

*<sup>1</sup>Богомольный Б.Р., <sup>1</sup>Барзинский В.П., <sup>2</sup>Гридина Т.Л., <sup>2</sup>Федчук А.С., <sup>2</sup>Мудрик Л.М.*

<sup>1</sup>Корпорация «Информационная медицина», Киев

<sup>2</sup>ГУ «Украинский научно-исследовательский противочумный институт им.И.И.Мечникова» МЗ Украины, ул. Церковная, 2/4, Одесса, Украина, 65003

## **ВЛИЯНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЙ С ПОМОЩЬЮ АППАРАТА «КСК-БАРС» НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ И РЕПРОДУКЦИЮ ВИРУСОВ**

Воздействие электромагнитных полей (ЭМП) на живые организмы сегодня занимает очень важное место в ряду изучаемых проблем в биологии, медицине и смежных науках.

ЭМП во всех частотных диапазонах в той или иной степени действуют на живые организмы. Описано влияние на различные физиологические процессы и свойства у микроорганизмов: клеточное деление, морфологические признаки, скорость роста, выход биомассы, ферментативную активность и др. [Баранский и др., 2007; Бауер и др., 1989; Ковальова, 2009; Ковалева, 2009; Gretz, 1989; Kudo Kozo et all, 1993]. При этом использовался, как правило, сигнал одной определенной частоты. При определенных частотах рост микроорганизмов угнетается полностью, вплоть до гибели колоний, в других случаях – стимулируется. Этот процесс плохо управляем в связи с действием множества факторов (частота сигнала, температурный режим, фаза роста микроорганизма и т.д.) [Алавердян и др., 1996; Готовский и др., 2000; Матрончик и др., 1996; Gretz, 1989]. Установлено, что воздействия электромагнитных полей меньшей мощности имеет информационный характер действия [Крыцын, 2009].

В открытой печати нами не найдено исследований по действию собственных спектров ЭМП в диапазонах сверхдлинных волн на микроорганизмы и вирусы. Такого плана исследования стали возможны с появлением нового класса приборов, позволяющих записывать и воспроизводить слабые ЭМП сверхмалой мощности в диапазонах сверхдлинных волн. К таким инструментам относится программно-аппаратный комплекс спектральной коррекции «КСК-БАРС». От-

личие от других приборов заключается в том, что регистрация электромагнитных колебаний в этом аппарате осуществляется в диапазоне сверхдлинных волн (менее 30 кГц). Это отличает его от многих других известных на сегодняшний день аппаратов, которые регистрируют в диапазоне КВЧ (30-80 ГГц) [Пат. України № 23476; Пат. РФ №76226].

Целью данного исследования было изучение влияния собственных спектров ЭМП сверхмалой мощности в диапазонах сверхдлинных волн на рост микроорганизмов и репродукцию вирусов.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние различных электромагнитных спектров (S-маркеры базы данных программы «КСК-БАРС» и аутоспектр микроорганизмов) в разных режимах воздействия на штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 2781, *Escherichia coli* ATCC 25922.

2. Изучить возможность влияния ЭМП сверхмалой мощности на репродукцию вируса гриппа A/Hong Kong/1/68(H3N2) *in vitro*.

3. Изучить возможность влияния на репродукцию вируса гепатита С у человека путем воздействия записанным ЭМП вируса.

### **Материал и методы**

Объекты исследования - штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 2781, *Escherichia coli* ATCC 25922, вирус гриппа A/Hong Kong/1/68 (H3N2) и пациенты, у которых выявлен вирус гепатита С.

Комплексом спектральной коррекции «КСК-БАРС» записывался электромагнитный сигнал сверхмалой мощности исследуемого объекта в частотном диапазоне от 20 Гц до 20 КГц, который с помощью оригинального математического аппарата анализировался и преобразовывался в электронный S-маркер, содержащий информационную характеристику исследуемого объекта [Пат. України 23476; Пат. РФ 76226]. При воспроизведении S-маркера, цифровой сигнал преобразовывался в аналоговый. Проводилось различное воздействие в зависимости от задач эксперимента.

Для проведения опыта выращивали суточную культуру микробов на твердых питательных средах. В качестве объекта для воздействия использовали разведения культур микроорганизмов в конечной концентрации  $10^9$  микробных клеток/мл на бульоне Мюллера-Хинтона объемом 25-30 мл.

