

Читать
онлайн
Read
onlineИксанова Т.И.¹, Стехин А.А.², Яковлева Г.В.², Каменецкая Д.Б.¹,
Михайлова Р.И.¹, Загайнова А.В.¹

Влияние на активность микроорганизмов системного гомеостатического регулятора – ассоциатов пероксидных анион-радикалов

¹ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 121099, Москва, Россия

Введение. Работа посвящена изучению влияния пероксидных анион-радикалов в субмикромольных концентрациях и структурной организации фазы ассоциированной воды в питьевых водах, подвергаемых активации физическими методами, на жизнеспособность ряда микроорганизмов, аналогичных биоте желудочно-кишечного тракта человека.

Материалы и методы. Исследования осуществляли с использованием стандартных методик микробиологического анализа питьевых вод на микроорганизмах штаммов *Escherichia coli* 1257, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* 5765, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* ATCC 700603, *Citrobacter freundii* 101/57. Оценку изменений физических параметров вод до и после их обработки с применением исследуемых технологий проводили по электрофизическим и физико-химическим показателям (водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал, содержание пероксидного анион-радикала); структурно-энергетическим показателям (по доле фазы ассоциированной воды и плотности её распределения по энергетическим уровням).

Результаты. Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее сильное стабилизирующее влияние на жизнеспособность микроорганизмов, реализующих АТФ-фазный энергетический метаболизм, оказывают ассоциаты пероксидных анион-радикалов, управляющие метаболическими процессами и обеспечивающие внесубстратный канал поддержания энергетической функции микроорганизмов. Предполагаем, что каталитически активные воды обладают системным регуляторным действием, обеспечивая поддержание гомеостаза микроорганизмов. Подобное регулирование возможно и в кишечной микробиоте организма для поддержания или подавления активности конкурирующих микроорганизмов при употреблении человеком биокаталитически активных (в диапазоне концентраций пероксидных анион-радикалов в питьевых водах от 0,1 до 40 мкг/л) питьевых вод. Можно предположить, что это позволит решить ряд вопросов, связанных с этиологией и патофизиологией ряда гастроэнтерологических заболеваний, обусловленных изменением электрофизического состояния внутренней среды желудочно-кишечного тракта, прототирующего появление и развитие конкурирующей, адаптированной к среде с низкой электрон-донорной способностью бактериальной микробиоты.

Ограничения исследования. Полученные в результате эксперимента данные по биоте, аналогичной кишечной микробиоте человека, представляют научный интерес, и для продолжения работ в этом направлении необходимы исследования с участием теплокровных животных.

Заключение. Физически обработанные воды влияют на прирост или угнетение колоний кишечной биоты, что возможно связать с управляющей ролью пероксидных анион-радикалов во внутриклеточных метаболических процессах микроорганизмов.

Ключевые слова: микробиота; фаза ассоциированной воды; пероксидный анион-радикал; коли-фаги

Соблюдение этических стандартов: исследования проводили без участия волонтеров и животных, исключительно на штаммах кишечной биоты, аналогичной биоте человека.

Для цитирования: Иксанова Т.И., Стехин А.А., Яковлева Г.В., Каменецкая Д.Б., Михайлова Р.И., Загайнова А.В. Влияние на активность микроорганизмов системного гомеостатического регулятора – ассоциатов пероксидных анион-радикалов. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(4): 368-374. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-4-368-374>

Для корреспонденции: Иксанова Татьяна Исмаиловна, вед. биолог отд. гигиены ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России, 119121, Москва. E-mail: Tiksanova@cspmz.ru

Участие авторов: Иксанова Т.И. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала; Стехин А.А., Яковлева Г.В. – написание текста; Каменецкая Д.Б., Загайнова А.В. – концепция и дизайн исследования; Михайлова Р.И. – редактирование. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Статья подготовлена в рамках Государственного задания № АААА-А18-118020590087-5 Федерального медико-биологического агентства.

Поступила: 02.02.2022 / Принята: 12.04.2022 / Опубликовано: 30.04.2022

Tatiana I. Iksanova¹, Anatoly A. Stekhin², Galina V. Yakovleva², Darya B. Kamenetskaya¹,
Rufina I. Mikhailova¹, Angelika V. Zagainova¹

The impact of systemic homeostatic regulator – associates of peroxide anion radicals on the activity of microorganisms

¹Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of Federal Medical Biological Agency, Moscow, 119121, Russian Federation;

²National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 121099, Russian Federation

Introduction. This work is devoted to the study of the effect of peroxide anion radicals in submicromol concentrations and the structural organization of the associated water phase in drinking waters, activated by physical methods on the viability of a number of microorganisms in the human gastrointestinal tract.

Materials and methods. Studies were carried out using standard methods of microbiological analysis of drinking water on microorganisms of *Escherichia coli* 1257, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* 5765, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* ATCC 700603, *Citrobacter freundii* 101/57. Evaluation of changes in the physical parameters of water before and after treatment with the studied technologies was carried out

using electrophysical and physical-chemical parameters (hydrogen index, redox potential, content of peroxide anion radical); structural and energy indicators (by the share of the associated water phase and the density of its distribution by energy levels).

