DOI: 10.17117/na.2016.06.02.401

<http://ucom.ru/doc/na.2016.06.02.401.pdf>

Поступила (Received): 24.06.2016

Терехов И.В., Воеводин А.А.**Содержание в мононуклеарных клетках цельной крови протеинкиназы p38, иммуноглобулина G4 и кателицидина под влиянием микроволн частотой 1 ГГц****Terekhov I.V., Voevodin A.A.****Dynamics of the content in the mononuclear cells of whole blood protein kinases p38, immunoglobulin G4 and cathelicidin under the influence of microwaves at 1 GHz**

В работе исследовано влияние радиоизлучения частотой 1 ГГц на продукцию клетками цельной крови антимикробного пептида кателицидина, иммуноглобулина G4, а так же уровня в мононуклеарных клетках практически здоровых лиц протеинкиназы митоген-активируемого сигнального пути – p38. Показано, что повышение мощности облучения сопровождается ростом концентрации исследованных факторов, в особенности иммуноглобулина. Выявленные особенности свидетельствуют о способности микроволн частотой 1 ГГц способствовать повышению неспецифической резистентности организма к инфекции

Ключевые слова: микроволны, 1 ГГц, кателицидин, иммуноглобулины, протеинкиназа p38

Терехов Игорь Владимирович

Кандидат медицинских наук, доцент
Тульский государственный университет
г. Тула, пр. Ленина, 92

Воеводин Андрей Александрович

Врач-терапевт
Российская военно-медицинская академия им. С.М. Кирова
г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6 Ж

The work investigated the influence of radio frequency 1GHz on production by whole blood cells of antimicrobial peptide cathelicidin, immunoglobulin G4, as well as the level in mononuclear cells of healthy individuals protein kinase of mitogen-activated signaling pathway – P38. It is shown that the increase of capacity of irradiation is accompanied by an increase in the concentration of the studied factors, especially immunoglobulin. The detected features indicate the ability of the microwaves in the 1 GHz to contribute to increased nonspecific resistance to infection

Key words: microwave, 1 GHz, cathelicidin, immunoglobulin, protein kinase p38

Terekhov Igor Vladimirovich

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor
Tula state university
Tula, Lenina ave., 92

Voevodin Andrey Alexandrovich

Physician
Russian military-medical academy named S.M. Kirov
Saint-Petersburg, Akademika Lebedeva st., 6 J

Формирование биологических эффектов ЭМИ на внутриклеточном уровне происходит путем изменения активности систем обеспечивающих переработку информации поступающей от рецепторного аппарата клетки [1].

В связи с тем, что клеточный ответ определяется характером раздражителя и активацией конкретного сигнального пути, очевидно, что модификация функциональной активности сигнальных путей передачи рецепторной информации, либо изменение активности их ключевых звеньев, характер биологического ответа будет существенно различаться [2]. Как известно, в формировании клеточной реактивности на внешние факторы физической и химической природы важную роль играют митоген-активируемые / стресс-активируемые сигнальные пути, терминальным эффектором которых является, в частности, протеинкиназа р38, принимающая участие в активации продукции клеткой защитных факторов, обеспечивающих повышение устойчивости организма к инфекции [3].

Показано, что различные факторы внешней среды, включая электромагнитные излучения (ЭМИ), способны модифицировать работу внутриклеточных систем, приводя к повышению либо снижению функциональной активности клеток, являясь, таким образом, важными эндозкологическими регуляторами [4-6]. Особую роль в регуляции молекулярных процессов играет ЭМИ частотой 1 ГГц, соответствующее резонансной частоте колебаний молекул воды – важнейшего компонента внутриклеточной среды [5, 6]. Влияние внешнего резонансного излучения на клетки проявляется модуляцией продукции ими сигнальных молекул – цитокинов, а так же модификации отдельных звеньев разнообразных внутриклеточных сигнальных путей, включая JAK/STAT и АКТ/mTOR, и ядерного фактора транскрипции NF-κB [14-24].

С целью изучения молекулярных механизмов реализации биологического эффекта ЭМИ частотой 1 ГГц, нами исследована динамика молекулярных маркеров, характеризующих функционирование клеток цельной крови.

