

**ЗАВИСИМОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В АГРАНУЛОЦИТАХ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА ОТ УРОВНЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ПРОТЕИНКИНАЗЫ P38 НА ФОНЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ-ОБЛУЧЕНИЯ**

С.С. БОНДАРЬ, А.В. ЛОГАТКИНА, И.В. ТЕРЕХОВ

*Тульский государственный университет, пр-т Ленина, д. 92, г. Тула, Россия, 300012*

**Аннотация.** Исследованы молекулярные показатели, отражающие состояние стресс-лимитирующих систем мононуклеарных лейкоцитов цельной крови, а так же влияние на эти системы низкоинтенсивного СВЧ-излучения у пациентов с ишемической болезнью сердца. В работе оценивалась концентрация в клетках компонентов *PI3P/AKT/mTOR/p70S6K1*-сигнального пути, белков теплового шока (БТШ27, БТШ70, БТШ90), концентрация антиоксидантов и перекисей в зависимости от уровня фосфорилирования терминальной протеинкиназы *MAPK/SAPK*-сигнального пути – *p38*.

Результаты исследования. У пациентов с ишемической болезнью сердца установлена зависимость уровня исследованных факторов от степени фосфорилирования *p38*. Показана чувствительность *p38* к воздействию низкоинтенсивного СВЧ-излучения, проявляющаяся повышением уровня ее фосфорилирования в облученных культурах. Кроме того, в исследовании выявлена чувствительность к низкоинтенсивному СВЧ-облучению содержания в мононуклеарах фосфорилированных форм протеинкиназ *AMPK, AKT1, p70S6K1*, а так же антиоксидантного статуса и протеина *p53*, зависящая от исходного содержания в клетке фосфорилированной формы *p38*. Выявлена способность микроволнового излучения снижать содержание в клетках протеинкиназы *AKT* и *p70* более выраженная при высоком уровне фосфорилирования *p38*.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, *p38, AMPK, AKT1, p70S6K1*, антиоксиданты, микроволны.

**DEPENDENCE OF THE CONTENT OF INDIVIDUAL MOLECULES IN AGRANUCOCYTES OF WHOLE BLOOD AT CORONARY HEART DISEASE FROM THE LEVEL OF PHOSPHORYLATION OF PROTEIN KINASE R 38 IN TERMS OF LOW INTENSITY MICROWAVE RADIATION**

S.S. BONDAR', A.V. LOGATKINA, I.V. TEREHOV

*Tula State University, Lenin av., 92, Tula, Russia, 300012*

**Abstract.** Molecular indicators reflecting the states of stress-limiting systems of mononuclear leucocytes in the blood, as well as the effects of low-intensive microwave radiation in patients with coronary artery disease were studied. The work it was evaluated the content in mononuclear leucocytes whole blood of components *PI3P/AKT/mTOR/p70S6K1* of signaling pathway, heat shock proteins (HSP27, HSP70, HSP90), the concentration of antioxidants and peroxides depending on the level of phosphorylation of the terminal protein kinase *MAPK/SAPK* of signaling pathway – *p38*.

The results of the study. It was revealed the dependence of a level of studied factors from the degree of phosphorylation *p38* in patients with coronary heart disease. It was defined the 38 p sensitivity to the effects of low-intensity microwave radiation, it is manifested by increased level of phosphorylation in the irradiated cultures. This study revealed the sensitivity to low-intensity microwave irradiation of content in the mononuclear cells phosphorylated forms of the protein kinases *AMPK, AKT1, p70S6K1*, as well as the antioxidant status and protein of *p53*-dependent initial content in the cell phosphorylated form *p38*. It was shown a possibility of microwave radiation to reduce the content in the cells of the protein kinase and *p70* ACT more pronounced at high levels of phosphorylation *p38*.

**Key words:** coronary heart disease, *p38, AMPK, AKT1, p70S6K1*, antioxidants, microwave.

**Введение.** Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), в частности, ИБС в настоящее время являются основной причиной смертности в экономически развитых странах [1, 20]. Высокий уровень стресса, в том числе, психо-эмоционального, а так же обусловленного воздействием разнообразных физических и химических факторов, включая канцерогены и митогены, определяет формирование иммунонейроэндокринных нарушений, сопровождающих нестабильное течение заболевания и развитие жизнеугрожающих осложнений [2-4]. В патогенезе ССЗ в настоящее время значительное место отводится дисфункции эндотелия, нарушениям нервной и гуморальной регуляции, а так же водно-солевого обмена [3-5, 20]. Вместе с тем, функциональное состояние иммунокомпетентных клеток (ИКК), в частности, реактивность внут-

риклеточных стресс-лимитирующих систем и их значение в формировании патологических реакций охарактеризовано недостаточно полно [3, 4].

Учитывая единство стресс-лимитирующих механизмов внутриклеточной защиты, развитие стресса, связанного с патологическим процессом у пациентов с ИБС, негативно отражается на иммунной регуляции и функциональной активности иммунокомпетентных клеток, что, в свою очередь, приводит к их активации и провоспалительной активности, ухудшающей течение основного заболевания. При этом нормализация реактивности ИКК на цитокины, *активные формы кислорода* (АФК) и митогены, является необходимым условием восстановления межклеточных взаимодействий и нормализации адгезионной и трофической функции эндотелия [2-5, 19].

В формировании нормальной клеточной активности определяющую роль играет *MAPK/SAPK*-сигнальный путь, определяющий клеточный ответ на различные стрессоры химической и физической природы [21, 28]. В свою очередь, метаболический статус клетки, ее устойчивость к стрессам, выживание и рост определяется состоянием *PI3P/AKT/mTOR/p70S6K1*-сигнального пути [22]. При этом очевидно, что в процессах клеточной жизнедеятельности задействованы многие механизмы саногенеза, что требует использования для их изучения системного подхода [6, 7].

