

**СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПОСТКЛИНИЧЕСКУЮ ФАЗУ
ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО
МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ЧАСТОТОЙ 1 ГГц**

А.А. ХАДАРЦЕВ*, И.В. ТЕРЕХОВ*, С.С. БОНДАРЬ*, В.К. ПАРФЕНИЮК**, Н.В. БОНДАРЬ***

*ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», пр-т Ленина, 92, г. Тула, 300012, Россия,
e-mail: trft@mail.ru

**ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского»,
ул. Большая Казачья, д. 112, Саратов, 410003, Россия, e-mail: artex123@yandex.ru

***ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева»,
площадь Каменская, 1, Орел, 302028, Россия, e-mail: bon.nelli@yandex.ru

Аннотация. Цель исследования – изучение содержания в мононуклеарных клетках цельной крови у больных пневмонией и практически здоровых лиц компонентов, определяющих активность перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты под влиянием низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц.

Обследовано 30 больных с внебольничной пневмонией и 15 практически здоровых лиц в возрасте 20-35 лет. Методом иммуноферментного анализа в клеточных супернатантах и лизатах мононуклеарных клеток цельной крови определяли уровень антиоксидантов, тиоловых соединений, компонентов MAPK/SAPK-сигнального пути, *IkBa*, а также ферментов (тиоредоксинредуктазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы – СОД).

Результаты исследования показали, что у лиц, перенесших ВП, имеет место снижение уровня антиоксидантов на 6,9%, концентрации тиоловых соединений – на 13,9%, содержания СОД – на 17,3%, определяющее дефицит у таких больных антиоксидантной защиты.

Однократное воздействие на культуру клеток цельной крови электромагнитным излучением нетепловой мощности частотой 1 ГГц (спустя 24 часа после облучения) – проявляется статистически значимым повышением уровня антиоксидантов на 2,9%, тиолов – на 1,8%, СОД – на 3,4%, глутатионпероксидазы – на 1,3%.

Установлено, что облучение крови способствует сокращению различий между практически здоровыми лицами и реконвалесцентами внебольничной пневмонией по содержанию в клеточных супернатантах антиоксидантов, СОД и тиолов.

Полученные результаты позволяют полагать, что биологические эффекты низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц опосредованы изменением степени фосфорилирования терминальных протеинкиназ MAPK/SAPK-сигнального пути и *IkBa*.

Ключевые слова: пневмония, антиоксиданты, микроволны, реабилитация.

**THE STATE OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE POST-CLINICAL PHASE
OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA UNDER THE INFLUENCE OF LOW-INTENSITY
MICROWAVE RADIATION WITH A FREQUENCY OF 1 GHZ**

A.A. KHADARTSEV*, I.V. TEREKHOV*, S.S. BONDAR*, V.K. PARFENYUK**, N.V. BONDAR***

*Tula State University, Lenin av., 92, Tula, 300012, Russia, e-mail: trft@mail.ru

**Saratov State Medical University, Bolshaya Kazachya str., 112, Saratov, 410012, Russia,
e-mail: artex123@yandex.ru

***Orel State University, Komsomolskaya str., 95, 302026, Orel, Russia e-mail: bon.nelli@yandex.ru

Abstract. The study discusses the state of antioxidant protection in patients with community-acquired pneumonia, as well as the possibility of its correction by means of a microwave radiation frequency of 1 GHz by the device "Aquatron".

30 patients with community-acquired pneumonia and 15 practically healthy persons aged 20-35 years were examined. The level of antioxidants, thiol compounds, components of MAPK / SAPK-signaling pathway, *IkBa*, as well as enzymes (thioredoxin reductase, glutathione peroxidase, super-oxide dismutase - SOD) was determined by enzyme immunoassay in cell supernatants and lysates of mononuclear cells of whole blood.

The results of the study showed that in patients with community-acquired pneumonia, there is a decrease in the level of antioxidants by 6,9%, thiol compounds concentration by 13,9%, SOD content by 17,3%, which determines the deficit of antioxidant protection in such patients.