Results. The data obtained indicate the strongest stabilizing effect on the viability of microorganisms implementing ATP-phase energy metabolism to be exerted by associates of peroxide anion radicals controlling metabolic processes and providing an extra-substrate channel for maintaining the energy function of microorganisms. We assume that catalytically active waters have a systemic regulatory effect, ensuring the maintenance of homeostasis of microorganisms. Similar regulation is also possible in the intestinal microbiota of the body to maintain or suppress the activity of competing microorganisms when a person uses biocatalytically active (in the range of concentrations of peroxide anion radicals in drinking water from 0.1 to 40 drinking water $\mu\text{g/L}$) drinking water. We assume that this will solve a number of issues related to the etiology and pathophysiology of a number of gastroenterological diseases caused by changes in the electrophysical state of the internal environment of the gastrointestinal tract, promoting the emergence and development of a competing, adapted to an environment with low electron-donor capacity, bacterial microbiota.

Limitations. The data obtained as a result of the experiment on biota similar to the human intestinal microbiota are of scientific interest and research involving warm-blooded animals is necessary to continue work in this direction.

Conclusion. Physically treated waters affect the growth or inhibition of intestinal biota colonies, which may be associated with the controlling role of peroxide anion radicals on intracellular metabolic processes in microorganisms

Keywords: associated water phase; peroxide anion radical; human microbiota; coliphages

Compliance with ethical standards. Studies were carried out without the participation of volunteers and animals, exclusively on strains of intestinal biota similar to human biota.

For citation: Iksanova T.I., Stekhin A.A., Yakovleva G.V., Kamenetskaya D.B., Mikhailova R.I., Zagainova A.V. The impact of systemic homeostatic regulator – associates of peroxide anion radicals on the activity of microorganisms. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(4): 368–374. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-4-368-374> (In Russian)

For correspondence: Tatyana I. Iksanova, leading biologist, Environmental Health department of the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the FMBA of Russia (Centre for Strategic Planning, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: TIksanova@cspmz.ru

Information about the authors:

Iksanova T.I., <https://orcid.org/0000-0002-3153-8706> Stekhin A.A., <https://orcid.org/0000-0002-8750-0686>
Yakovleva G.V., <https://orcid.org/0000-0002-8766-2773> Mikhailova R.I., <https://orcid.org/0000-0001-7194-9131>
Kamenetskaya D.B., <https://orcid.org/0000-0002-9050-3757> Zagainova A.V., <https://orcid.org/0000-0003-4772-9686>

Contribution: Iksanova T.I. – concept and design of the study, collection and processing of the material; Kamenetskaya D.B., Zagainova A.V. – concept and design of the study, collection and processing of the material; Stekhin A.A., Yakovleva G.V. – writing text; Mikhailova R.I. – editing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The article was prepared within the framework of State Assignment No. AAAA-A18-118020590087-5 of the Federal Medical and Biological Agency.

Received: February 2, 2022 / Accepted: April 12, 2022 / Published: April 30, 2022

Введение

Причинно-следственные связи заболеваний метаболической этиологии (метаболический синдром) затрагивают не только кардиологические и эндокринологические проблемы, но и сбой в работе «пищеварительно-транспортного конвейера», что указывает на существенную роль изменений видового состава и активности микробиоты в развитии метаболических патологических состояний человека [1]. Изменения активности микробиоты сопровождаются дисбиозом желудочно-кишечного тракта кишечника, что приводит к энтерогепатотической циркуляции желчных кислот, образованию токсичных солей, переключая метаболизм печени на синтез холестерина, и способствует формированию дислипидемии, изменению синтеза целого ряда биологически активных субстанций – бактериальных метаболитов, гормонов, цитокинов и нейротрансмиттеров [2].

Исследования показывают, что особую значимость в изменении активности (энергетического метаболизма) и соответственно видового состава конкурирующих видов микроорганизмов желудочно-кишечного тракта имеет биологическая активность питьевой воды, в которой системную гомеостатическую функцию выполняют пероксидные анион-радикалы в составе фазы ассоциированной воды [3, 4]. Действие пероксидных анион-радикалов связано с формированием в составе ассоциатов монополярных зарядов, образующих в жидкости локальные электрические и магнитные поля.

В настоящее время оценка влияния структурно-энергетического состояния воды, проведённая на *Escherichia coli*, входящей в группу кишечной палочки, показала, что энергетический метаболизм этих микроорганизмов зависит от электронной насыщенности среды их обитания [3]. Другие представители кишечной микробиоты, включая микроорганизмы группы *Enterobacteriaceae* (группы кишечной палочки) и ряд патогенных микроорганизмов, вероятно, могут обладать подобной зависимостью.

