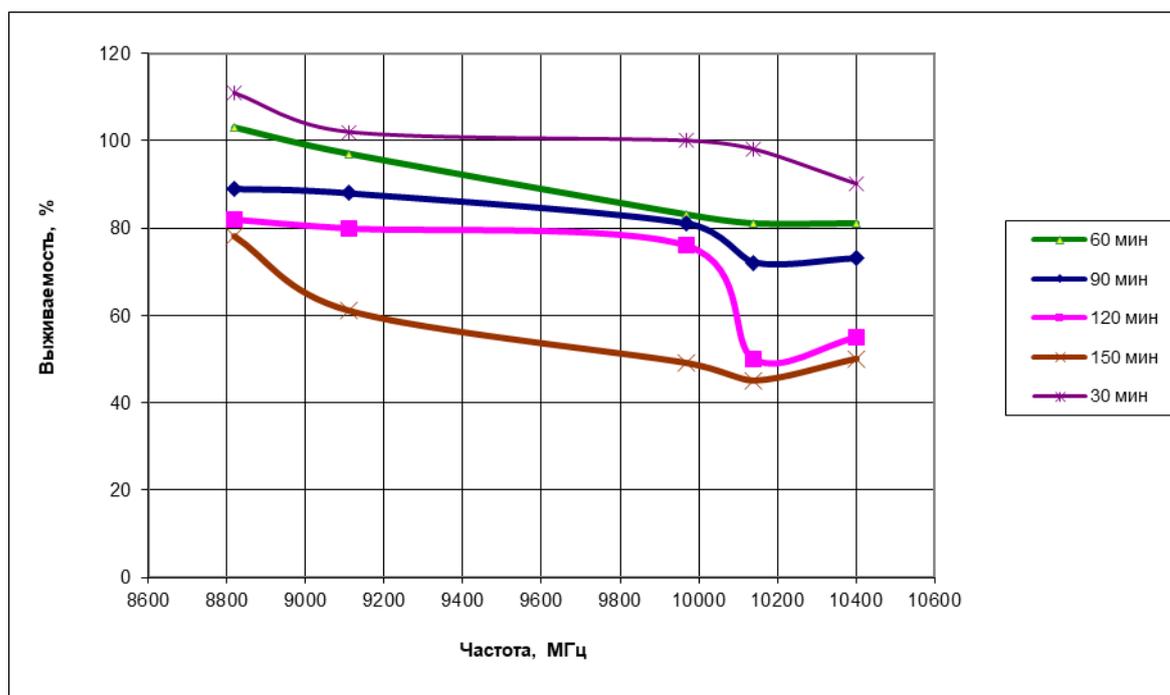


Рис. 1. Зависимость выживаемости *E. Coli hcr' exr'* от частоты ЭМП при различных временах экспозиции

Графики на Рис. 1 показывают, что при достижении определенного времени экспозиции (120 мин.) кривая приобретает отчетливый резонансный вид. Точка резонанса – 10,14 ГГц, на этой частоте

достигается максимальное снижение выживаемости. Зная эту частоту и длину ДНК *E. Coli hcr' exr'*, легко получить коэффициент $k = 21,75$. Таким образом, формула (9) полностью определена.

Для проверки метода облучению ЭМП СВЧ был подвергнут штамм *E. Coli* ATCC 25922. ДНК ATCC 25992 содержит 5 130 767 пар нуклеотидов. Тогда по формуле (9) собственная частота крутильных колебаний ее спирали - 9,6 ГГц.

В эксперименте использовалась суточная бульонная культура, готовились десятикратные разведения культуры в изотоническом растворе натрия хлорида: рабочее разведение 1:100 (10^{-2}) – контрольный и опытный образцы. Разведения культуры, подвергнутые СВЧ-воздействию (контрольные и опытные образцы), использовали для приготовления последовательных десятикратных разведений до 10^{-7} . Осуществляли посев газомом на плотную питательную среду (питательный агар) 0,1 мл разведений 10^{-6} и 10^{-7} контрольных и опытных образцов в двух повторах. Чашки помещали в термостат на 24 ч при

температуре 37°C. Учет результатов осуществляли путем подсчета колоний в чашках.

Источником микроволнового излучения служил генератор Agilent Technologies E82570 1, на диоде Ганна, создающем гармонические поляризованные колебания (волна Н₁₀ мощностью 1 Вт), направление вектора электрического поля \vec{E} расположено в вертикальной плоскости. Плотность потока мощности – нетепловая, не выше 2,5 мВт/см² с потерями не более 20%. Время экспозиции – 180 мин.