A single impact on the culture of cells of whole blood by the "Aquatone", 24 hours after irradiation is manifested in a statistically significant increase in the level of antioxidants by 2,89%, thiols by 1,8%, SOD by 3,4%, glutathione peroxidase by 1,3%. It is shown that a single microwave irradiation facilitates the reduction of differences between healthy individuals and patients with pneumonia levels of antioxidants by 41,9%, SOD by 16,5%, thiols 10,8%.

Key words: pneumonia, antioxidants, microwave, rehabilitation.

Введение. Антиоксидантная защита (АОЗ) является важнейшим механизмом управления процессами генерации активных радикалов кислорода, играющих в организме важную физиологическую роль. Выходя из-под контроля организма, процессы перекисидации, в частности, *перекисного окисления липидов* (ПОЛ) бислойных мембран, способствуют поддержанию патологических процессов, приводящих к преждевременному старению и гибели клеток, нарушают межклеточные взаимодействия, приводя к дисрегуляции клеточной активности [6, 7, 10, 17]. В настоящее время в инициации процессов перекисидации и защите клеток от активных форм кислорода важная роль отводится митоген-активируемому / стресс-активируемому (*MAPK/SAPK*) сигнальному пути, и *транскрипционному фактору NF-κB*. Они определяют клеточный ответ на разнообразные стрессоры физической (осмотическое равновесие, ультрафиолет) и химической природы (радикалы кислорода, митогены, цитокины, факторы роста и т.п.) [5, 10, 11, 14, 17].

В этих условиях, активация *MAPK/SAPK*-сигнального пути и *NF-κB* обеспечивают транскрипцию немедленных генов предранней реакции, усиливая продукцию клетками факторов, регулирующих процессы пролиферации, роста, апоптоза, ПОЛ/АОЗ [10, 11]. При этом, воздействие на организм таких стрессоров, как компоненты микроорганизмов, экстремальные температуры, ионизирующая радиация и т.п. – нарушает согласованное функционирование внутриклеточных молекулярных механизмов, способствуя ослаблению неспецифической защиты и преждевременной гибели клеток [9, 17]. Таким образом, активация *NF-κB*, тесно связанного с состоянием *MAPK/SAPK*-сигнального пути в условиях оксидативного стресса, определяет транскрипцию генов, продукты которых способствуют усилению АОЗ (СОД, и глутатионпероксидаза), представляет собой важнейшее звено саногенеза [7, 11].

Известно, что у пациентов, перенесших инфекционно-воспалительный процесс, зачастую имеет место угнетение неспецифической защиты, способствующее ослаблению организма, повышенной восприимчивости организма к повторным инфекциям, затяжному течению воспалительной реакции. При этом выявляется дефицит антиоксидантной защиты на фоне угнетения соответствующих внутриклеточных регуляторных механизмов [13, 16]. Таким образом, поддержание нормальной клеточной реактивности и высокой готовности клеточных систем к стрессу, а также быстрое формирование стресс-лимитирующих программ, является залогом успешного преодоления последствий воздействия на организм неблагоприятных факторов внешней среды [10, 17].

Актуальность разработки технологий повышения функциональной активности внутриклеточных молекулярных систем с целью стимуляции повышения устойчивости организма к воздействию стрессоров обуславливает активное привлечение современных биомедицинских технологий и поиск новых потенциально активных факторов, как физической, так и химической природы, для решения данной задачи [1, 18].

Одной из таких биомедицинских технологий является низкоинтенсивная электромагнитная терапия с использованием электромагнитных излучений, обладающих повышенной биотропной активностью в миллиметровом и дециметровом диапазонах длин волн [2, 3, 19]. Параметры таких излучений, используемых для коррекции патологических состояний, совпадают с собственными излучениями организма, определяя формирование дополнительных биологических эффектов при взаимодействии с внутренней средой [12, 15].

Однако, молекулярные механизмы биологических эффектов низкоинтенсивных дециметровых излучений в отношении внутриклеточных сигнальных систем исследованы недостаточно.