Энергетический метаболизм энтеробактерий (*Enterobacteriaceae*), как и всех других грамотрицательных бактерий, осуществляется внутренними складками мем-

браны (мезосомой), выполняющей функцию митохондрий. Поддержание энергетического метаболизма данной группы бактерий (в отсутствие субстратов в воде) сопрягается с транспортом электронов по дыхательной цепи ферментных комплексов, а также преобразованием потоков энергии электронов в энергию фосфоэфирных связей и прямым преобразованием магнитной энергии сверхпроводящего состояния электронов в фазе ассоциированной воды в F0F1-АТФ-синтазе [3]. Однако в отличие от микроорганизмов *E. coli*, на которых изучены данные закономерности, у других представителей группы грамотрицательных бактерий, имеющих подобные морфологические и культуральные свойства, присутствуют отличия в структуре и функциях ферментных комплексов и АТФ-синтазы, что не позволяет сопоставлять результаты, полученные при исследовании *E. coli*, на другие подобные микроорганизмы. Отсюда следует актуальность изучения влияния структурно-энергетического состояния воды на энергетический метаболизм грамотрицательных бактерий.

Цель исследования – изучение влияния биологической активности питьевой воды, полученной в результате физической обработки посредством субмикромольных концентраций пероксид анион-радикалов, на устойчивость представителей патогенной и условно патогенной микробиоты желудочно-кишечного тракта человека: *Escherichia coli* 1257, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* 5765, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* ATCC 700603, *Citrobacter freundii* 101/57.

Материалы и методы

Изучение связи реакции микроорганизмов желудочно-кишечного тракта человека со структурно-энергетическим состоянием воды проводили на группе *Enterobacteriaceae* (группе кишечной палочки), включающей *Escherichia* (эшерихии), *Citrobacter* (цитробактер), *Klebsiella* (клебсиллы), *Salmonella* (сальмонеллы), а также бактерий рода энтерококков – *Enterococcus faecium* и рода псевдомонад – *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка).

В качестве объектов исследования были определены следующие воды: питьевая вода Р (электромагнитная обработка), БР (гипоосмотическая) и воды с пониженным содержанием дейтерия на уровне 50; 90 и 125 ppm. В качестве сравнительного образца для воды после электромагнитной обработки использовали бутилированную артезианскую воду Т.

Оценку изменений физических параметров вод до и после их обработки с применением исследуемых технологий проводили по электрофизическим и физико-химическим показателям (водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал, содержание пероксидного ион-радикала); структурно-энергетическим показателям (структурная организация воды по доле фазы ассоциированной воды, плотность распределения фазы ассоциированной воды по энергетическим уровням). Определение электрохимических показателей (рН, Eh) осуществляли с использованием приборов «Экотест-120» (производитель ООО НПП «Эконикс», Россия).

Структурно-энергетические показатели воды, определяемые по средним значениям массовой доли фазы ассоциированной воды и энергетическому распределению ассоциатов фазы (аналог распределения ассоциатов по размерам), определяли по разработанной капиллярной криофизической методике [4].

Определение биологической активности образцов исследуемых вод проводили с помощью люминесцентного бактериального теста «Эколюм»* по изменению степени свечения микроорганизмов, возникающего в результате их жизнедеятельности, в экспериментальных водах. Интенсивность свечения фиксировали прибором «Биотокс-10» (производитель ООО «НЕРА-С», Россия). Критерием оценки токсичности и биологической активности воды служит показатель, рассчитываемый по формуле:

$$A = I / I_0,$$

где I_0 – интенсивность свечения контроля (дистиллированной воды); I – интенсивность свечения опыта при фиксированном времени экспозиции исследуемого раствора с тест-объектом.

Проба воды считается активной, если величина A составляет 1,2 и более. При значениях A в диапазоне 0,8–0,5 вода токсична, при $A < 0,5$ – очень токсична, а при $A > 0,8$ – нетоксична (инертна).

Оценку электрон-донорной способности воды (биокаталитической активности), определяемой по концентрации пероксидных анион-радикалов в составе ассоциатов смешанного типа – $[\text{NO}_2^{\cdot-} \dots \text{a} \cdot \text{OH}^{\cdot-} (\text{H}_2\text{O})_p]_q$, осуществляли с использованием фотометрического метода (по ГОСТ 32460-2013) в диапазоне массовой концентрации 5–120 мкг/дм³ и кинетического хемилюминесцентного метода с большей чувствительностью (0,1 мкг/дм³) определения (анализатор жидкостей хемилюминесцентный «ЛИК УНИВЕРСАЛ», ТУ 9443-001-42844321-03) [4]. Параметризацию соотношения анион-радикальных и свободномолекулярных форм перекиси водорода в указанном диапазоне концентрации данных соединений в воде проводили методом ВЭЖХ [5].

Определение действия исследуемых питьевых вод на микроорганизмы нормальной микрофлоры кишечника (*E. coli*, энтерококки, клибсиеллы), транзиторные, условно патогенные, патогенные (*Ps. aeruginosa*, сальмонеллы) и колифаги определяли в соответствии с МУК 4.2.1018-01 [6, 7]. Вирусное загрязнение оценивали по наличию штаммов колифагов (РНК-содержащие колифаги), выделяемых на супрессибельной культуре *E. coli*. Выделение колифагов из проб воды про-

водили однослойным методом на 1,5%-м мясоептонном агаре, а также методом подрашивания с целью выделения единичных фагов в соответствии с МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды» [6].