В настоящее время продолжается поиск новых факторов, обеспечивающих регулирующее влияние на внутриклеточные сигнальные пути и эффекторные внутриклеточные механизмы, нормализующих клеточную реактивность на провоспалительные цитокины, факторы роста, АФК, способствующих повышению антиоксидантного потенциала клеточной системы, эффективности репаративных и регенеративных процессов на клеточном и тканевом уровне. Одним из таких факторов, обладающих высоким саногенным потенциалом, является электромагнитное излучение микроволнового и миллиметрового диапазона [8-11]. Так, микроволновое резонансное излучение частотой 1000 МГц плотностью потока мощности менее 100 нВт/см<sup>2</sup>, оказывают модулирующее действие на клеточные взаимосвязи, опосредованное изменением продукции цитокинов и факторов роста [11-13].

**Цель исследования.** Изучение особенностей влияния низкоинтенсивного микроволнового излучения на содержание в мононуклеарах цельной крови компонентов *PI3P/AKT/mTOR/p70S6K1*-сигнального пути, протеинкиназы *AMPK*, факторов, регулирующих клеточный цикл, *белков теплового шока* (БТШ), уровня АФК, а так же антиоксидантного статуса клеток цельной крови практически здоровых лиц.

**Материалы и методы исследования.** В соответствии с целью исследования обследовано 40 пациентов обоего пола со стенокардией напряжения II-III *функционального класса* (ФК) в возрасте 73,1±7,5 лет. Критериями исключения пациентов из исследования являлись обострения воспалительных заболеваний, декомпенсация углеводного обмена, обострение хронической неинфекционной патологии внутренних органов, хроническая сердечная недостаточность IV ФК (*NYHA*).

Материалом для исследования служила венозная кровь, забиравшаяся в утренние часы (с 7-00 до 7-30) из локтевой вены в объеме 5,0 мл. Путем разделения образцов крови на две части формировали подгруппы исследования. Первая (1) подгруппа включала необлученные образцы крови, 2-я – образцы, подвергнутые облучению электромагнитным излучением плотностью потока мощности 100 нВт/см<sup>2</sup> частотой 1000 МГц [14].

Для проведения исследования 1 мл цельной крови пациента вносили во флакон, содержащий 4 мл *поддерживающей среды* (*DMEM*), гепарин (2,5 ед./мл), гентамицин (100 мкг/мл), и *L*-глутамин (0,6 мг/мл), после чего образцы крови 1-й подгруппы облучали в течение 45 минут аппаратом микроволновой терапии «Акватон-02» (регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10939) [4, 11, 15]. После облучения флаконы помещались в термостат при 37 °С с последующим центрифугированием при 10000 *G* в течение 3 мин и осаждением клеток. Мононуклеары выделяли с использованием пробирок *Vacutainer* (*Becton Dickinson*, США), содержащих 2,0 мл фиколла ( $\rho=1,077$ ) и разделительный гель.

Подготовка лизатов мононуклеаров осуществлялась в соответствии с рекомендациями производителей наборов реагентов для проведения ИФА. При этом для приготовления лизатов использовали 1 мл клеточной суспензии содержащей  $1 \cdot 10^6$  клеток. Подсчет клеток и анализ их жизнеспособности осуществляли с помощью счетчика *TC20* (*Bio-Rad*, США). Жизнеспособность клеток использованных в исследовании составляла более 90%.

В ходе исследования в клеточных супернатантах методом *иммуноферментного анализа* (ИФА) оценивалась *общая антиоксидантная способность* (АОХ) и *концентрация перекисей* (*PEROX*). В клеточных лизатах мононуклеаров цельной крови, методом ИФА оценивали концентрацию фосфорилированной по треонину/тироzinу в положении 180/182 протеинкиназы *p38*, *AKT1*, фосфорилированной по серину в положении 473, цАМФ-активируемой протеинкиназы (*AMPK*), рибосомальной протеинкиназы *p70S6K1*, фосфорилированной формы белка ретинобластомы (*Rb*). В клеточных лизатах так же оценивали содержание белков *p53*, *p21*, *p27*, БТШ27, 70, 90, а так же цАМФ, цГМФ.

При проведении исследований использовались наборы реактивов для ИФА производства *CUSABIO BIOTECH* (Китай), при работе с культурами клеток цельной крови использовали наборы «Ци-

токин-Стимул-Бест» (ЗАО «Вектор Бест», г.Новосибирск). Анализ проводили на анализаторе *Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия)* в соответствии с рекомендациями производителей наборов реактивов.

Статистическую обработку проводили в программе *STATISTICA 7.0*. Статистическую значимость (*p*) межгрупповых различий в независимых и связанных выборках, оценивали с помощью *U*-критерия Манна-Уитни и *W*-критерия Вилкоксона соответственно. Результаты исследования, в виду значительного объема, представлены в виде среднего (*x*) и выборочного среднеквадратичного отклонения (*s*).

**Результаты и их обсуждение.** Исследование уровня *p38* показало, что среднее содержание данного фактора в клетках составляет  $0,44 \pm 0,1$  ед. Уровень *p38*, соответствующий 1-му и 4-му квартилям выборочной совокупности, составил 0,30 и 0,55 ед., 10% и 90% процентилям – 0,23 и 0,70 ед. Таким образом, результаты анализа позволили сформировать две группы исследования: с низким (группа 1) и высоким (группа 2) содержанием *p38*. При этом в первую группу ( $n=16$ ) были включены образцы клеточных культур с содержанием фосфорилированной формы *p38* 0,23 ед. и менее, во вторую ( $n=24$ ) – образцы с содержанием *p38* 0,7 ед. и более.