Цель исследования – изучение содержания в мононуклеарных клетках цельной крови у больных пневмонией и практически здоровых лиц компонентов, определяющих активность перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной защиты под влиянием низкоинтенсивного излучения частотой 1 ГГц.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели проведено контролируемое проспективное экспериментальное исследование, в ходе которого обследовано 30 мужчин с бактериальной *внебольничной пневмонией* (ВП) нетяжелого течения в стадии реконвалесценции (15-20 сутки заболевания) в возрасте 20-35 лет, составивших основную группу. Контрольная группа включала 15 практически здоровых молодых лиц из числа доноров крови, в возрасте 20-33 лет.

Критериями включения пациентов в исследование явилось: 1) рентгенологическое разрешение инфильтративных изменений в легких не менее чем на 2/3 от объема инфильтрации в первые сутки забо-

ления; 2) концентрация С-реактивного белка в сыворотке крови, определяемого высокочувствительным методом в диапазоне 10-15 мг/л.

Материалом для исследования служила венозная гепаринизированная кровь (5,0 мл), забирившаяся в утренние часы. Путем разделения образцов крови пациентов основной группы на две части формировали подгруппы исследования. Первая подгруппа включала необлученные образцы крови больных с ВП ($n=30$), 2-я – образцы ($n=30$), подвергаемые облучению электромагнитным излучением частотой 1 ГГц плотностью потока мощности 100 нВт/см² [3,12].

При работе с культурами клеток цельной крови использовали наборы «Цитокин-Стимул-Бест» (ЗАО «Вектор Бест», г. Новосибирск). Для проведения исследования 1 мл цельной крови пациента вносили во флакон, содержащий 4 мл 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) [3, 15, 27]. После облучения флаконы помещались на 24 часа в термостат (37 °С) с последующим выделением *моноклеарных клеток* (МНК) с использованием пробирок *Vacutainer (Becton Dickinson, США, кат. № 362780)*, содержащих разделительную систему гель/фиколл, в качестве антикоагулянта – гепарин натрия.

Подготовка лизатов МНК осуществлялась в соответствии с рекомендациями производителя наборов реагентов для проведения *иммуноферментного анализа* (ИФА). Для приготовления лизатов использовали 1 мл клеточной суспензии, содержащей 1×10^6 МНК, жизнеспособность которых превышала 90%. Подсчет клеток и анализ их жизнеспособности осуществляли с помощью счетчика *TC20 (Bio-Rad, США)*.

В ходе исследования в лизатах МНК определяли содержание общих и фосфорилированных форм протеинкиназ, в частности, общей и фосфорилированной по тирозину/треонину в положении 183/185 *c-jun-NH₂* терминальной протеинкиназы *JNK* изоформы 1 и 2 (*JNK1/2*), общей и фосфорилированной по тирозину/треонину в положении 202/204 протеинкиназы *ERK* изоформы 1 и 2 (*ERK1/2*), общей и фосфорилированной по треонину/тирозину в положении 180/182 протеинкиназы *p38*, общей и дважды фосфорилированной по серину в положении 217/221 протеинкиназы *MEK1*, общей и дважды фосфорилированной по серину в положении 32/36 ингибитора ядерного фактора транскрипции (*IκBα*), общей и фосфорилированной по серину в положении 78 формы *белка теплового шока мм 27 кДа* (БТШ27), *Cu/Zn супероксиддисмутазы* (СОД).

Уровень фосфорилированных форм исследованных факторов оценивался в условных единицах (усл.ед.), концентрации белка – в нг/мл. Стандартизацию содержания в клетке фосфорилированных форм протеинкиназ и оценку степени фосфорилирования исследованных факторов проводили путем деления уровня фосфорилирования (ед/мл) на концентрацию белка (нг/мл). Полученное соотношение (ед/нг белка) использовали для характеристики фосфорилирования (активности) белка и сопоставления измерений между собой.

Кроме этого, в клеточном супернатанте определяли общий уровень (концентрацию) *антиоксидантов* (АОС), *тиолов* (ТС), *глутатионпероксидазы-1* (ГПО) и *тиоридоксинредуктазы-1* (ТРР).