Для бактериологических исследований создано 6 модельных водоёмов с исследуемыми водами объёмом 3 л каждый, которые инфицировали суточными культурами бактерий, дозированными по стандарту мутности в физиологическом растворе и разведёнными в концентрации бактерий $n \cdot 10^3 - n \cdot 10^4$ КОЕ/100 мл. Из каждого водоёма осуществляли прямой посев бактерий на среды Эндо и энтерококкагар с таким расчётом, чтобы получить изолированные колонии после инкубации посевов при 37 °С в течение 24 ч.

Для изучения реакции вирусов на структурно-энергетические изменения в воде использовали вакцинный штамм полиовируса типа 1 (1 sc, 2ab) и РНК-содержащий фаг ms2 (штамм ВКПМ ph-1505), которые, как в нашей стране, так и за рубежом, служат моделью энтеровирусов при изучении влияния различных физических и химических факторов окружающей среды на вирусную микрофлору. Детекторным штаммом-хозяином для выделения фагов служила *E. coli* K-12 f⁺ (B-3254), полученная, как и фаг ms2, из всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП «ГосНИИгенетика».

При подсчёте колоний колифагов использовали титрационный метод определения с предварительным накоплением колифагов в среде обогащения на культуре *E. coli* и последующим выявлением зон лизиса газона *E. coli* на питательной среде.

Для расчёта статистических данных в работе применяли непараметрический U -критерий Манна–Уитни для исследования качественных свойств независимых выборок, в которых отсутствуют совпадающие значения.

Результаты

Электрохимические показатели исследованных вод (табл. 1) характеризуют их как воды средней минерализации (электропроводимость $S = 390\text{--}450$ мкС/см) с близкими значениями окислительно-восстановительного потенциала ($Eh = 200\text{--}210$ мВ) и кислотно-основных свойств ($pH = 6,6\text{--}7,7$ ед.). Исключение составляет слабокислая маломинерализованная вода марки БР с более высоким значением окислительно-восстановительного потенциала ($Eh = 240$ мВ).

Отмеченные изменения электрохимических показателей вод в основном характеризуются широким разбросом значений биокаталитической активности (концентрации пероксидных анион-радикалов), влияющей на средние значения доли фазы ассоциированной воды и энергетическое распределение ассоциатов (табл. 2). Отмечаемое несоответствие между концентрацией пероксидных анион-радикалов и их долей фазы ассоциированной воды, имеющей высокоэнергетические состояния (в табл. 2 выделены жирным шрифтом) в водах Р и Т по сравнению с водой марки БР, связано с доминированием в последней свободно-молекулярных форм перекиси водорода, не принимающих участия в формировании ассоциатов [4].

Влияние структурно-энергетического распределения фазы ассоциированной воды на рост и развитие исследованных микроорганизмов (в каталитически неактивных водах) характеризуется одновременным стимулированием (положительные значения коэффициентов корреляции) и подавлением (отрицательные значения $k_{\text{корр}}$) роста микроорганизмов (табл. 3). Представленные в таблице корреляционные коэффициенты рассчитаны с учётом ранее полученных данных для вод с различным энергетическим распределением.

Установлено, что развитие микроорганизмов происходит только при определённой структурной организации водной среды, в которой они находятся. Так, для *E. coli* и *Klebsiella pneumoniae* благоприятными условиями развития являются воды с высокой населённостью (Δ , отн. ед.) в энергетическом

* В качестве тест-объекта (биосенсора) используются препараты лиофилизированных люминесцентных бактерий или ферментные системы из этих бактерий – Биосенсоры серии «Эколюм», разработанные в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Россия).

Таблица 1 / Table 1

Электрохимические показатели исследованных питьевых вод
Electrochemical parameters of the studied drinking waters

Образец воды Water sample	рН, ед. (ed.)		Еh, мВ (mv)		S, мкС/см (mkS/cm)		Т _о , °С
	средн. / average	вар. / var	средн. / average	вар. / var	средн. / average	вар. / var	
Р (питьевая вода / drinking water)	6.64	0.0028	201.9	0.012	393.6	0.008	21.3
Т (контроль / control)	6.65	0.0018	209.5	0.004	411.4	0.003	23.3
Воды с содержанием дейтерия: Water with deuterium content:							
50 ppm	7.73	0.0007	201.7	0.023	441.8	0.002	24.2
90 ppm	7.73	0.0002	203.2	0.003	445.8	0.001	24.1
125 ppm	7.73	0.0004	202.3	0.001	446.2	0.001	24.3
БР (гипоосмотическая) BR (hypoosmotic)	6.14	0.0056	240.4	0.012	23.06	0.008	22.6

Таблица 2 / Table 2

Концентрация пероксидных анион-радикалов ([HO₂^{-•}], мкг/л), доля фазы ассоциированной воды в объёмной воде (q_{ср.}, %) и её энергетическое распределение (плотность состояний Δ, отн. ед.) в исследованных образцах воды