Содержание исследованных факторов в группах представлено в табл.1.

Таблица 1

**Содержание исследованных факторов в группах исследования**

| Фактор         | Группа 1 |          | Группа 2 |          | Межгрупповые различия, % |
|----------------|----------|----------|----------|----------|--------------------------|
|                | <i>x</i> | <i>s</i> | <i>x</i> | <i>s</i> |                          |
| <b>цАМФ</b>    | 6,07     | 1,28     | 5,72     | 0,18     | -58,0                    |
| <b>цГМФ</b>    | 2,51     | 0,28     | 2,12     | 0,14     | -155,4                   |
| <b>АМРК</b>    | 1,29     | 0,33     | 1,4      | 0,23     | 88,6                     |
| <b>АКТ1</b>    | 2,35     | 0,25     | 2,15     | 0,22     | -87,7                    |
| <b>p70S6K1</b> | 3,19     | 1,17     | 5,0      | 1,67     | 567,0                    |
| <b>p53</b>     | 2,3      | 0,34     | 3,4      | 0,43     | 460,3                    |
| <b>p21</b>     | 0,79     | 0,31     | 0,98     | 0,13     | 236,7                    |
| <b>p27</b>     | 1,42     | 0,45     | 1,53     | 0,19     | 76,4                     |
| <b>Rb</b>      | 2,71     | 0,68     | 4,91     | 0,32     | 813,1                    |
| <b>БТШ27</b>   | 28,9     | 2,52     | 25,2     | 1,6      | -129,5                   |
| <b>БТШ70</b>   | 140,6    | 15,8     | 146,1    | 11,9     | 39,4                     |
| <b>БТШ90</b>   | 6,19     | 0,87     | 7,21     | 1,06     | 164,0                    |
| <b>АОХ</b>     | 1,59     | 0,22     | 1,55     | 0,06     | -29,3                    |
| <b>PEROX</b>   | 149,2    | 62,1     | 181,9    | 41,1     | 219,2                    |
| <b>p38</b>     | 0,23     | 0,05     | 0,7      | 0,15     | 2084,9                   |

Проведенный анализ показал, что в группе с низким уровнем *p38* отмечается повышенный уровень циклических нуклеотидов, в особенности цГМФ, БТШ27, протеинкиназы *АКТ1*, антиоксидантов. Вместе с тем, в группе с высоким уровнем данного фактора наблюдается снижение фосфорилирования белка ретинобластомы, протеинкиназы *p70S6K1*, содержания протеинов *p53* и *p21*, а так же БТШ90.

Таким образом, более высокий уровень фосфорилирования *p38* ассоциируется с повышенным содержанием в клетке фосфорилированной формы белка *Rb*, протеинкиназ *p70S6K1*, *АМРК*, протеинов *p53* и *p21*, БТШ90, а так же снижением уровня циклических нуклеотидов, БТШ27, протеинкиназы АКТ. Указанные особенности так же сочетаются с повышенным уровнем перекисей и снижением антиоксидантного статуса.

В табл.2. представлены результаты оценки статистической значимости выявленных межгрупповых различий.

Статистическая значимость межгрупповых различий

| Фактор  | Сумма рангов группы 1 | Сумма рангов группы 2 | U-критерий | Z-критерий | 2-х сторонний точный p |
|---------|-----------------------|-----------------------|------------|------------|------------------------|
| цАМФ    | 345,0                 | 396,0                 | 143,0      | 0,98       | 0,34                   |
| цГМФ    | 437,0                 | 304,0                 | 51,0       | 3,7        | 0,000                  |
| АМРК    | 237,0                 | 504,0                 | 101,0      | -2,22      | 0,026                  |
| АКТ1    | 392,5                 | 348,5                 | 95,5       | 2,38       | 0,016                  |
| p70S6K1 | 207,5                 | 533,5                 | 71,5       | -3,09      | 0,001                  |
| Rb      | 140,0                 | 601,0                 | 4,0        | -5,09      | 0,000                  |
| p53     | 136,0                 | 605,0                 | 0,0        | -5,2       | 0,000                  |
| p21     | 227,5                 | 513,5                 | 91,5       | -2,5       | 0,011                  |
| p27     | 297,0                 | 444,0                 | 161,0      | -0,44      | 0,67                   |
| АОХ     | 375,5                 | 365,5                 | 112,5      | 1,88       | 0,06                   |
| PEROX   | 74,0                  | 157,0                 | 38,0       | -1,01      | 0,34                   |
| БТШ27   | 449,5                 | 291,5                 | 38,5       | 4,07       | 0,000                  |
| БТШ70   | 254,0                 | 487,0                 | 118,0      | -1,71      | 0,09                   |
| БТШ90   | 229,0                 | 512,0                 | 93,0       | -2,45      | 0,013                  |

Проведенный анализ показал, что межгрупповые различия средних значений концентрации цАМФ, протеина p27, а так же БТШ70 не являлись статистически значимыми. Так же не выявлено статистически значимых различий уровня перекисей и концентрации антиоксидантов. Напротив, уровень цГМФ, протеинкиназы p70S6K1, белков p53 и Rb, а так же БТШ27 характеризовался статистически значимыми межгрупповыми различиями.