На штаммах *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 были проведены эксперименты с воздействием на культуру микроорганизмов в жидкой питательной среде спектрами S-маркеров базы данных программы «КСК-БАРС», записанных ранее, и аутоспектрами объектов, записанными непосредственно перед воздействием. Однократное воздействие спектрами S-маркеров проводилось в течение 30 минут, аутоспектром в инверсном режиме в течение 5, 15 и 30 минут. На штаммы *Staphylococcus aureus* 2781 воздействие проводилось аутоспектром в инверсном режиме в течение 5 и 15 минут, а на штамм *Escherichia coli* ATCC 25922 – аутоспектром в инверсном режиме 15 минут.

Затем образцы размещали в 5 пробирок, измерялась исходная оптическая плотность взвеси микроорганизмов (по 3 измерения) и помещались пробирки в термостат. Контрольные образцы не обрабатывались сигналом. После инкубирования контрольных и опытных образцов на протяжении 24, 48 или 72 часов при  $37^{\circ}\text{C}$  определяли наличие и рост микроорганизмов по изменению оптической плотности среды в единицах мутности по МакФарланду (McFarland), которую регистрировали с помощью прибора Densi-La-Meter.

Для изучения влияния ЭМП сверхмалой мощности на репродукцию штамма вируса гриппа A/Hong Kong/1/68(H3N2) *in vitro* использовали общепринятые методики накопления вируса гриппа на куриных эмбрионах и определения противовирусной активности препаратов в отношении вирусов гриппа на культуре ткани ХАО [Стефанов, 2002; Мальцева и др., 1973].

Для накопления вируса использовали 9-11-дневные куриные эмбрионы, которые заражали инфекционным материалом в объеме 0,2 мл в амниотическую и аллантоисную полость. После этого эмбрионы инкубировали в термостате при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  48 часов. Стерильно отбирали аллантоисную жидкость, в которой определяли наличие вируса в реакции агглютинации (РГА), ис-

пользуя 1% взвесь куриных эритроцитов. Идентификацию вируса проводили с помощью РТГА с заранее известными антителами. Образцы аллантоисной вирусодержащей жидкости разливали по аликвотам, замораживали и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Перед опытом вирусодержащую жидкость размораживали и разводили до  $10^{-3}$  в глюкозо-желатиновой поддерживающей среде. С помощью аппарата «КСК-БАРС» воздействовали аутоспектральными полями объекта, записанными непосредственно перед воздействием на разведение вируса в инверсном режиме в течение 30 минут. Затем данный материал раститровывали от  $10^{-3}$  до  $10^{-9}$  и десятикратными разведениями инфицировали фрагменты ХАО, расположенные в полистирольных панелях. После термостатирования при  $37^{\circ}\text{C}$  определяли наличие вируса по результатам реакции гемагглютинации (РГА) через 8, 24 и 48 часов. Контроль поставлен аналогично опыту без обработки программно-аппаратным комплексом «КСК-БАРС».

Расчет 50% тканевой инфицирующей дозы - ТИД<sub>50</sub> проводили методом Кербера в модификации Ашмарина.

У пациентов проводилось количественное определение вируса гепатита С методом ПЦР «Real-Time» - РНК вируса гепатита С. Выделялись ПЦР-фрагменты РНК вируса и создавался оригинальный S-маркер вышеописанным методом. Воздействие на пациента проводилось один раз в неделю в инверсном режиме продолжительностью 30 мин. В процессе проведения воздействий проводилось количественное определение вируса гепатита С с интервалом один месяц и после окончания воздействий - через два месяца. Медикаментозного антивирусного лечения в период проведения исследования пациентам не проводилось.

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерных программ IBM SPSS Statistics 20 и Microsoft Excel 2007.

### **Результаты и их обсуждение**

Как показали результаты опытов (табл. 1), выявляется однотипная реакция микроорганизмов на воздействие. Регистрируется замедление роста микроорганизмов в опыте по сравнению с контролем.

Таблица 1.

