

**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ-ОБЛУЧЕНИЯ НА
ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МОНОНУКЛЕАРАХ ПРИ
ПНЕВМОНИИ**

Терехов И.В.¹, Солодухин К.А.², Никифоров В.С.³, Громов М.С.²,

Парфенюк В.К.⁴, Бондарь С.С.⁵

¹ООО «Телемак», г. Саратов; ²Саратовский филиал НГОУ ВПО Самарский медицинский институт «РЕАВИЗ»; ³ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздравсоцразвития РФ, г. Санкт-Петербург; ⁴ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского» Минздравсоцразвития РФ; ⁵ГБУЗ ГКБ №8, г.Саратов.

Сокращенное название: Молекулярная биология СВЧ-облучения

Ключевые слова: СВЧ-излучение, мононуклеары, цитокины, пневмония.

Адрес для переписки: г.Саратов, Ильинская пл., 17, тел.: +79065098019, e-mail: trft@mail.ru.

Введение. Повсеместное распространение электромагнитных излучений техногенного происхождения обуславливает необходимость исследования их влияния на внутриклеточные процессы [3, 8-10]. Экспериментальное подтверждение биологических эффектов низкоинтенсивных электромагнитных излучений миллиметрового (КВЧ) и сантиметрового (СВЧ) диапазона, формирующихся при участии молекул воды, определяет возможность использования данных физических факторов в биомедицинских технологиях [1, 4-6]. Учитывая нерешенность вопроса о характере биологических эффектов низкоинтенсивного СВЧ-излучения в отношении внутриклеточной физиологии, исследования внутриклеточных изменений сопутствующих облучению являются в настоящее время высоко актуальными [5, 6]. При этом особый интерес вызывает исследование последствий СВЧ-облучения при патологических состояниях в аспекте поиска новых методов коррекции функционального состояния организма.

Цель исследования – оценка последствий кратковременного низкоинтенсивного СВЧ-облучения мононуклеаров цельной крови больных внебольничной пневмонией.

Материалы и методы. Обследовано 30 пациентов мужского пола с внебольничной бактериальной пневмонией (ВП) нетяжелого течения в острой стадии заболевания (5-7 сутки) в возрасте 20-35 лет и 15 здоровых мужчин, сопоставимых основной группе по возрасту.

Путем разделения пробы венозной крови от каждого больного на две части, формировали основную группу. Первая (I) подгруппа основной группы включала необлученные образцы крови больных ВП (n = 30), II-я – образцы, подвергнутые СВЧ-облучению в течение 45 минут (n = 30). Группу контроля составили образцы крови 15 практически здоровых лиц.

При работе с образцами, включая облучение и культивирование, использовали наборы «Цитокин-Стимул-Бест» (ЗАО «Вектор Бест», г.Новосибирск). Облучение крови, смешанной со средой DMEM в соотношении 1:4 проводили аппаратом микроволновой терапии «Акватон-02» (ООО «ТЕЛЕМАК», г. Саратов), на частоте $1000 \pm 0,01$ МГц в течении 45 минут. По окончании облучения образцы инкубировали при 37°C в течение 24 часов, после чего на градиенте фикола-верографин ($\rho = 1,077$) выделяли мононуклеары.

Оценка молекулярных маркеров патологического процесса проводилась методом ИФА и включала определение в клеточном супернатанте концентрации интерлейкинов (IL) IL-2, IL-4, интерферона (INF) INF- γ , белка p21, уровня перекисей и общей антиоксидантной активности. В лизате мононуклеаров определяли уровень ядерного фактора транскрипции NF κ B, его ингибитора – I κ B, концентрацию фосфорилированной по тирозину/треонину 183/185 c-jun-NH₂ терминальной протеинкиназы JNK 1/2.

Статистическую обработку проводили в программе Statistica 7,0.

Статистическую значимость (p) межгрупповых различий оценивали с помощью критерия Вилкоксона.

Результаты исследования. Концентрация исследованных маркеров представлена в табл.

Табл.

Анализ результатов исследования выявил у больных ВП повышение продукции IL-2 в 7,1 раза ($p = 0,0012$), IL-4 в 5,8 раза ($p = 0,021$), INF- γ в 2,8 раза ($p = 0,0041$), белка p21 в 3,2 раза ($p = 0,045$) в сравнении с контролем. Так же был выявлен рост внутриклеточной концентрации фосфорилированной формы c-jun-NH₂ терминальной протеинкиназы в 4,5 раза, указывающий на активацию каскада стресс-индуцируемых протеинкиназ (SAPK) у обследованных. Указанные изменения протекали на фоне повышенного в 2,3 раза ($p = 0,012$) внутриклеточного содержания NF κ B, и в 2,0 раза – I κ B ($p = 0,017$), что сопровождалось увеличением их соотношения с 1,26 до 1,47.

Анализ состояния антиоксидантной системы выявил нарушение баланса в системе про/антиоксиданты, выразившееся в снижении в клеточном супернатанте концентрации антиоксидантов на 32,4% ($p = 0,033$), при повышенном в 3,3 раза содержании перекисей ($p < 0,001$).

Таким образом, развитие воспаления закономерно сопровождается напряжением внутриклеточных молекулярных механизмов поддержания

гомеостаза, высоким уровнем ядерной транскрипции и продукции регуляторных медиаторов.