Результаты анализа биологических эффектов низкоинтенсивного СВЧ-облучения культуры клеток цельной крови, в зависимости от внутриклеточного содержания фосфорилированной формы p38 представлены в табл. 3.

Таблица 3

Эффекты облучения в группе с низким внутриклеточным содержанием p38

| Фактор  | Исходная концентрация |      | СВЧ-воздействие |      | Эффект облучения, % |
|---------|-----------------------|------|-----------------|------|---------------------|
|         | x                     | s    | x               | s    |                     |
| цАМФ    | 6,07                  | 1,28 | 5,93            | 1,20 | -22,9*              |
| цГМФ    | 2,51                  | 0,28 | 2,48            | 0,20 | -10,6*              |
| АМРК    | 1,29                  | 0,33 | 1,16            | 0,28 | -100,2**            |
| АКТ1    | 2,35                  | 0,25 | 2,28            | 0,27 | -30,1*              |
| p70S6K1 | 3,19                  | 1,17 | 3,03            | 0,95 | -51,4**             |
| p53     | 2,3                   | 0,34 | 2,38            | 0,37 | 35,0*               |
| p21     | 0,79                  | 0,31 | 0,81            | 0,34 | 19,6*               |
| p27     | 1,42                  | 0,45 | 1,43            | 0,46 | 5,9                 |
| Rb      | 2,71                  | 0,68 | 2,82            | 0,77 | 42,4*               |
| БТШ27   | 28,9                  | 2,52 | 29,1            | 2,62 | 6,5                 |
| БТШ70   | 140,6                 | 15,8 | 142,3           | 16,2 | 12,1*               |
| БТШ90   | 6,19                  | 0,87 | 6,26            | 0,86 | 11,6*               |
| АОХ     | 1,59                  | 0,22 | 1,70            | 0,19 | 68,3**              |
| PEROX   | 149,2                 | 62,1 | 155,5           | 65,1 | 41,8*               |
| p38     | 0,23                  | 0,05 | 0,24            | 0,04 | 57,8**              |

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ .

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о том, что наименее подвержены воздействию микроволн концентрация протеина p27, цГМФ и БТШ-27. Максимальный эффект облучения проявлялся в отношении содержания фосфорилированной формы АМРК и уровня антиоксидантов. При этом в первом случае отмечалось снижение внутриклеточной концентрации АМРК, во втором – повышение антиоксидантного статуса клеточного супернатанта.

Отрицательное влияние облучения отмечено в отношении концентрации циклических нуклеотидов, особенно цАМФ, а так же протеинкиназ *p70S6K1* и *AKT1*. Вместе с тем, облучение сопровождалось повышением внутриклеточного уровня протеинов *p53*, *p21* и *p27*, а так же уровня фосфорилирования *Rb*. В облученных культурах на фоне минимального внутриклеточного уровня *p38* наблюдалось повышение содержания в клетке белков теплового шока высокой молекулярной массы и увеличение концентрации в супернатанте перекисей.

Эффекты облучения в культурах с высоким исходным уровнем *p38* представлены в табл. 4.

Таблица 4

**Эффекты облучения в группе с высоким внутриклеточным содержанием *p38***

| Фактор         | Исходная концентрация |          | СВЧ-воздействие |          | Эффект облучения, % |
|----------------|-----------------------|----------|-----------------|----------|---------------------|
|                | <i>x</i>              | <i>s</i> | <i>x</i>        | <i>s</i> |                     |
| цАМФ           | 5,72                  | 0,18     | 5,81            | 0,26     | 16,4*               |
| цГМФ           | 2,12                  | 0,14     | 2,25            | 0,16     | 59,9**              |
| АМРК           | 1,4                   | 0,23     | 1,43            | 0,22     | 21,2*               |
| АКТ            | 2,15                  | 0,22     | 2,08            | 0,25     | -31,2*              |
| <i>p70S6K1</i> | 5,0                   | 1,67     | 4,88            | 1,39     | -24,5*              |
| <i>p53</i>     | 3,36                  | 0,43     | 3,41            | 0,41     | 14,5*               |
| <i>p21</i>     | 0,98                  | 0,13     | 1,06            | 0,15     | 85,1**              |
| <i>p27</i>     | 1,53                  | 0,19     | 1,56            | 0,19     | 20,3*               |
| <i>Rb</i>      | 4,91                  | 0,32     | 4,66            | 0,54     | -50,4*              |
| БТШ27          | 25,2                  | 1,6      | 26,0            | 3,04     | 32,0*               |
| БТШ70          | 146,1                 | 11,9     | 144,5           | 11,7     | -10,8*              |
| БТШ90          | 7,21                  | 1,06     | 6,89            | 1,24     | -44,4*              |
| АОХ            | 1,55                  | 0,06     | 1,58            | 0,07     | 20,1*               |
| PEROX          | 181,9                 | 41,1     | 169,3           | 42,5     | -69,3**             |
| <i>p38</i>     | 0,7                   | 0,15     | 0,68            | 0,16     | -23,9*              |

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$

Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения культуры клеток цельной крови с исходно высоким уровнем *p38* характеризовалось максимальным повышением концентрации белка *p21* и снижением уровня перекисей и БТШ27. Кроме того, в клетках отмечалось повышение уровня циклических нуклеотидов, в особенности цГМФ. Облучение так же сопровождалось повышением концентрации *p53* и *p27*, а так же уровня фосфорилирования АМРК. Описанные изменения сопровождалось снижением уровня фосфорилирования *Rb*, АКТ1 и *p70S6K1*, а так же содержания БТШ70 и 90. Проведенный анализ так же показал, что в облученных культурах на фоне снижения в супернатанте концентрации перекисей имеет место повышение антиоксидантного статуса.