## Оптическая плотность питательной среды в опыте и контроле

№ опыта	Наименование микроорганизма	Метод воздействия	Длительность воздействия	Время после воздействия (часы)		
				исх.	24 часа	48 часов
1	<i>St. aureus ATCC 25923</i>	маркер <i>St. aureus ATCC 25923</i>	контроль	0,44±0,01	4,76±0,04 *	6,53±0,05 *
			инв. 30 минут	0,40±0,02	4,19±0,02 *	5,58±0,02 *
3	<i>St. aureus ATCC 25923</i>	аутоспектр	контроль	0,44±0,01	4,05±0,05 *	5,35±0,12 *
			инв. 30 минут	0,42±0,01	3,55±0,06 *	4,56±0,04 *
4	<i>St. aureus ATCC 25923</i>	аутоспектр	контроль	0,42±0,01	4,31±0,03 *	4,53±0,06 *
			инв. 5 мин	0,40±0,01	3,60±0,04 **	3,82±0,08 **
			инв. 15 мин	0,42±0,01	3,45±0,04 **	3,66±0,07 **
5	<i>St. aureus 2781</i>	аутоспектр	контроль	0,46±0,01	3,27±0,01 *	4,79±0,03 *
			инв. 15 минут	0,50±0,02	2,93±0,02 *	4,41±0,06 *
6	<i>E. coli ATCC 25922</i>	аутоспектр	контроль	0,62±0,01	2,87±0,03 *	3,22±0,05***
			инв. 15 минут	0,64±0,01	2,68±0,02 *	3,06±0,03***
				* - достоверные различия между контролем и опытом $p < 0,001$		
				** - достоверные различия между опытом 5 мин и 15 мин. $p < 0,001$		
				*** - достоверные различия между контролем и опытом - $p < 0,05$		

Наибольшие различия в росте микроорганизмов регистрировались через 24 часа после воздействия (рис. 1), а к 48 часам разница в количестве микроорганизмов между контролем и опытом уменьшалась в случае воздействия в течение 15 минут.

Средние показатели оптической плотности опытных образцов *Staphylococcus aureus ATCC 25923* и *Staphylococcus aureus 2781* через 24 и 48 часов были ниже контрольных в среднем на  $0,57 \pm 0,10$  и  $0,75 \pm 0,13$  единиц оптической плотности (ЕОП) по шкале McFarland соответственно. Это соответствует  $4,1 \pm 0,1 \times 10^8$  колоний образующих единиц в мл (КОЕ/мл) и  $4,7 \pm 0,1 \times 10^8$  КОЕ/мл соответственно.

Эта разница была более выражена у *Staphylococcus aureus ATCC 25923* через 48 часов при воздействии в течение 30 минут независимо от вида спектра воздействия (рис.1). Разница между контролем и опытом составляла в среднем  $0,87 \pm 0,12$  ЕОП или  $5,1 \pm 0,1 \times 10^8$  КОЕ/мл.