Пробирки изолировались черной бумагой с отсутствием тяжелых металлов в черной краске, чтобы не экранировать СВЧ ЭМП. Температура окружающей среды контролировалась термометром и изменялась при проведении каждого опыта не более чем на 0,5°C. В разные дни проведения экспериментов температура составляла от 19 до 24°C.

Зависимость выживаемости *E. coli* от нагревания

$$K = (N_0 - N_k) / N_k \Delta T$$

где N_0 – количество жизнеспособных клеток или инфекционных единиц в культуре при нагреве на 1°C в течение 60 мин, N_k – исходное количество жизнеспособных клеток или инфекционных единиц в культуре при начальной температуре, ΔT – изменение температуры при нагреве суспензии. Однако в нашем стационарном случае и при учете равных условий для контрольных и экспериментальных пробирок изменениями температуры можно пренебречь.

Были получены следующие результаты: на частотах 9,2 ГГц, 9,4 ГГц, 9,8 ГГц, 10 ГГц существенных изменений выживаемости не наблюдалось, на резонансной частоте 9,6 ГГц выживаемость снижалась до 22,5%.

Аналогичный эксперимент проведен с культурой *E. coli* M17 с длиной ДНК 4483110 bp. На частотах 9,8 ГГц, 10 ГГц, 10,4 ГГц изменений выживаемости в сравнении с контролем не обнаружено, на расчетной частоте 10,263 ГГц выживаемость понизилась до 28,7%.

Аналогичный эксперимент был проведен с культурами *M. Avium* 104 и *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_v (*Pasteur*) ATCC 25618. Культуры *M. Avium* 104 и *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_v растирали стеклянными бусами 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 (5×10^8 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. На частотах 9,8 ГГц, 10 ГГц, 10,5 ГГц изменений выживаемости *M. Avium* в сравнении с контролем не обнаружено, на расчетной частоте 10,31 ГГц наблюдалось снижение выживаемости практически до нуля.

На частотах 9,8 ГГц, 10,1 ГГц, 10,6 ГГц изменение выживаемости *Mycobacterium tuberculosis* не обнаружено, на расчетной частоте 10,36 ГГц наблюдалось снижение выживаемости до 0,1%.

Прямой эксперимент поглощения СВЧ ЭМП в культуре *E. coli* M17 показал, что максимум поглощения наблюдается на частоте 10,27 ГГц, что весьма близкой к рассчитанной по формуле (9) частоте 10,263 ГГц [13]. Отметим, что тот факт, что эффективными оказываются частоты, рассчитанные без эффективного трения ДНК, указывает, что это трение чрезвычайно мало.

Гармоники

В [14] было изучено влияние микроволн на репарацию радиационно-индуцированных разрывов ДНК в *E. coli* K12 AB1157 изучали методом зависимости аномальной вязкости от времени. Значительное ингибирование репарации ДНК было обнаружено, когда облученные рентгеном клетки подвергались воздействию MWs в диапазонах частот 51,62-51,84 ГГц и 41,25-41,50 ГГц. Эффект имел ярко выраженный резонансный характер с резонансными частотами 51,755 ГГц и 41,32 ГГц соответственно.

Их формулы (9) очевидно, что данные частоты не могут быть собственными частотами крутильных колебаний спирали ДНК *E. coli*, тем более, не может быть дополнительного близкого резонанса.

Длина *E. coli* K12 AB1157 - 5,11174 Мб, соответственно, собственная частота крутильных колебаний спирали ДНК – 9,620 ГГц. Но частота вынуждающей силы может быть обертоном, т.е. в n раз больше собственной частоты, где n - целое число.

Если цепь ДНК при рентгеновском облучении рвется пополам, то вдвое меньше длина и вдвое меньше пар нуклеотидов. В соответствии с формулой (1) собственная частота половинки ДНК – 13,6047 ГГц. С хорошей степенью точности $41,32 : 13,6047 = 3$. Дополнительный резонанс получается вследствие того, что цепь рвется не на равные части.

Из этого можно сделать вывод, что в дополнение к препятствию репликации и к односторонним разрывам есть еще один механизм снижения микроволнами выживаемости бактерий – ингибирование саморепарации ДНК вследствие возбуждения крутильных колебаний ДНК. Именно данный механизм играет главную роль в тех экспериментах, в которых бактериальные культуры находятся в физрастворе, то есть, увеличение числа односторонних разрывов маловероятно из-за того, что ДНК предохраняется оболочкой бактерии, а репликация практически отсутствует.