The concentration of peroxide anion radicals ([HO₂^{-•}], mcg/L), the fraction of the associated water phase in bulk water (q_{ср.}, %) and its energy distribution (density of states Δ, rel. units) in the studied water samples

Исследуемый образец Test samples	[HO ₂ ^{-•}], мкг/л (mcg/L)	q _{ср.} , %	Энергетические уровни / Energy levels, Δq _i , %					
			0.0–0.2	0.2–0.4	0.4–0.6	0.6–0.8	0.8–1.0	1.0–1.2
			Плотность состояний Δ, отн. ед. / Density of states Δ, rel. units					
Р*	56.0	0.585	0	0.2	0.4	0.25	0.15	0
Т (контроль / control)	45.8	0.785	0	0.05	0.2	0.45	0.1	0.2
Воды с содержанием дейтерия: Water with deuterium content:								
50 ppm	1.6	0.403	0	0.75	0.1	0.1	0	0.05
90 ppm	0	0.454	0	0.45	0.35	0.2	0	0
125 ppm	0	0.450	0	0.4	0.55	0.05	0	0
БР / BR	251.1**	0.794	0	0	0.15	0.4	0.25	0.2

Примечание. * – вода марки Т, подвергнутая низкочастотной электромагнитной активации; ** – суммарная концентрация анион-радикальных ([HO₂^{-•} ... а · OH^{-•} (H₂O)_p]_q) и свободно-молекулярных ((H₂O₂)_n, где n = 1–3) состояний перекиси водорода [5]. Жирным шрифтом выделены высокоэнергетические состояния фазы ассоциированной воды, состоящие из пероксидных анион-радикалов.

Note. * – T-grade water subjected to low-frequency electromagnetic activation; ** – the total concentration of anion-radical ([HO₂^{-•} ... а · OH^{-•} (H₂O)_p]_q) and free molecular ((H₂O₂)_n, where n = 1–3) states of peroxidehydrogen [5]. High-energy states of the associated water phase consisting of superoxide anion radicals are highlighted in bold.

диапазоне q_i = 0,4...0,6% при малой населённости подавляющего энергетического уровня q_i = 0,6...0,8%. Для *Salmonella*, *Ps. aeruginosa* и *Enterococcus faecium* высокая степень развития отмечалась в водах с преимущественным заполнением низкоэнергетических состояний фазы (q_i = 0,0...0,2%). Одинаковые значения резонансных энергетических уровней жизнеспособности, с одной стороны, *E. coli* и *Klebsiella pneumoniae* (q_i = 0,6...0,8%), а с другой – *Salmonella*, *Ps. aeruginosa* и *Enterococcus faecium* (q_i = 0,0...0,2%) могут свидетельствовать об их возможной конкуренции за энергетические ресурсы между собой.

Каталитически активные воды (Т, Р) с высокими значениями концентрации в воде пероксидных анион-радикалов (см. табл. 2) обладают значительно большим влиянием на параметры развития микроорганизмов исследуемой группы, чем воды с гидроксильными анион-радикалами (противные воды) (q_i < 0,8%), в силу высокой электрон-донорной способности пероксидных анион-радикалов, определяемой их относительно малой стабильностью во времени [4].

Абсолютные значения концентрации микроорганизмов, экспонированных в исследованных водах с различным содержанием пероксид анион-радикалов, различались на

Таблица 3 / Table 3

Корреляционные коэффициенты (k_{корр.}) жизнеспособности микроорганизмов в исследуемых водах с населённостью энергетических состояний фазы ассоциированной воды (Δ_i, отн. ед.)

Correlation coefficients (k_{corr.}) of the viability of microorganisms in the studied waters with the population of the energy states of the associated water phase (Δ_i, rel. units)

Уровень Level q _i , %	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
0–0.2	0.05	0.80	0.94	0.76	–0.69
0.2–0.4	–0.24	–0.41	–0.32	–0.65	–0.21
0.4–0.6	0.78	–0.62	–0.83	–0.23	0.84
0.6–0.8	–0.84	–0.67	–0.68	–0.61	–0.73

Таблица 4 / Table 4

Абсолютные значения концентрации микроорганизмов в воде на вторые сутки после начала эксперимента и корреляция между массивами данных активности микроорганизмов в исследованных водах и концентрацией в них пероксидных анион-радикалов

Absolute values of the concentration of microorganisms in water on the second day after the start of the experiment and the correlation between the arrays of data on the activity of microorganisms in the studied waters and the concentration of peroxide anion radicals in them