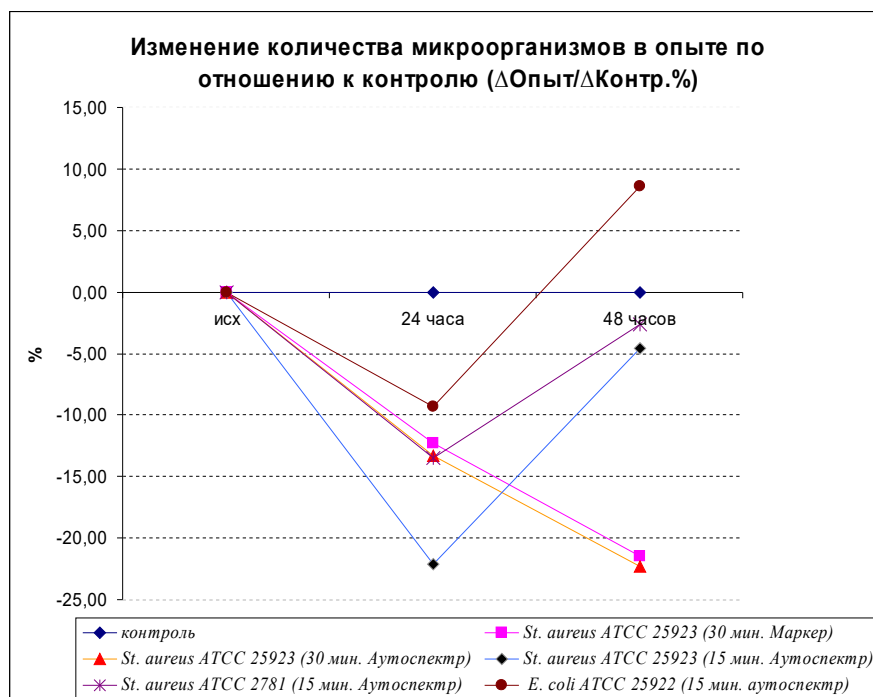


Рисунок 1. Динамика роста микроорганизмов в опыте относительно к контролю.

Реакция *Escherichia coli* ATCC 25922 на воздействие аутоспектральными ЭМП в течение 15 минут была аналогична реакции стафилококков, но менее выражена (рис. 1). Средние показатели оптической плотности опытных образцов через 24 и 48 часов были ниже контрольных в среднем на  $0,19 \pm 0,10$  и  $0,16 \pm 0,10$  ЕОП, что соответствует  $0,57 \pm 0,02 \times 10^8$  и  $0,48 \pm 0,05 \times 10^8$  КОЕ/мл соответственно.

Во всех экспериментах выявлено достоверное различие между контролем и опытом (табл. 1).

Таким образом, в результате исследования установлено, что ЭМП сверхмалой мощности генерируемые «КСК-БАРС» в виде аутоспектров и спектров S-маркеров аналогичного объекта в диапазоне сверхдлинных волн оказывают влияние на рост микроорганизмов. Применение этих спектров полей в инверсном режиме воздействия приводит к торможению роста микроорганизмов, причем рост микроорганизмов зависит от продолжительности воздействия.

Воздействие на внеклеточный вирус аутоспектральным электромагнитным сигналом сверхмалой мощности приводит в снижению репродукции

штамма А/Гонконг/1/68 на тканевой культуре ХАО на 0, 25 lg ТИД<sub>50</sub> через 8 и 48 часов по сравнению с контрольным необработанным образцом. Через 24 часа после начала опыта разница между контрольным и опытным образцами составляла 1,0 lg ТИД<sub>50</sub>, что соответствовало уменьшению в 10 раз.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что однократное воздействие ЭМП сверхмалой мощности в диапазоне сверхдлинных волн аутоспектром вирусосодержащего материала приводит к торможению репродукции вируса гриппа А/Гонконг/1/68 в тканевой культуре ХАО.

Исходя из этого, можно ожидать аналогичного воздействия на вирус, находящийся в организме.

В связи с тем, что были получены достоверные результаты в вышеописанных опытах, были начаты исследования по изучению возможности влияния на репродукцию вируса гепатита С в организме человека. В исследовании (на момент написания статьи) принимало участие 6 пациентов, у которых обнаружена РНК HCV в плазме крови. «Вирусная нагрузка» составляла от  $3,1 \times 10^3$  до  $7,6 \times 10^6$  МЕ/мл. Общая тенденция изменений величины обнаруженной РНК HCV в плазме крови представлена в таблице 3 и рисунке 2.

Таблица 3.

Таблица 3. Динамика величины РНК HCV в плазме крови (lg).

	исх	1 мес.	2 мес.	3 мес
lg РНК HCV	5,80±0,52	6,25±0,41	5,26±0,94	4,48±1,26
p	<0,001	<0,005	<0,005	<0,05

В первый месяц проведения исследования было выявлено увеличение ПЦР-фрагментов РНК HCV на  $1,15 \times 10^6$  МЕ/мл, а затем этот показатель снижался к 3 месяцу до  $3,0 \times 10^4$  МЕ/мл при исходных значениях  $6,3 \times 10^5$  МЕ/мл или на 1,32 lg.

Изменение S-маркера HCV и величины РНК HCV по данным спектрально-корреляционного теста, проведенного на КСК «БАРС», в первые два месяца имело разнонаправленный характер (рис. 2, 3).