Таким образом, в облученных культурах с исходно высоким уровнем *p38* более выражено изменялся уровень цГМФ, *p21*, *p27*, БТШ27, а так же пероксидов. При этом в облученных культурах с высоким уровнем *p38*, наблюдалось повышение содержания цАМФ, цГМФ, АМРК, снижение уровня фосфорилирования *Rb*, понижение концентрации БТШ70 и 90, пероксидов, а так же дальнейшее снижение уровня фосфорилирования *p38*.

В культурах с исходно низким уровнем *p38* имело место повышение уровня фосфорилирования *Rb*, БТШ70 и 90, АФК, а так же увеличение в клеточном супернатанте концентрации антиоксидантов. Кроме того, облучение стимулировало повышение уровня фосфорилирования *p38*, и снижение уровня АМРК и содержания в цАМФ и цГМФ.

Таким образом, наиболее выраженные эффекты облучения отмечались в клетках с исходно низким уровнем *p38*, проявляясь снижением уровня АМРК, повышением антиоксидантного статуса и уровня фосфорилирования *p38*. В культурах с исходно высоким уровнем фосфорилирования *p38*, облучение стимулировало повышение содержания белка *p21*, цГМФ, способствовало снижению АФК и фосфорилирования белка *Rb*.

Митоген-активируемая протеинкиназа *p38* играет важную роль в формировании клеточной реактивности на осмотический и оксидативный стресс, ультрафиолет, а так же повреждения ДНК, являясь важным компонентом внутриклеточной стресс-лимитирующей системы [21, 28]. Активируя транскрипционные факторы, включая *AP-1* и *NF-κB*, терминальные протеинкиназы *MAPK/SAPK*-сигнального пути способствуют повышению продукции клетками цитокинов, факторов роста, БТШ, а так же антиоксидан-

тов. Вместе с тем, высокая активность *p38*, является причиной повышенной провоспалительной и пролиферативной реактивности клеток, отягощающей течение аутоиммунной патологии, способствуя сокращению продолжительности клеточной жизни за счет индукции апоптоза [23, 24]. В этих случаях блокада активности *p38* существенно облегчает течение заболеваний и улучшает прогноз [23]. Таким образом, учитывая особенности активации данного фактора, более высокий уровень ее фосфорилирования, можно считать косвенным отражением более выраженного клеточного стресса [24, 25].

В настоящем исследовании на модели межклеточных взаимодействий клеток цельной крови пациентов с ИБС, была исследована зависимость содержания в мононуклеарах фосфорилированной формы митоген-активируемой протеинкиназы *p38* и показателей, определяющих клеточный метаболизм.

При этом в клетках с низким исходным уровнем *p38* отмечался сравнительно высокий уровень цАМФ, цГМФ, более высокий уровень фосфорилирования протеинкиназы *AKT1*, повышенное содержание БТШ27, а так же высокий уровень антиоксидантов, что, очевидно, являлось отражением физиологической метаболической активности клеток цельной крови. Повышенный уровень *AKT1* в сочетании со снижением уровня *AMPK*, отражает баланс энергетических и метаболических потребностей клеток цельной крови в условия достаточности энергетических субстратов и минимального уровня стрессоров.

В клетках с высоким уровнем фосфорилирования *p38*, наблюдается повышение содержания белков *p53*, *p21*, *p27*, БТШ70 и 90, протеинкиназы *p70* и *AMPK*. При этом повышение уровня *AMPK*, очевидно, отражает повышенную потребность клеток в энергии, а протеинов белков теплового шока – формирование стресс-реакции. Указанные изменения сопровождались повышением в клеточном микроокружении уровня перекисей и снижения концентрации антиоксидантов. Таким образом, повышение уровня фосфорилирования терминальной протеинкиназы *p38*, указывающая на активацию *MAPK/SAPK*-сигнального пути, очевидно определяется развитием оксидативного стресса, закономерно сопровождается формированием стресс-лимитирующих реакций, в частности повышения уровня БТШ, усилением контроля клеточного цикла, оптимизацией метаболического и энергетического статуса клетки [26-28].

На этом фоне в облученных культурах, вне зависимости от исходного содержания в них *p38*, отмечается синхронное с изменением уровня ее фосфорилирования, изменение концентрации перекисей, содержания БТШ70 и 90, уровнем фосфорилирования белка *Rb*. Возрастанием уровня, на фоне снижения степени фосфорилирования *p38*, отличается концентрация цАМФ, цГМФ. Кроме того, снижение фосфорилирования в облученных культурах *p38* ассоциировано с повышением фосфорилирования *AMPK*. Проведенный анализ так же показал, что вне зависимости от исходного уровня фосфорилирования *p38*, а так же динамики его изменений в облученных клетках, микроволновое излучение способствует повышению уровня антиоксидантов. Так же облучение способствует снижению содержания в клетках протеинкиназы *AKT1* и *p70SK1*, при чем для последнего фактора снижение более выражено в случае повышенного уровня *p38*.

**Заключение.** Стресс-лимитирующие, противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты микроволн определяются снижением содержания в клетке фосфорилированной формы *p38* в случае исходно высокого ее содержания, повышение уровня антиоксидантов, а так же усиление экспрессии БТШ [11, 13, 16-17]. Влияние облучения на клеточный метаболизм в условиях стресса заключается в мобилизации энергии, замедлении энергоемких процессов синтеза белка и усилении контроля клеточного цикла. Кроме того, облучение способствует повышению клеточной чувствительности и реактивности на гормональные стимулы и нейромедиаторы, за счет повышения внутриклеточного уровня циклических нуклеотидов [11, 12, 17]. Данные эффекты, очевидно, реализуются за счет стимуляции активности аденилатциклазы, либо блокирования фосфодиэстеразы.