Материалы и методы. В ходе исследования обследовано 30 практически здоровых добровольцев в возрасте $22,1 \pm 5,7$ лет, у которых в ходе планового диспансерного наблюдения из локтевой вены забирали для исследования 2,0 мл крови. Образцы крови разделяли на контрольную и основную группы, помещали в стерильные флаконы со средой DMEM в соотношении 1:4. Основную группу облучали в течение 45 минут ЭМИ частотой 1 ГГц ППЭ 0,05 мкВт/см² [7-12]. После облучения образцы инкубировали при 37°C в течение 1, 3, 6, 24 часов, а так же непосредственно после окончания облучения с последующим выделением по стандартной методике на градиенте фиколл-верографина мононуклеарных лейкоцитов (МНК). В ядерно-цитоплазматических лизатах МНК методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов производства Cusabio Biotech определяли концентрацию фосфорилированной по тирозину в позиции 180/182 протеинкиназы р38. В клеточном супернатанте оценивали концентрацию эндогенного антимикробного пептида – кателицидина (LL-37) и иммуноглобулина G4. Результаты исследования обработаны в программе STATISTICA 7.0 и представлены в виде: среднее значение (-95%; +95% доверительный интервал средних значений).

Результаты исследования. Содержание протеинкиназы р38 в МНК представлено на рис. 1.

Примечание: К – контрольная группа, О – основная

Рис. 1. Содержание протеинкиназы p38 в МНК

Анализ динамики уровня фосфорилирования протеинкиназы p38 свидетельствует о выраженном влиянии резонансного ЭМИ на активность митоген-активируемого протеинкиназного пути, что особенно ярко проявляется спустя 24 часа после воздействия. При этом непосредственно после облучения отмечалось увеличение содержания в МНК фосфорилированной формы p38 на 4,1% ($p=0,6$), с последующим ростом на 6,8% ($p=0,44$), 9,3% ($p=0,21$), 12,0% ($p=0,14$) и 13,2% ($p=0,047$) спустя 1, 3, 6 и 24 часов после однократного воздействия.

Примечание: К – контрольная группа, О – основная

Рис. 2. Содержание в клеточном супернатанте IgG4

Однако в случае минимального уровня р38 (при концентрации соответствующей 1 квартилю выборки), облучение сопровождалось повышением соответствующего показателя на 20,0%, 25,8%, 30,3%, 32,4% и 29,7%, в тех же случаях, когда содержание фосфорилированной формы р38 находилось в диапазоне 4-го квартиля (значения, близкие к максимальным), то уровень фосфорилирования р38 под влиянием облучения повышался всего на 3,9%, 5,1%, 9,2% и 10,4% соответственно. В контроле за все время наблюдения (24 часа) уровень фосфоформы р38 возрос всего на 4,1% ($p=0,6$).

Динамика продукции клетками культуры цельной крови иммуноглобулинов подкласса G4 представлена на рис. 2. Влияние однократного воздействия на культуру клеток микроволнами частотой 1 ГГц непосредственно после облучения, сопровождалось повышением в супернатанте уровня IgG4 на 8,1% ($p=0,37$), что в два раза выше соответствующей динамики киназы р38. В последующем наблюдалось дальнейшее повышение уровня IgG4 на 13,2% ($p=0,11$), 18,4% ($p=0,041$), 23,1% ($p=0,022$) и 28,2% ($p=0,015$) соответственно.

Вместе с тем, в тех культурах, где исходный уровень IgG4 находился в границах 1 квартиля, соответствующая динамика составила 30,8%, 35,7%, 33,3%, 53,3% и 80% соответственно. В тех же случаях, когда исходный уровень IgG4 находился в диапазоне 4 квартиля, стимулированный микроволнами прирост его содержания составил 3,0%, 4,5%, 10,6%, 13,4 и 16,7% соответственно.

Динамика содержания в супернатанте LL-37 представлена на рис. 3.

Примечание: K – контрольная группа, O – основная

Рис. 3. Содержание в клеточном супернатанте LL-37

Анализ результатов исследования показал, что сразу по окончании облучения, уровень белка LL-37 в супернатанте повышался на 1,7% ($p=0,7$). В последующем наблюдался рост его содержания на 2,3% ($p=0,55$), 3,4% ($p=0,31$), 4,0% ($p=0,21$) и 4,5% ($p=0,11$) соответственно. В отличие от предыдущих факторов, концентрация LL-37 под влиянием микроволн частотой 1 ГГц изменялась

достаточно равномерно, что проявлялось близкими значениями эффектов облучения в отношении пониженных и повышенных значениях его содержания в межклеточной LL-37 отличался всего на 0,5 – 2 процентных пункта.