Исследование концентрации указанных молекул проведено методом ИФА на анализаторе *Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия)* с использованием наборов реактивов производства *Cusabio biotech (КНР)*, *Immundiagnostik (Германия)*, *Abfrontier (Южная Корея)*, *Enzo LifeScience (США)*, *Bender MedSystems (Австрия)*.

Статистический анализ проводили в программе *STATISTICA 7,0*. Статистическую значимость (p) межгрупповых различий в независимых и связанных выборках, оценивали с помощью Теста Манна-Уитни и *T*-критерия Вилкоксона соответственно. Результаты исследования представлены в виде среднего (\bar{x}), 25-го, 75-го перцентилей (25%, 75%), медианы выборки (Me).

Результаты и их обсуждение. Уровень исследованных факторов у практически здоровых лиц, представлен в табл.1.

В табл. 2 представлен уровень исследованных факторов в основной группе.

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о том, что реконвалесценция ВП сопровождается снижением уровня фосфорилирования протеинкиназ *JNK1/2* и *p38*, на фоне повышения содержания в мононуклеарах концентрации данных молекул. Так же у реконвалесцентов отмечено снижение фосфорилирования *IκBα* наблюдавшееся на фоне увеличения в клетке общего содержания протеина.

Уровень фосфорилирования терминальной протеинкиназы *ERK1/2*, у обследованных пациентов, напротив, превышал соответствующие значения группы контроля, при практически неизменном общем содержании белка в клетке. Проведенный анализ показал, что у реконвалесцентов ВП наблюдался повышенный уровень фосфорилирования БТШ27 при снижении общего его содержания в клетке, свидетельствующего о сохранении в группе обследованных больных проявлений клеточного стресса [10, 11, 16, 18].

Выявленные изменения содержания в мононуклеарных лейкоцитах протеинкиназ и БТШ сопровождались снижением в межклеточной жидкости концентрации антиоксидантов, тиоловых соединений и

содержания в клетках СОД. Вместе с тем, у таких больных отмечалось повышение, очевидно, компенсационного характера – уровня ферментов АОЗ, в частности, ГПО и ТРР.

Таблица 1

Уровень исследованных факторов в группе контроля

Фактор	Показатели			
	<i>x</i>	25%	<i>Me</i>	75%
БТШ27, нг/мл	15,71	15,24	15,71	16,18
БТШ27, ед/нг	0,124	0,12	0,124	0,127
JNK1/2, нг/мл	1,585	1,48	1,585	1,69
JNK1/2, ед/нг	1,03	1,027	1,028	1,033
ERK1/2, нг/мл	1,4	1,32	1,4	1,48
ERK1/2, ед/нг	2,274	2,081	2,274	2,466
MEK1, нг/мл	2,108	2,07	2,11	2,145
MEK1, ед/нг	0,303	0,252	0,303	0,355
p38, нг/мл	2,243	2,165	2,24	2,32
p38, ед/нг	0,171	0,147	0,172	0,196
IkBa, нг/мл	2,468	2,43	2,47	2,505
IkBa, ед/нг	0,487	0,432	0,488	0,541
АОС, ммоль/л	1,615	1,59	1,615	1,64
СОД, нг/мл	1,61	1,355	1,61	1,865
ТС, мкмоль/мл	2,458	2,165	2,46	2,75
ГПО, нг/мл	2,823	2,59	2,82	3,055
ТРР, нг/мл	1,338	0,98	1,335	1,695