Выявленное сочетание ингибирования *AKT/p70S6K1* с подавлением продукции перекисей и повышением уровня антиоксидантов, определяют формирование антивозрастного и противоопухолевого действия микроволн [15-17, 22].

Пролиферативные эффекты микроволн, в частности, заживление ран и т.п., очевидно, определяются повышением фосфорилирования белка *Rb*, имеющим место при низком уровне стресса, что стимулирует переход клеток из фазы клеточного цикла *G1* в *S* [30-32].

Выявленные эффекты микроволнового излучения, полученные на модели мононуклеарных лейкоцитов цельной крови, учитывая роль в клеточной жизнедеятельности *MAPK/SAPK*-сигнального пути, очевидно, могут быть интерполированы на другие типы клеток, что подтверждается проведенными исследованиями [30, 32]. Очевидно, что микроволны оказывают как непосредственное, так и опосредованное влияние на внутриклеточные процессы, однако данный вопрос требует более детального изучения.

#### Литература

1. Оганов Р.Г., Концевая А.В., Калинина А.М. Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации // Кардиоваск тер и проф. 2011. №4. С. 4–9.
2. Морозов В.Н., Хадарцев А.А. К современной трактовке механизмов стресса // Вестник новых медицинских технологий. 2010. Т. 17. № 1. С. 15–17.

3. Бондарь С.С., Логаткина А.В., Аржников В.В., Терехов И.В. Иммунонейроэндокринные взаимосвязи у пациентов с ишемической болезнью сердца // Электронный научный журнал APRIORI. Серия: Естественные и технические науки (электронный ресурс). 2015. № 6. URL: <http://apriori-journal.ru/seria2/6-2015/Bondari-Logatkina-Arzhnikov-Terehov.pdf>.
4. Хадарцев А.А., Логаткина А.В., Бондарь С.С. Молекулярные механизмы формирования патологических изменений и их коррекция у больных ишемической болезнью сердца // Проблемы развития науки, медицины, образования (теория и практика) I международная заочная научно-практическая конференция: Сборник научных трудов. 2013. С. 217–219.
5. Корякина Л.Б., Пивоваров Ю.И., Курильская Т.Е. Дисфункция сосудистого эндотелия при артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца (обзор литературы) // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2013. № 2-1 (90). С. 165–170.
6. 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: ООО РИФ «ИНФРА», 2008. 372 с.
7. Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Якушина Г.Н. Саногенез и саногенные реакции эритронов. проблемы медицины и общее представление о саногенезе // Вестник новых медицинских технологий. 2005. Т. 12. № 3-4. С. 5–9.
8. Гапеев А.Б. Исследование механизмов биологического действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот: успехи, проблемы, перспективы // Биомедицинская радиоэлектроника. 2014. № 6. С. 20–30.
9. Бецкий О.В., Лебедева Н.Н. Биологические эффекты низкоинтенсивных миллиметровых волн (обзор) // Биомедицинская радиоэлектроника. 2015. № 1. С. 31–47.
10. Гапеев А.Б., Чемерис Н.К. Механизмы биологического действия электромагнитного излучения крайне высоких частот на клеточном уровне // Биомедицинская радиоэлектроника. 2007. № 2-4. С. 44–62.
11. Терехов И.В., Петросян В.И., Дягилев Б.Л., Солодухин К.А., Аржников В.В., Бондарь С.С. Молекулярные механизмы иммунореабилитации при использовании низкоинтенсивного СВЧ-излучения // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2011. Т. 1. № 5. С. 34–37.
12. 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.
13. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии / К.А. Солодухин, В.С. Никифоров, М.С. Громов [и др.] // Медицинская иммунология. 2012. Т.14. №6. С. 541–544.
14. Способ терапевтического воздействия на биологические объекты электромагнитными волнами и устройство для его осуществления: пат. 2445134 Рос. Федерация: МПК: А61N500, А61N502/ Влашкин С.В., Терехов И.В., Петросян В.И. и др. № 2010138921/14; заявл. 21.09.2010; опублик. 20.03.2012, Бюл. № 8. 20 с.: ил.
15. Королев Ю.Н., Гениатулина М.С., Никулина Л.А., Михайлик Л.В. Ультраструктурные проявления регенеративных процессов в клетках Сертоли при действии низкоинтенсивного электромагнитного излучения в условиях стресса у крыс // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры 2015. № 3 С. 40–44.
16. Метаболические эффекты низкоинтенсивной дециметровой физиотерапии при артериальной гипертензии / Логаткина А.В., Бондарь С.С., Терехов И.В. [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. 2015. Т. 22. № 2. С. 71–77.
17. Морфофункциональные аспекты противоопухолевого эффекта низкоинтенсивного микроволнового резонансного излучения в эксперименте / Гудцова Т.Н., Жукова Г.В., Гаркави Л.Х. [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 150. № 11. С. 595–600.
18. Гистофункциональные преобразования в эндокринных и иммунных органах под влиянием различных режимов электромагнитного излучения / Родзаевская Е.Б., Полина Ю.В., Уварова И.А. [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. 2009. Т. 5. № 1. С. 36–40.
19. Ушаков И.Б. Штемберг А.С., Шафиркин А.В. Реактивность и резистентность организма млекопитающих. М.: Наука, 2007. 493 с.
20. Vax J., Baumgartner H., Ceconi C. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012) // Eur Heart J. 2012. №33. P. 1635–1701.
21. Schieven G. L. The biology of p38 kinase: a central role in inflammation // Curr. Top. Med. Chem. 2005. №5. P. 921–928.
22. Selman C., Tullet J.M., Wieser D. Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling regulates mammalian life span // Science. 2009. №326. P. 140–144.
23. Bagley M.C., Davis T., Murziani P.G.S., Widdowson C.S., Kipling D. Use of p38 MAPK Inhibitors for the Treatment of Werner Syndrome Pharmaceuticals. 2010. №3. P.1842–1872. DOI:10.3390/ph3061842