Таким образом, низкоинтенсивное резонансное излучение частотой 1 ГГц у практически здоровых лиц способствует повышению уровня фосфорилирования терминальной протеинкиназы митоген-активируемого сигнального пути р38, сопровождающейся увеличением продукции клетками цельной крови иммуноглобулинов подкласса G4, а так же кателицидина.

Указанные эффекты более ярко проявляются в случае исходно сниженных уровней исследованных факторов. Модулирующие эффекты облучения проявляются выравниванием содержания исследованных факторов, приведением их содержания к среднему популяционному уровню. Очевидно, что такое подобные изменения, наблюдающиеся у здоровых лиц, способствуют повышению резистентности организма к инфекции и предупреждению заболеваемости, что позволяет рассматривать низкоинтенсивные микроволны частотой 1 ГГц с точки зрения нового профилактического фактора. При этом данный фактор оказывает значимое воздействие не только на клетки цельной крови, но и на другие типы клеток, включая фибробласты, что позволяет рассматривать исследованные резонансные микроволны в качестве одного из регуляторов, имеющих общебиологическое значение [4-6, 22, 25].

Список используемых источников:

1. Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 2003. 288 с.
2. Ушаков И.Б. Штемберг А.С., Шафиркин А.В. Реактивность и резистентность организма млекопитающих. М.: Наука, 2007. 493 с.
3. Потехина Е.С., Надеждина Е.С. Митоген-активируемые протеиназные каскады и участие в них Ste20-подобных протеиназ // Успехи биол. химии. 2002. Т. 42. С. 235-256.
4. Экспериментальная магнитобиология: воздействие полей сложной структуры / М.В. Грязев, Л.В. Куротченко, С.П. Куротченко и др.: Монография.: Москва – Тверь – Тула: Триада, 2007. 112 с.
5. Поддержание структуры водного матрикса – важнейший механизм гомеостатической регуляции в живых системах (концептуальная модель и ее базовое экспериментальное обоснование) / Г.Е. Бриль, В.И. Петросян, Н.И. Сеницын и др. // Биомедицинская радиоэлектроника. 2000. №2. С. 29-31.
6. Роль молекулярно-волновых процессов в природе и их использование для контроля и коррекции состояния экологических систем / В.И. Петросян, Н.И. Сеницын, В.А. Ёлкин и др. // Биомедицинская радиоэлектроника. 2001. №5-6. С. 62-129.
7. Системные подходы в биологии и медицине (системный анализ, управление и обработка информации) / В.И. Стародубов и др.; под ред. А.А. Хадарцева, В.М. Еськова, А.А. Яшина, К.М. Козырева. Тула: ИНФРА, 2008. 372 с.
8. Власкин С.В., Терехов И.В., Петросян В.И. и др. Способ терапевтического воздействия на биологические объекты электромагнитными волнами и устройство для его осуществления: пат. 2445134 Рос. Федерация: МПК: А61N500, А61N502. № 2010138921/14; заявл. 21.09.2010; опубл. 20.03.2012, Бюл. № 8. 20 с.
9. Влияние сверхвысокочастотного излучения нетепловой интенсивности на выраженность адреналинового отека легких и выживаемость крыс в эксперименте / И.В. Терехов, М.С. Громов, М.А. Дзюба и др. // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2011. № 1. С. 117-122.
10. Оценка альвеоларно-капиллярных нарушений при развитии тяжелого гемодинамического отека легких у крыс и его коррекция с помощью СВЧ излучения / И.В. Терехов, М.А. Дзюба, С.С. Бондарь и др. // Саратовский научно-медицинский журнал. 2011. Т. 7. № 2. С. 389-392.
11. Особенности альвеоларно-капиллярных нарушений при нетяжелом отеке легких у крыс и их коррекция с помощью лечебного аппарата микроволновой терапии «Акватон» / И.В. Терехов, М.А. Дзюба, С.С. Бондарь, Л.Г. Наджарьян // Биомедицинская радиоэлектроника. 2011. № 3. С. 20-24.