Заключение

Мы выяснили, что ЭМП сантиметрового диапазона, частота которого совпадает с собственной частотой крутильных колебаний спиралей ДНК патогенных бактерий, 1) препятствует репликации ДНК, что ведет к гибели бактерий, 2) резко увеличивает число односторонних разрывов цепи ДНК, 3) подавляет системы репарации ДНК. Метод может быть использован для подавления размножения любых клеток, как патогенных бактерий, так и клеток злокачественных новообразований. Может ли ЭМП СВЧ достигнуть очага поражения, например, туберкулезом или опухоли.

Глубина скин-эффекта обратно пропорциональна корню из проводимости. Для морской воды толщина скин-слоя менее 2 см, но соленость морской воды - 35%, а крови - 1%, при частотах порядка 0,1 кГц кровь ведет себя, как проводник, при СВЧ - как диэлектрик. Кроме выделенной резонансной частоты 2,4 ГГц (резонанс происходит на кластерах, прочие частоты в диапазоне СВЧ вода пропускает). Глубина проникновения теплового СВЧ ЭМП в тело человека - 8-12 см - для лечебного разогрева во фтизиатрии, который резко уменьшает толщину скин-слоя, делая ткани более проводящими. Нетепловое СВЧ-излучение свободно проходит через тело человека. Т.е. при лечении, например, инфекционного цистита использование СВЧ ЭМП может увеличить эффективность антибиотиков примерно в 5 раз, что позволит снизить их концентрацию. При этом привыкание бактерий к антибиотикам не наступает, т.к. СВЧ ЭМП подавляет систему адаптации бактерий.

Литература

1. Счастливая Н. И., Влияние радиоволн СВЧ на кишечную палочку, Труды Харьковского медицинского института, 1958, вып. 46, стр. 359.
2. Малиновская С. Л. и др. Влияние радиоволн на лизогенные клетки кишечной палочки и бактериофага. Вестник Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского, 2011, №2(2), С. 90-93.
3. Webb S.J., Dodds D.D. Inhibition of Bacterial Cell Growth by 136 gc. Microwaves. Nature, 1968. V. 218 P. 374-375.
4. Текуцкая Е. Е., Василяди Р. В. Структурные повреждения ДНК лимфоцитов периферической крови человека под воздействием физических факторов. Экология человека. 2017. №12. С. 9-14.
5. Кутовой В. А. и др. Высокочастотная технология защиты зерна от амбарных вредителей. Вопросы атомной науки и техники. 2001. №4 (80). С. 129-132.

6. Антипов С.С. Адаптивный ответ клеток *E. Coli* на воздействие ЭМИ СВЧ низкой интенсивности. Сборник тезисов конференции «Биология - наука XXI века». Пущино, 2005.

7. Аншелевич В. В. и др. ЖЭТФ, 1974. Т. 66. С. 2163-2173.

8. Гайдук В. И. и др. Перспективы изучения механизмов нетеплового воздействия электромагнитного излучения миллиметрового и субмиллиметрового диапазонов на биологически активные соединения. УФН, 1973. Т. 111. С. 466-469.

9. Ковалева Н. А. и др. РАН, Институт химической физики им. Н. Н. Семенова, «Низкочастотные локализованные колебания двойной спирали ДНК», препринт РАН, 2009.

10. Traves A. A., Thompson J. M. T. An Introduction of Mechanics of DNA. Philos. Transactions: Math., Phys. and Engineering Sciences. 2004. V. 362, №1820. P. 1265-1279. https://www.jstor.org/stable/4142413?seq=1#page_scan_tab_contents

11. Strick T., etc. Twisting and stretching single DNA molecules. Progress in Biophysics & Molecular Biology. 74, 2000, pp. 115 – 140.

12. Козьмин Г. В. и др. Устойчивость биоценозов в условиях изменяющихся электромагнитных свойств биосферы. Биомед. технологии и радиоэлектроника, 2006, №3, С. 61-72.

13. Ихлов Б. Л. и др. Резонансное поглощение микроволн молекулами ДНК. Радиационная биология. Радиоэкология. 2022. Т. 62. №6. С. 628–632.

14. Belyaev I. Non-thermal Biological Effects of Microwaves. Microwave Review, 2005. 11(2). P. 13-29.