24. Kumar S., Boehm J., Lee J. C. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases // *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2003. №2. P. 717–726.
25. Huot J., Houle F., Marceau F., Landry J. Oxidative stress-induced actin reorganization mediated by the p38 mitogen-activated protein kinase/heat shock protein 27 pathway in vascular endothelial cells // *Circ. Res*. 1997. №80. P. 383–392.
26. Leszczynski D., Joenvaara S., Reivinen J., Kuokka R. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer- and blood–brain barrier-related effects // *Differentiation*. 2002. №70. P. 120–129.
27. Stankiewicz W., Zdanowski R., Skopinska-Rosewska E., Ujazdowska D., Kieliszek J., Skopiński P., Boder P., Sommer E. The effect of 900MHz microwave GSM signal on the proliferation of endothelial cells in vitro // *Centr Eur J Immunol*. 2011. №36(4).P. 215–219.
28. Pearson G., Robinson F., Beers Gibson T., Xu B.E., Karandikar M., Berman K., Cobb M.H. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions // *Endocrine Reviews*. 2001. №22(2). P. 153–183. DOI:10.1210/er.22.2.153
29. Thobe B.M., Frink M., Hildebrand F., Schwacha M.G., Hubbard W.J., Choudhry M.A., Chaudry, I.H. The role of MAPK in Kupffer cell toll-like receptor (TLR) 2-, TLR4-, and TLR9-mediated signaling following trauma-hemorrhage // *J. Cell. Physiol*. 2007. №210. P.667–675. DOI: 10.1002/jcp.20860.
30. Sunkari V.G., Aranovitch B., Portwood N., Nikoshkov A. Effect of low-intensity electromagnetic field on fibroblast migration and proliferation // *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2011. №30(2). P.80–85.
31. Funk R. H., Monsees T. K. Effects of electromagnetic fields on cells: Physiological and therapeutical approaches and molecular mechanisms of interaction. A review // *Cells Tiss. Org*. 2006. №182. P. 59–78.
32. Saliev T., Mustapova Z., Bulanin D., Kulsharova G., Mikhailovsky S. Therapeutic potential of electromagnetic fields for tissue engineering and wound healing // *Cell Proliferation*. 2014. №47(6). P. 485–493.

#### References

- Oganov RG, Kontsevaya AV, Kalinina AM. Ekonomicheskij ushcherb ot serdechno-sosudistykh za-bolevaniy v Rossiyskoy Federatsii. *Kardiovask ter i prof*. 2011;4:4-9. Russian.
- Morozov VN, Khadartsev AA. K sovremennoy traktovke mekhanizmov stressa. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2010;17(1):15-7. Russian.
- Bondar' SS, Logatkina AV, Arzhnikov VV, Terekhov IV. Immunoneyroendokrinnnye vzaimosvyazi u patsientov s ishemicheskoy bolezn'yu serdtsa. *Elektronnyy nauchnyy zhurnal APRIORI. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki (Elektronnyy resurs)*. 2015;6: [about 11 p.]. Russian. Available from: <http://apriori-journal.ru/seria2/6-2015/Bondari-Logatkina-Arzhnikov-Terehov.pdf>.
- Khadartsev AA, Logatkina AV, Bondar' SS. Molekulyarnye mekhanizmy formirovaniya patologicheskikh izmeneniy i ikh korrektsiya u bol'nykh ishemicheskoy bolezney serdtsa. *Problemy razvitiya nauki, meditsiny, obrazovaniya (teoriya i praktika) I mezhdunarodnaya zaochnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya: Sbornik nauchnykh trudov*. 2013. Russian.
- Koryakina LB, Pivovarov YI, Kuril'skaya TE. Disfunktsiya sosudistogo endoteliya pri arterial'noy gipertonii i ishemicheskoy boleznii serdtsa (obzor literatury). *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2013;2-1(90):165-70. Russian.
- V.I. Starodubov, et al. Sistemnye podkhody v biologii i meditsine (sistemnyy analiz, upravlenie i obrabotka in-formatsii). Pod red. Khadartseva AA, Es'kova VM, Yashina AA, Kozyreva KM. Tula: OOO RIF «INFRA». 2008. Russian.
- Kidalov VN, Khadartsev AA, Yakushina GN. Sanogenez i sanogennnye reaktsii eritrona. *problemy meditsiny i obshchee predstavlenie o sanogeneze*. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2005;12(3-4):5-9. Russian.
- Gapeev AB. Issledovanie mekhanizmov biologicheskogo deystviya nizkointensivnogo elektromagnitnogo izlucheniya krayne vysokikh chastot: uspekhi, problemy, perspektivy. *Biomeditsinskaya radioelektronika*. 2014;6:20-30. Russian.
- Betskiy OV, Lebedeva NN. Biologicheskije efekty nizkointensivnykh millimetrovykh voln (obzor). *Biomeditsinskaya radioelektronika*. 2015;1:31-47. Russian.
- Gapeev AB, Chemeris NK. Mekhanizmy biologicheskogo deystviya elektromagnitnogo iz-lucheniya krayne vysokikh chastot na kletochnom urovne. *Biomeditsinskaya radioelektronika*. 2007;2-4:44-62. Russian.
- Terekhov IV, Petrosyan VI, Dyagilev BL, Solodukhin KA, Arzhnikov VV, Bondar' SS. Molekulyarnye mekhanizmy immunoreabilitatsii pri ispol'zovanii nizkointensivnogo SVCh-izlucheniya. *Byulleten' meditsinskikh internet-konferentsiy*. 2011;1(5):34-7. Russian.
- Terekhov IV, Solodukhin KA, Nikiforov VS, et al. Osobennosti biologicheskogo efekta nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya v usloviyakh antigennoy stimulyatsii mononuklearov tsel'noy krovi. *Fizioterapevt*. 2013;1:26-32. Russian.