Исследуемый образец / Test samples	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
T (контроль / control)	$9.1 \cdot 10^6$	$1.52 \cdot 10^6$	$1.5 \cdot 10^4$	$1.3 \cdot 10^7$	$6.0 \cdot 10^7$	$2.8 \cdot 10^7$
P (ЭМИ)	$9.6 \cdot 10^6$	$2.8 \cdot 10^6$	$4.8 \cdot 10^4$	$3.2 \cdot 10^7$	$6.6 \cdot 10^7$	$6.4 \cdot 10^7$
Воды с содержанием дейтерия: Water with deuterium content:						
50 ppm	$4 \cdot 10^3$	$1.5 \cdot 10^2$	$2.0 \cdot 10^2$	$4.0 \cdot 10^4$	0	—
90 ppm	$5 \cdot 10^2$	$5.0 \cdot 10^1$	0	$2.8 \cdot 10^6$	$2.84 \cdot 10^6$	—
125 ppm	$2.70 \cdot 10^2$	$1.8 \cdot 10^1$	0	$2.84 \cdot 10^6$	0	—
Коэффициент корреляции* Correlation coefficient*	0.995	0.972	0.893	0.913	0.997	—

Примечание. * — концентрации пероксидных анион-радикалов, использованные при определении коэффициентов корреляции, приведены в табл. 2.

Note: * — the concentrations of peroxide anion radicals used in determining the correlation coefficients are given in Table 2.

Таблица 5 / Table 5

Динамика инактивации фагов MS2 в протиевых водах, водах марок T и P*

Dynamics of inactivation of MS-2 phages in protium waters, waters of the "T" and "R" brands*

Содержание дейтерия в воде, ppm Deuterium content in water, ppm	Экспозиция, сут / Exposure, day					
	1	2	7	8	12	14
50	0.453 ± 0.32	—	—	0.005 ± 0.62	0	—
90	0.530 ± 0.29	—	—	0.002 ± 0.43	0	—
125	0.731 ± 0.22	—	—	0	0	—
145 T	0.849 ± 0.08	0.299 ± 0.5	0.008 ± 0.11	—	—	0
145 P (ЭМИ / АМУ)	1.22 ± 0.36	2.01 ± 0.01	0	—	—	0

Примечание. * — данные нормированы на исходное значение концентрации колифага в воде (в диапазоне концентраций $4-8 \cdot 10^4$ БОЕ/100 мл).

Note: * — the data are normalized to the initial value of the concentration of coliphage in water (in the concentration range $4-8 \cdot 10^4$ CFU/100 ml).

несколько десятичных порядков (табл. 4). В каталитически активных водах происходил бурный рост микроорганизмов, в то время как в каталитически инертных водах имело место как подавление активности (гибель) клеток (*E. coli*, *Salmonella enterica*, *Enterococcus faecium*, *Citrobacter freundii*), так и стимулирование роста отдельных представителей микроорганизмов (*Klebsiella pneumoniae*). Отдельные всплески активности бактерий в каталитически инертных водах

определяются особенностями энергетического распределения фазы ассоциированной воды.

Полученные значения коэффициентов корреляции между массивами данных концентрации пероксидных анион-радикалов и концентрацией микроорганизмов в исследованных водах (последняя строка в табл. 4) составляют величины в диапазоне значений $k_{\text{корр.}} = 0,89-0,99$, что свидетельствует о преобладающем влиянии пероксидных анион-радикалов в поддержании жизнеспособности микроорганизмов за счёт внесубстратной активации АТФ-синтазного энергетического метаболизма.

Реакцию культуры фагов MS2 на физически активированные воды можно оценить по изменению их концентрации в воде (табл. 5) в первые сутки экспозиции. Нормированные значения концентрации колифагов в биологически неактивных водах находились в диапазоне значений $0,45-0,73$. В то же время в каталитически активной воде (марки T) концентрация фагов составила $0,75$, а в водах, подверженных физической активации (марки P), отмечали максимальные значения определяемой концентрации фагов: $1,22$ (первые сутки экспозиции) и 2 (вторые сутки экспозиции).

Такие результаты нельзя интерпретировать как зависимость концентрации фагов от содержания в воде дейтерия. Увеличение определяемых значений концентрации в воде колифагов, вероятно, вызвано увеличением активности детекторного штамма *E. coli* K-12.

Для подтверждения данного предположения проведены исследования активности биосенсорных бактерий «Эколюм» (*E. coli*) по изменению их светимости, которое отражает работу внесубстратного АТФ-синтазного энергетического метаболизма (табл. 6) [3].

Таблица 6 / Table 6

Биологическая активность экспериментальных образцов воды на биосенсорных бактериях «Эколюм»: средние значения относительной интенсивности свечения микроорганизмов (I/I_0 , где I_0 — интенсивность контрольного образца — дистиллированной воды) и их относительные вариации

Biological activity (average values of the relative intensity of the glow of microorganisms (I/I_0 , where I_0 is the intensity of the control sample — distilled water) and their relative variations of the studied water samples on biosensor bacteria "Ecolume")

Концентрация дейтерия в воде, ppm Deuterium concentration in water, ppm	I/I_0
50	0.9 ± 0.25
90	0.84 ± 0.31
125	0.85 ± 0.22
145 T	3.2 ± 0.18
145 P (ЭМИ / АМУ)	2.6 ± 0.09

Относительные изменения интенсивности свечения микроорганизмов «Эколюм» (I/I₀) (см. табл. 6) свидетельствуют о биологической инертности (по данному показателю) каталитически инертных питьевых вод и высокой биологической активности вод Т и Р. Это подтверждает и факт переопределения концентрации колифагов MS2 в каталитически активных водах, обусловленный, вероятно, повышенной эффективностью захвата фагов более активными микроорганизмами.

