

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

Терехов И.В.^{1,4}, Солодухин К.А.², Никифоров В.С.³,
Громов М.С.², Парфенюк В.К.⁴, Бондарь С.С.⁵

¹ ООО «Телемак», г. Саратов

² Саратовский филиал НГБОУ ВПО Самарский медицинский институт «РЕАВИЗ», г. Саратов

³ ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздравсоцразвития РФ, Санкт-Петербург

⁴ ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздравсоцразвития РФ, г. Саратов

⁵ ГБУЗ ГКБ № 8, г. Саратов

Резюме. В мононуклеарах цельной крови у больных внебольничной пневмонией ($n = 30$) и здоровых лиц ($n = 15$) возрасте 18-30 лет изучалась концентрация некоторых молекулярных маркеров, а также влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения частотой 1000 МГц плотностью потока мощности 100 пВт/см² на их продукцию. Показано, что однократное облучение приводит к повышению внутриклеточного содержания NFκB 12,5% ($p = 0,001$), IkB на 21,1% ($p = 0,00072$), фосфоформы JNK 1/2 на 18,2% ($p = 0,052$), белка p21 на 56,2% ($p = 0,031$), IL-2 на 8,5% ($p = 0,08$), IL-4 на 17,6% ($p = 0,031$), увеличению антиоксидантного потенциала клеточного супернатанта на 65,2% ($p < 0,001$). Таким образом, СВЧ-излучение частотой 1000 МГц модулирует активность внутриклеточных процессов в мононуклеарах цельной крови больных пневмонией.

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

Terekhov I.V., Solodukhin K.A., Nikiforov V.S., Gromov M.S., Parfenyk V.K., Bondar S.S.

EFFECTS OF LOW-INTENSITY MICROWAVE IRRADIATION UPON INTRACELLULAR SIGNALING OF MONONUCLEAR CELLS IN PNEUMONIA PATIENTS

Abstract. Some molecular biomarkers of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were studied in patients 18 to 30 years old with community-acquired pneumonia ($n = 30$) and healthy persons ($n = 15$), along with testing appropriate biological effects of low-intensity microwave irradiation (1000 MHz), at a dose rate of 100 pW/cm². Concentrations of cytokines and some molecules providing intracellular signal transduction in PBMC were measured by ELISA tests. Biological action of microwave radiation was studied after 1-hour irradiation of whole blood, followed by incubation for 24 hours. A single round of irradiation was shown to cause an increase in NFκB content by 12.5% ($p = 0.001$); IkB by 21.1% ($p = 0.0007$); phosphorylated JNK1/2, by 18.2% ($p = 0.052$); p21 protein amounts, by 56.2% ($p = 0.031$); IL-2, by 8.5% ($p = 0.08$); IL-4, by 17.6% ($p = 0.031$). Antioxidant potential of PBMC supernate was augmented by 65.2% ($p < 0,001$). Hence, a single 1000-MHz microwave irradiation modulates activity of intracellular events in PBMCs from pneumonia patients. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 6, pp 541-544)

Адрес для переписки:

Терехов Игорь Владимирович, к.м.н.,
ГБОУ ВПО «Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского»
Минздравсоцразвития РФ
410017, г. Саратов, Ильинская пл., 17.
E-mail: trft@mail.ru

Keywords: microwave radiation, mononuclear cells, cytokines, transcription factors, pneumonia.

Введение

Повсеместное распространение электромагнитных излучений техногенного происхождения обуславливает необходимость исследования их влияния на внутриклеточные процессы [3, 8, 9, 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, 5, 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 течение 45 минут. По окончании облучения образцы инкубировали при 37°C в течение 24 часов, после чего на гра-

диенте фикол-верографин ($p = 1,077$) выделяли мононуклеары.

Оценка молекулярных маркеров патологического процесса проводилась методом ИФА и включала определение в клеточном супернатанте концентрации интерлейкинов (IL) IL-2, IL-4, интерферона (IFN) IFN 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-NH $_2$ терминальной протеинкиназы JNK 1/2.

Статистическую обработку проводили в программе Statistica 7,0. Статистическую значимость (p) межгрупповых различий оценивали с помощью критерия Вилкоксона.

Результаты

Концентрация исследованных маркеров представлена в таблице 1.

Анализ результатов исследования выявил у больных ВП повышение продукции IL-2 в 7,1 раза ($p = 0,0012$), IL-4 в 5,8 раза ($p = 0,021$), IFN 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-NH $_2$ 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 IFN γ . Кроме этого было выявлено увеличение внутриклеточной концентрации белка p21 на 56,3 ($p = 0,031$), а фосфоформы JNK на 18% ($p = 0,052$).

ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В ГРУППАХ

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
IFN 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
NF κ B, нг/мл	5,1	5,6	6,1	6,1	6,5	6,6	2,2	2,4	3,0
I κ B, 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
AOC, ед.	1,1	1,15	1,3	1,8	1,9	2,0	1,6	1,7	1,75
Переокиси, мкмоль/л	415	458	479	415	459	480	127	137	143

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 p53, продукция которого так же контролируется NF κ B [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., Сеницын 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 // 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, N 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, N 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, N 10. — P. 883-895.

поступила в редакцию 21.03.2012

отправлена на доработку 02.04.2012

принята к печати 23.04.2012