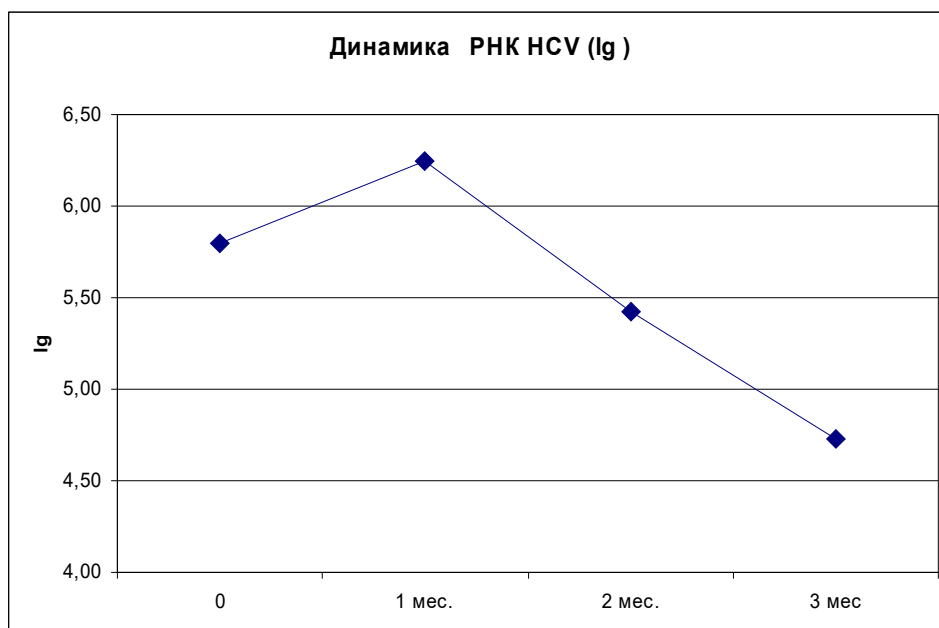


Рисунок 2. Величина обнаруженной РНК HCV в плазме крови при проведении воздействий спектрами S-маркеров РНК HCV пациентов (lg).

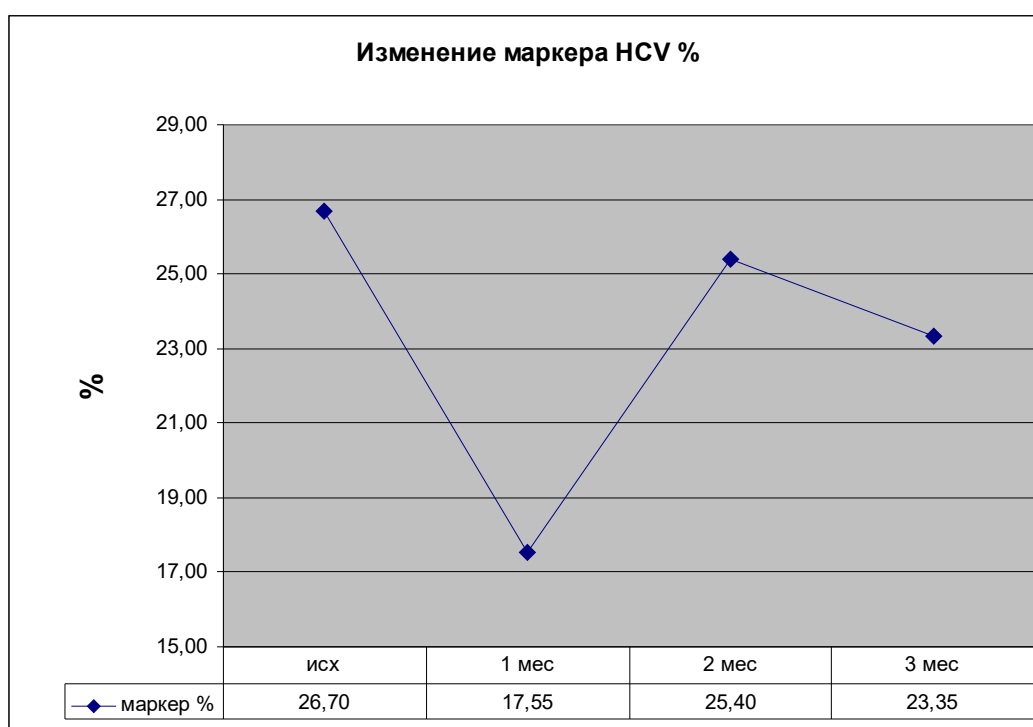


Рисунок 3. Изменение S-маркеров HCV по данным спектрально-корреляционного теста КСК «БАРС».