Обсуждение

Исходя из результатов исследований, можно заключить, что структурно-энергетические изменения в воде оказывают значительное влияние на развитие микроорганизмов исследованной группы. При этом их жизненным циклом возможно управлять в зависимости от энергетического распределения фазы ассоциированной воды за счёт перераспределения состояний фаз в диапазонах, резонансных энергетическим уровням, определяющим функционирование клеточного метаболизма. Высокопотенциальные железосернистые белки (HiPIPs), находящиеся в цитоплазме бактерий, содержат кластеры 4Fe–4S с высоким окислительно-восстановительным потенциалом, являются белками – переносчиками электронов в дыхательной цепи митохондрий между бактериями и эукариотическими клетками с последующим переносом электронов на молекулярный кислород [8, 9]. Также они играют важную роль в производстве активных форм кислорода, участвуют в метаболизме и патогенезе заболеваний [9].

HiPIPs – это белки переноса электронов, выделенные из фотосинтетических бактерий и обычно передающие электроны в реакционный центр фотосинтеза. Внесубстратным каналом – поставщиком пероксидных анион-радикалов могут служить железосернистые кластеры 4Fe–4S белка P10C с положительным восстановительным потенциалом в диапазоне от +50 до +500 мВ, при участии которых происходит транспорт электронов микроорганизмам [8].

Новый взгляд, акцентированный на энергетической функции анион-радикалов в питьевых водах, также должен распространяться на метаболическую роль микробиома в метаболизме хозяина (человека). Состояние кишечного микробиома связано не только с синтезом микроорганизмами вторичных метаболитов и антимикробных белков, усиливающих антимикробную барьерную функцию эпителиальных клеток [10, 11], но и с электрокаталитической активностью и образованием продуктов посредством

потенциостатической регуляции окислительно-восстановительного потенциала [12].

Отмечена взаимосвязь между метаболитами и хозяином в контроле гомеостаза, при котором кишечные бактерии, используя питательные вещества хозяина, предоставляют ему возможность использовать продукты метаболизма в качестве субстрата для синтеза АТФ. Наблюдаемая связь между изменениями состава микробиоты и развитием метаболических заболеваний позволила обобщить современные знания о роли метаболитов кишечной микробиоты [13–15] в регуляции биоэнергетики млекопитающих и о влиянии продуктов кишечных бактерий на физиологические и патологические процессы, регулирующие энергетический и сосудистый гомеостаз. Электрон-донорная активность воды предопределяет взаимную связь между метаболической активностью кишечной микробиоты и энергетическим гомеостазом у млекопитающих, что может представлять собой новый подход к лечению ожирения, гипертонии и диабета 2 типа [16].

Проведённое исследование было ограничено исключительно штаммами кишечной биоты человека. В дальнейшем целесообразно проведение исследований на теплокровных животных с последующей оценкой результатов для более глубокого анализа и последующего привлечения волонтеров с целью подтверждения влияния физически обработанных вод на регуляцию биоэнергетики людей посредством пероксидного анион-радикала.

Заключение

Наиболее сильное стабилизирующее влияние на жизнеспособность и развитие микроорганизмов, реализующих АТФ-фазный энергетический метаболизм, оказывают ассоциаты пероксидных анион-радикалов, управляющие метаболическими процессами и обеспечивающие внесубстратный канал энергетической функции микроорганизмов.

В связи с этим каталитически активные воды следует рассматривать в качестве системного регулятора метаболизма организмов желудочно-кишечного тракта, обеспечивающего поддержание в нем активности конкурентной микробиоты. При этом становится очевидным, что этиология и патофизиология многих гастроэнтерологических заболеваний, таких как гастрит, атрофический гастрит, дуоденит, синдром мальабсорбции и ряд других, в первую очередь связаны с отсутствием в воде пероксидных анион-радикалов, которые призваны обеспечивать энергетические функции митохондрий клеток организма.

Литература

(п.п. 2, 3, 8–12, 14–16 см. References)

1. Курмангулов А.А., Дороднева Е.Ф., Исакова Д.Н. Функциональная активность микробиоты кишечника при метаболическом синдроме. *Ожирение и метаболизм*. 2016; 13(1): 16–9. <https://doi.org/10.14341/omet2016116-19>
4. Рахманин Ю.А., Стехин А.А., Яковлева Г.В. *Биофизика воды: Квантовая нелокальность в технологиях водоподготовки; регуляторная роль ассоциированной воды в клеточном метаболизме; нормирование биоэнергетической активности питьевой воды*. М.: ЛЕНАНД; 2016.
5. Кулагин М.В., Яковлева Г.В., Стехин А.А., Гукасов В.М., Шовкоплас Ю.А. Параметризация фазы ассоциированной воды с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Медицина и высокие технологии*. 2018; (4): 33–43.
6. МУК 4.2.1018-01. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды (с Изменением № 1). М.; 2001.
7. МУ 2.1.4.1184-03. Методические указания по внедрению и применению санитарно-эпидемиологических правил и нормативов СанПиН 2.1.4.1116-02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества» (с Изменением № 1). М.; 2003.
13. Ткач С.М., Пучков К.С., Сизенко А.К., Кузенко Ю.Г. Кишечная микробиота и функциональные заболевания кишечника. *Современная гастроэнтерология*. 2014; (1): 118–29.