12. Морфо-функциональные проявления острого респираторного дистресс-синдрома и его коррекция СВЧ-излучением в эксперименте / И.В. Терехов, А.А. Хадарцев, В.С. Никифоров, С.С. Бондарь // Вестник новых медицинских технологий. 2014. № 1. Публикация 2-58. Doi 10.12737/5026
URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4817.pdf>
13. Продукция цитокинов клетками цельной крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного СВЧ-облучения / И.В. Терехов, А.А. Хадарцев, В.С. Никифоров, С.С. Бондарь // Вестник новых медицинских технологий. 2014. № 1. Публикация 2-57. Doi 10.12737/5025
URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf>
14. Особенности биологического действия низкоинтенсивного СВЧ-излучения на продукцию цитокинов клетками цельной крови при внебольничной пневмонии / И.В. Терехов, К.А. Солодухин, В.О. Ицкович и др. // Цитокины и воспаление. 2012. Т.11. №4. С. 67-72.
15. Особенности биологического эффекта низкоинтенсивного СВЧ-облучения в условиях антигенной стимуляции мононуклеаров цельной крови / И.В. Терехов, К.А. Солодухин, В.С. Никифоров и др. // Физиотерапевт. 2013. №1. С. 26-32.
16. Функциональное состояние клеток цельной крови при внебольничной пневмонии и его коррекция СВЧ-излучением / И.В. Терехов, А.А. Хадарцев, В.С. Никифоров, С.С. Бондарь // Фундаментальные исследования. 2014. №10 (4). С. 737-741.
17. Исследование возможности использования нетеплового СВЧ-излучения в реабилитационном периоде у больных внебольничной пневмонией / И.В. Терехов, К.А. Солодухин, В.С. Никифоров // Физиотерапевт. 2011. №4. С. 12-17.
18. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии / И.В. Терехов, К.А. Солодухин, В.С. Никифоров и др. // Медицинская иммунология. 2012. Т.14. №6. С. 541-544.
19. Молекулярные механизмы иммунореабилитации при использовании низкоинтенсивного СВЧ-излучения / И.В. Терехов, В.И. Петросян, Б.Л. Дягилев и др. // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2011. Т.1. № 5. С. 34-37.
20. Метаболические эффекты низкоинтенсивной дециметровой физиотерапии при артериальной гипертонии / А.В. Логаткина, С.С. Бондарь, И.В. Терехов, А.А. Собченко // Вестник новых медицинских технологий. 2015. Т. 22. № 2. С. 71-77.
21. Бондарь С.С., Логаткина А.В., Терехов И.В. Зависимость содержания отдельных молекул в агранулоцитах цельной крови при ишемической болезни сердца от уровня фосфорилирования протеинкиназы р38 на фоне низкоинтенсивного СВЧ-облучения // Вестник новых медицинских технологий. 2016. №1. Публикация 2-6. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-6.pdf>
Doi: 10.12737/18561
22. Бондарь С.С., Терехов И.В. Влияние низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц на функциональное состояние мононуклеарных лейкоцитов цельной крови у практически здоровых молодых лиц // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 4-6. С. 1083-1087.
23. Бондарь С.С., Терехов И.В. Состояние IL1/TOLL-сигнального пути в мононуклеарных лейкоцитах в постклиническую фазу острого инфекционно-воспалительного процесса нижних отделов респираторного тракта под влиянием низкоинтенсивного излучения частотой 1 ГГц // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 4-6. С. 1088-1093.
24. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Бондарь С.С. Состояние рецепторзависимых сигнальных путей в агранулоцитах периферической крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием микроволнового излучения // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2016;93(3): 23-28. Doi. 10.17116/kurort2016323-28
25. Sunkari VG, Aranovitch B, Portwood N, Nikoshkov A. Effect of low-intensity electromagnetic field on fibroblast migration and proliferation. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2011; 30 (2): 80-85.

© 2016, Терехов И.В., Воеводин А.А.

Содержание в мононуклеарных клетках цельной крови протеинкиназы р38, иммуноглобулина G4 и кателицидина под влиянием микроволн частотой 1 ГГц

© 2016, Terekhov I.V., Voevodin A.A.

Dynamics of the content in the mononuclear cells of whole blood protein kinases p38, immunoglobulin G4 and cathelicidin under the influence of microwaves at 1 GHz