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что однократное воздействие на изученные штаммы микроорганизмов и вирус гриппа



аутоспектральными ЭМП сверхмалой мощности в диапазоне частот сверхдлинных волн приводил к торможению их роста *in vitro*.

Очевидно, инверсный режим воздействия в наших экспериментах, приводил к изменению собственного поля объекта, а значит и информационной составляющей объекта.

В исследованиях П.П.Гаряева (1997, 2007) было установлено, что разрушение ДНК происходило при воздействии в спектрах светового излучения лазера. По мнению авторов, первоосновой кодовой иерархии биологических систем являются инфраструктуры внеклеточных матриц цитомембраны, цитоскелета и ядра клетки. Между ними в эпигенетическом режиме происходит обмен информацией по физическим каналам нелинейных акустических и электромагнитных колебаний [Гаряев, 1997, 2007].

Существуют определенные «частотно-амплитудные окна», внутри которых существует детектируемая реакция биообъекта, а вне их диапазонов – подобный отклик отсутствует. При этом наиболее информативной является частота воздействия, а амплитуда определяет лишь механизм реализации отклика организма. Биоэффективные частоты выявляются экспериментально и объясняются возможным резонансом между колебаниями параметров внешнего ЭМП и собственными колебаниями [Бутуханов, 2011; Пронина, 2011; Узденский, 1999].

Можно предположить, что воздействие на объект в инверсном режиме (противофазе собственного поля) записанными полевыми спектрами самого объекта приводит к разрушению информационного поля объекта и самой структуры ДНК/РНК. Как показали наши исследования, это приводит к сбою механизмов самовоспроизводства.

По данным Куцик Р.В. локальное и глобальное распространение полиантибиотикорезистентных возбудителей нозокомиальных и оппортунистических инфекций, в том числе метицилин-резистентных *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков, является серьезной проблемой современной медицины. В

связи с этим актуальным является поиск у стафилококковых клеток новых потенциальных мишеней для противомикробной терапии [Куцик, 2008].

Как свидетельствуют литературные данные и результаты наших исследований, в настоящее время остается малоизученным механизм действия ЭМП сверхмалой мощности в диапазоне частот сверхдлинных волн на возбудителей болезней.

Полученные нами данные показали перспективность дальнейших исследований в изучении механизмов действия и в разработке методов терапии инфекционных заболеваний с использованием описанных методов воздействия.

### **Выводы**

1. Однократное воздействие на изученные штаммы микроорганизмов и вирус гриппа электромагнитными аутоспектральными полями сверхмалой мощности в диапазоне частот сверхдлинных волн приводит к торможению их роста/репродукции *in vitro*.

2. Воздействие электромагнитными аутоспектральными полями вируса гепатита С сверхмалой мощности в диапазоне частот сверхдлинных волн влияет на репродукцию вируса у человека.

3. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения дальнейших исследований как для изучения механизмов действия электромагнитных полей сверхмалой мощности в диапазоне частот сверхдлинных волн на возбудителей болезней, так и для разработки методов терапии инфекционных заболеваний.

### **Литература**

1. Алавердян Ж.Р. Влияние магнитных полей на фазы роста и кислотообразующую способность молочно-кислых бактерий // Ж.Р.Алавердян, Л.Г.Акопян, Л.М.Чарян, С.Н.Айрапетян // Микробиология. – 1996. – 65, №2. – С.242-244