References

1. Kurmangulov A.A., Dorodneva E.F., Isakova D.N. Functional activity of intestinal microbiota with metabolic syndrome. *Ozhirenie i metabolizm*. 2016; 13(1): 16–9. <https://doi.org/10.14341/omet2016116-19>. (in Russian)
2. Lyte M. Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: how bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS Pathog*. 2013; 9(11): e1003726. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003726>
3. Stekhin A.A., Yakovleva G.V., Iksanova T.I., Pronko K.N., Zemskov V.M. Evolution of the effect of structural-physical changes in water on biological activity. *Clin. Pract*. 2018; 15(5): 861–71. <https://doi.org/10.4172/clinical-practice.1000419>
4. Rakhmanin Yu.A., Stekhin A.A., Yakovleva G.V. *Water Biophysics: Quantum Nonlocality in Water Treatment Technologies; Regulatory Role of Associated Water in Cellular Metabolism; Regulation of Bioenergetic Activity of Drinking Water [Biofizika vody: Kvantovaya nelokalnost' v tekhnologiyakh vodopodgotovki; regul'yatornaya rol' assotsirovannoy vody v kletochnom metabolizme; normirovanie bioenergeticheskoy aktivnosti pit'evoy vody]*. Moscow: LENAND; 2016. (in Russian)
5. Kulagin M.V., Yakovleva G.V., Stekhin A.A., Gukasov V.M., Shovkoplyas Yu.A. Parameterization of the associated water phase using high performance

- liquid chromatography. *Meditsina i vysokie tekhnologii*. 2018; (4): 33–43. (in Russian)
6. Methodical instructions MUK 4.2.1018-01. Sanitary-microbiological analysis of drinking water (Change No. 1). Moscow; 2001. (in Russian)
 7. Methodical instructions 2.1.4.1184-03. Guidelines for the implementation and application of sanitary and epidemiological rules and regulations SanPiN 2.1.4.1116-02 “Drinking water. Hygienic requirements for the quality of water packaged in a container. Quality control” (with Change No. 1). Moscow; 2003. (in Russian)
 8. Trindade I.B., Invernici M., Cantini F., Louro R.O., Piccioli M. ¹H, ¹³C and ¹⁵N assignment of the paramagnetic high potential iron-sulfur protein (HiPIP) PioC from *Rhodospseudomonas palustris* TIE-1. *Biomol. NMR Assign*. 2020; 14(2): 211–5. <https://doi.org/10.1007/s12104-020-09947-6>
 9. Read A.D., Bentley R.E., Archer S.L., Dunham-Snary K.J. Mitochondrial iron-sulfur clusters: Structure, function, and an emerging role in vascular biology. *Redox Biol*. 2021; 47: 102164. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102164>
 10. Brzoza P., Godlewska U., Borek A., Morytko A., Zegar A., Kwiecinska P., et al. Redox active antimicrobial peptides in controlling growth of microorganisms at body barriers. *Antioxidants (Basel)*. 2021; 10(3): 446. <https://doi.org/10.3390/antiox10030446>
 11. Hopkins E.G.D., Frankel G. Overview of the effect of *Citrobacter rodentium* infection on host metabolism and the microbiota. In: Schüller S., Bielaszewska M., eds. *Shiga Toxin-Producing E. coli. Methods in Molecular Biology*. New York: Humana; 2021: 2291. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1339-9_20
 12. Amulya K., Mohana S.V. Augmenting succinic acid production by bioelectrochemical synthesis: Influence of applied potential and CO₂ availability. *Chem. Eng. J*. 2021; 411: 128377. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128377>
 13. Tkach S.M., Puchkov K.S., Sizenko A.K., Kuzenko Yu.G. Intestinal microbiota and functional bowel diseases. *Sovremennaya gastroenterologiya*. 2014; (1): 118–29. (in Russian)
 14. Ohman L., Simren M. Pathogenesis of IBS: role of inflammation, immunity and neuroimmune interactions. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*. 2010; 7(3): 163–73. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.4>
 15. Parkes G.C., Brostoff J., Whelan K., Sanderson J.D. Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: their role in its pathogenesis and treatment. *Am. J. Gastroenterol*. 2008; 103(6): 1557–67. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01869.x>
 16. Tomasova L., Grman M., Ondrias K., Ufnal M. The impact of gut microbiota metabolites on cellular bioenergetics and cardiometabolic health. *Nutr. Metab. (Lond)*. 2021; 18(1): 72. <https://doi.org/10.1186/s12986-021-00598-5>