13. Solodukhin KA, Nikiforov VS, Gromov MS, et al. Vliyanie nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya na vnutrikletochnye protsessy v mononuklearakh pri pnevmonii. *Meditinskaya immunologiya*. 2012;14(6):541-4. Russian.
14. Vlaskin SV, Terekhov IV, Petrosyan VI, et al. Sposob terapevticheskogo vozdeystviya na biologicheskie ob"ekty elektromagnitnymi volnami i ustroystvo dlya ego osushchestvleniya: pat. 2445134 Ros. Federatsiya: MPK: A61N500, A61N502/ № 2010138921/14; 8. Russian.
15. Korolev YN, Geniatulina MS, Nikulina LA, Mikhaylik LV. Ul'trastrukturnye proyavleniya regenerativnykh protsessov v kletkakh Sertoli pri deystvii nizkointensivnogo elektromagnitnogo izlucheniya v usloviyakh stressa u krysa. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury* 2015;3:40-4. Russian.
16. Logatkina AV, Bondar' SS, Terekhov IV, et al. Metabolicheskie efekty nizkointensivnoy detsimetrovoy fizioterapii pri arterial'noy gipertonii. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2015;22(2):71-7. Russian.
17. Gudtskova TN, Zhukova GV, Garkavi LK, et al. Morfofunktsional'nye aspekty protivopukholevogo effekta nizkointensivnogo mikrovolnovogo rezonansnogo izlucheniya v eksperimente. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2010;150(11):595-600. Russian.
18. Rodzaevskaya EB, Polina YV, Uvarova IA, et al. Gistofunktsional'nye preobrazovaniya v endokrinnykh i immunnykh organakh pod vliyaniem razlichnykh rezhimov elektromagnitnogo izlucheniya. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2009;5(1):36-40. Russian.
19. Ushakov IB, Shtemberg AS, Shafirkin AV. *Reaktivnost' i rezistentnost' organizma mlekokopitayushchikh*. Moscow: Nauka; 2007. Russian.
20. Bax J, Baumgartner H, Ceconi C. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). *Eur Heart J*. 2012;33:1635-701.
21. Schieven G L. The biology of p38 kinase: a central role in inflammation. *Curr. Top. Med. Chem*. 2005;5:921-8.
22. Selman C, Tullet JM, Wieser D. Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling regulates mammalian life span. *Science*. 2009;326:140-4.
23. Bagley MC, Davis T, Murziani PGS, Widdowson CS, Kipling D. Use of p38 MAPK Inhibitors for the Treatment of Werner Syndrome Pharmaceuticals. 2010;3:1842-72. DOI:10.3390/ph3061842
24. Kumar S, Boehm J, Lee J. C. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2003;2:717-26.
25. Huot J, Houle F, Marceau F, Landry J. Oxidative stress-induced actin reorganization mediated by the p38 mitogen-activated protein kinase/heat shock protein 27 pathway in vascular endothelial cells. *Circ. Res*. 1997;80:383-92.
26. Leszczynski D, Joenvaara S, Reivinen J, Kuokka R. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation*. 2002;70:120-9.
27. Stankiewicz W, Zdanowski R, Skopinska-Rosewska E, Ujazdowska D, Kieliszek J, Skopiński P, Boder P, Sommer E. The effect of 900MHz microwave GSM signal on the proliferation of endothelial cells in vitro. *Centr Eur J Immunol*. 2011;36(4):215-9.
28. Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocrine Reviews*. 2001; 22(2):153-83. DOI:10.1210/er.22.2.153
29. Thobe BM, Frink M, Hildebrand F, Schwacha MG, Hubbard WJ, Choudhry MA, Chaudry IH. The role of MAPK in Kupffer cell toll-like receptor (TLR) 2-, TLR4-, and TLR9-mediated signaling following trauma-hemorrhage. *J. Cell. Physiol*. 2007;210:667-75. DOI: 10.1002/jcp.20860.
30. 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):80-5.
31. Funk RH, Monsees TK. Effects of electromagnetic fields on cells: Physiological and therapeutic approaches and molecular mechanisms of interaction. A review. *Cells Tiss. Org*. 2006;182:59-78.
32. Saliev T, Mustapova Z, Bulanin D, Kulsharova G, Mikhaylovsky S. Therapeutic potential of electromagnetic fields for tissue engineering and wound healing. *Cell Proliferation*. 2014;47(6):485-93.

**Библиографическая ссылка:**

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 p38 на фоне низкоинтенсивного свч-облучения // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №1. Публикация 2-6. URL: <http://www.medsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-6.pdf> (дата обращения: 10.02.2016). DOI: 10.12737/18561.