2. Баранский П.И., Гайдар А.В. А.Л., Чижевский и проблемы взаимодействия магнитных полей с объектами живой природы // Вестн. Калуж. ун-та. - 2007. - N 3. - С.37-41. - Библиогр.: 47 назв.
3. Бауер Г. Б. Биогенный магнетизм и магниторецепция. Новое о биомагнетизме: Т.2/ Г.Б. Бауер, М.Фуллер, А.Перри, Д.Н.Данн, Д.Лонгер. – М.: Мир, 1989. – С.233-270
4. Бутуханов В.В. Взаимодействие биологических ритмов с частотой излучения атомарного водорода.// Бюл. ВСНЦ СО РАМН.-2011.- №3.- С. 189-190.
5. Бутуханов В.В. Частота излучения и собственная частота атомарного водорода, биологических и других материальных объектов. Их резонансные отношения.// [http://butuhanov-irk.narod.ru/chastota/chastota\\_izlucheniya.html](http://butuhanov-irk.narod.ru/chastota/chastota_izlucheniya.html)
6. Гаряев П.П. Волновой генетический код. Москва, 1997. – 108с
7. Гаряев П.П.. Лингвистико-волновой геном: теория и практика ; Институт квантовой генетики. — Киев, 2009 — 218 с.
8. Готовский Ю.В., Каторгин В.С. и др. Предварительные данные о воздействии резонансных частот электромагнитного поля на бактериальные клетки // В сб.: Тезисы и доклады VI Международной конференции "Теоретические и клинические аспекты применения биорезонансной и мультирезонансной терапии", часть I. - М.: ИМЕДИС, 2000. - С. 21-23.
9. Ковальова О.В. Вплив на організм людини електромагнітних полів антропогенного походження // Вісник Запорізького національного університету: зб. наук. праць. Біологічні науки. – Запоріжжя. – 2009. – № 2. – С. 96–104.
10. Ковалева А.В. Влияние электромагнитных полей и излучений на биообъекты // Актуальні питання біології, екології та хімії: електронне наукове фахове видання. – 2009. – № 1. – Т. 1. – С. 64–85.
11. Крыцын Д.И. Влияние переменного магнитного излучения на динамику роста микроорганизмов/ Автореферат дисс. к.ф-мат.н. /Краснодар 2009
12. Куцик Р.В. Мікробіологічне обґрунтування нових підходів до лікування та профілактики стафілококових інфекцій на основі дослідження про-

тимікробних властивостей похідних тіазолу, фурану, акридину і біологічно активних речовин природного походження: Автореф.дис...д-ра мед.наук: 03.00.07//; ДП «Інст. мікробіол. та імунол. ім.І.І.Мечникова АМН України». – Харків, 2008. – 40с

13. Мальцева А.И. Репродукция вирусов гриппа в культуре ткани хорионаллантоисной оболочки куриных эмбрионов, прикрепленной к скорлупе / А.И.Мальцева, В.Е.Аграновская, Я.С.Шварцман // Лаб. Дело. - 1973. - № 11. - С.689-690,

14. Матрончик А.Ю. Модель фазовой модуляции высокочастотных колебаний нуклеоида в реакции клеток *E. Coli* на слабые и низкочастотные магнитные поля / А.Ю.Матрончик, Е.Д.Алипов, И.Я.Беляев // Биофизика. – 1996. – 41, №3. – С.642-649

15. Патент України на корисну модель № 23476. «Спосіб ідентифікації спектральних характеристик біологічних і неживих об'єктів та їхньої корекції».

16. Патент РФ на полезную модель №76226. «Устройство для диагностики и коррекции состояния организма КСК-БАРС».

17. Доклинические исследования лекарственных средств. Методические рекомендации: [ред. А.В.Стефанов]. - К.: Авиценна, 2002. - С.395-420;

18. Пронина Е.А. Влияние электромагнитного излучения на частотах молекулярных спектров поглощения и излучения атмосферного кислорода и оксида азота на прокариотические клетки/ Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Саратов – 2011

19. Узденский А.Б. // Реализация в клетках резонансных механизмов биологического действия свернизкочастотных магнитных полей. // Материалы 2-й международной конференции «Электромагнитные поля и здоровье человека». М.,1999.- с.43.

20. Gretz M.R. Cellulose biogenesis in bacteria and higher plants is disrupted by magnetic fields/ M.R. Gretz// Naturwissenschaften.–1989.–76. D 8.– ' 380–383.

21. Kudo Kozo. Effect of an external magnetic flux on antitumor antibiotic neocarzinostatin yield by *Streptomyces carzinostaticus* var. F-41/ Kudo Kozo, Yoshida Yuko, Yoshimura Noboru, Ishida Nakao // *Jap. j. Appl. Phys. Pt. 1.*– 1993.– 32, D 11 A.–'. 5180–5183