Проводимое на этом фоне СВЧ-облучение цельной крови больных ВП сопровождалось ростом продукции IL-2 на 8,5% ($p = 0,08$), IL-4 на 17,6% ($p = 0,001$) при неизменном уровне INF- γ . Кроме этого было выявлено увеличение внутриклеточной концентрации белка p21 на 56,3 ($p = 0,031$), а фосфоформы JNK на 18% ($p = 0,052$).

Анализ антиоксидантного потенциала облученной культуры выявил повышение общей антиоксидантной активности супернатанта на 65,2% ($p < 0,001$) до значений группы контроля.

Описанные изменения были сопряжены с увеличением содержания в мононуклеарах фактора транскрипции NF κ B на 12,5% ($p = 0,001$), а I κ B на 21,1% ($p = 0,00072$), при снижении их соотношения с 1,47 до 1,37.

Таким образом, развитие пневмонии сопровождается напряжением внутриклеточных механизмов поддержания гомеостаза и развитием адаптивного иммунного ответа [9-10]. Результаты проведенного исследования показали тесную связь изменений внутриклеточной биохимии с облучением низкоинтенсивным СВЧ-полем. Наблюдаемое увеличение продукции цитокинов, очевидно, является следствием активации транскрипции, на что указывает динамика концентрации NF κ B. В свою очередь, увеличение продукции антиапоптотического белка p21,

так же может являться следствием активации синтеза белка р53, продукция которого так же контролируется NFκB [7].

Заключение. Таким образом характер наблюдаемых эффектов облучения позволяет говорить о чувствительности внутриклеточных процессов к низкоинтенсивному СВЧ-воздействию и возможности модификации работы внутриклеточных молекулярных механизмов через изменение активности протеинкиназ и факторов транскрипции посредством СВЧ-излучения [2, 5, 6].

Список литературы

1. Бецкий О.В. Пионерские работы по миллиметровой электромагнитной биологии, выполненные в ИРЭ РАН //Биомедицинские технологии и радиоэлектроника.– 2003.– №8.– С. 11-20.

2. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины.– СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2008.– 552 с.

3. Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия.– М.: Медицина, 2003.– 288 с.

4. Петросян В.И. Резонансное излучение воды в радиодиапазоне //Письма в ЖТФ.– 2005.– Т.31, Вып. 23.– С. 29-33.

5. Петросян В. И., Синицын Н. И., Ёлкин В. А., Девятков Н. Д., Гуляев Ю. В., Бецкий О. В., Лисенкова Л. А., Гуляев А. И. Роль молекулярно-волновых процессов в природе и их использование для контроля и

коррекции состояния экологических систем //Биомедицинская радиоэлектроника.– 2001.– №5-6.– С. 62-129.

6. Чукова Ю.П. Эффекты слабых воздействий. Термодинамический, экспериментальный (биологический и медицинский), социальный, законодательный, международный и философский аспекты проблемы.– М.: Компания «Алес», 2002.– 426 с.

7. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме /П.М. Чумаков // Успехи биологической химии.–2007.–Т.47.–С. 3-52.

8. Pande V., Ramos M.J. NF-kappaB in human disease: current inhibitors and prospects for de novo structure based design of inhibitors // Curr. Med. Chem.– 2005.– Vol. 12.– №3.– P. 357-374.

9. Quinton L.J., Jones M.R., Simms B.T., Kogan M.S., Robson B.E., Skerrett S.J., Mizgerd J.P. Functions and regulation of nf-kappab rela during pneumococcal pneumonia // J. Immunol.– 2007, Vol. 178.– №3.– P. 1896–1903.

10. Sheller J.R., Polosukhin V.V., Mitchell D., Cheng D.S., Peebles R.S., Blackwell T.S. Nuclear factor kappa B induction in airway epithelium increases lung inflammation in allergen-challenged mice // Exp. Lung Res.– 2009.– Vol. 35.– №10.– P. 883-895.

Концентрация исследованных маркеров

Показатели	Основная группа						Группа контроля		
	I подгруппа			II подгруппа					
	25%	Me	75%	25%	Me	75%	25%	Me	75%
IL-2, пг/мл	12,6	16,4	17,6	13,3	17,2	17,8	2,23	2,32	2,63
IL-4, пг/мл	12,7	14,8	15,9	16,3	17,4	17,9	2,29	2,54	3,16
INF-γ, пг/мл	5,2	5,5	6,2	5,3	5,5	6,2	1,3	2,0	2,5
p21, нг/мл	1,4	1,6	2,0	2,3	2,5	2,6	0,2	0,5	0,6
NFκB, нг/мл	5,1	5,6	6,1	6,1	6,5	6,6	2,2	2,4	3,0
IκB, нг/мл	3,6	3,8	4,2	4,6	4,7	4,7	1,8	1,9	2,5
JNK 1/2, нг/мл	4,2	5,0	5,9	5,2	5,9	6,2	0,8	1,1	1,5
АОС, ед.	1,1	1,15	1,3	1,8	1,9	2,0	1,6	1,7	1,75
Перекиси, мкМоль/л	415	458	479	415	459	480	127	137	143