Таблица 2

Уровень исследованных факторов в основной группе до облучения

Фактор	Показатели				
	<i>x</i>	25%	<i>Me</i>	75%	Δ , %
БТШ27, нг/мл	2,089	1,74	2,095	2,27	72,5*
БТШ27, ед/нг	0,143	0,124	0,144	0,161	151,7**
JNK1/2, нг/мл	1,938	1,58	1,845	2,24	222,9**
JNK1/2, ед/нг	0,897	0,667	0,834	1,135	-129,1*
ERK1/2, нг/мл	1,402	1,16	1,345	1,51	1,4
ERK1/2, ед/нг	2,463	2,03	2,253	2,696	83,4
MEK1, нг/мл	2,007	1,47	2,1	2,33	-47,5
MEK1, ед/нг	0,461	0,25	0,437	0,598	518,5**
p38, нг/мл	2,477	2,13	2,565	2,74	104,7
p38, ед/нг	0,152	0,134	0,156	0,182	-112,3*
IkBa, нг/мл	3,285	2,54	3,155	3,92	331,2**
IkBa, ед/нг	0,273	0,194	0,257	0,29	-438,0**
АОС, ммоль/л	1,51	1,44	1,51	1,6	-65,0*
СОД, нг/мл	1,331	1,12	1,355	1,55	-173,1*
ТС, мкмоль/мл	2,115	1,65	2,21	2,66	-139,2
ГПО, нг/мл	3,222	2,69	3,26	3,57	141,7*
ТРР, нг/мл	1,565	1,28	1,505	1,75	170,1

Примечание: Δ – различие показателя в сравнении с группой контроля (%); * – уровень значимости различий (p)<0,05; ** – уровень значимости различий (p)<0,01

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о статистической значимости повышения у реконвалесцентов ВП содержания в МНК протеинкиназ JNK1/2 и IkBa, а также уровня фосфорилирования БТШ27 и IkBa. Кроме этого в основной группе в сравнении с группой контроля отмечено статистически значимое снижение уровня антиоксидантов и содержания в клетках СОД.

Таким образом, выявленное нарушение антиоксидантной защиты преимущественно связано со снижением концентрации антиоксидантов и дефицитом СОД. Указанные изменения сопровождались активацией в МНК ядерного фактора транскрипции *NF-κB*, на что указывало повышение фосфорилирования его ингибитора.

В табл. 3 представлены результаты корреляционного анализа уровня фосфорилирования исследованных факторов и показателей антиоксидантной защиты у реконвалесцентов ВП.

Таблица 3

Корреляции исследуемых показателей в основной группе

	БТШ27	JNK	ERK	MEK	p38	IκBα	АОС	СОД
БТШ27		0,25	-0,79	-0,68	0,36	-0,06	0,61	-0,17
JNK	0,25		0,11	-0,25	0,55	0,59	0,17	0,18
ERK	-0,79	0,11		0,75	0,22	-0,02	-0,78	0,04
MEK	-0,68	-0,25	0,75		0,12	-0,57	-0,39	-0,38
p38	0,36	0,55	0,22	0,12		-0,15	-0,02	-0,08
IκBα	-0,06	0,59	-0,02	-0,57	-0,15		-0,03	0,62
АОС	0,61	0,17	-0,78	-0,39	-0,02	-0,03		-0,07
СОД	-0,17	0,18	0,04	-0,38	-0,08	0,62	-0,07	

Примечание: жирным шрифтом выделены значения коэффициентов корреляции с уровнем значимости менее 0,05

Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о формировании сильной отрицательной взаимосвязи содержания в клеточных супернатантах антиоксидантов с фосфорилированием терминальной протеинкиназы *ERK1/2*, а также сильной положительной корреляции АОС с уровнем фосфорилирования БТШ27. В свою очередь фосфорилирование БТШ27 положительно коррелировало с содержанием в МНК фосфорилированной формы протеинкиназы *p38* и отрицательно – с уровнем фосфорилированной формы *ERK1/2* и *JNK1/2*. На этом фоне содержание в клетке СОД отличалось сильной положительной взаимосвязью с уровнем фосфорилирования *IκBα*, и слабой отрицательной – с уровнем фосфорилирования *MEK1*.

Таким образом, активация митоген-активируемой протеинкиназы *p38* и стресс-активируемой протеинкиназы *JNK*, способствующая фосфорилированию БТШ27 и *IκBα*, приводит к усилению стресс-лимитирующих внутриклеточных механизмов, что в конечном итоге приводит к повышению АОЗ. Напротив, высокий уровень факторов роста в межклеточной среде, свидетельствует о выходе организма из стрессовой ситуации. При этом отмечается активация протеинкиназы *ERK*, снижение активности стресс-лимитирующих реакций и восстановление исходной реактивности клетки к сигналам окружающей среды.

Уровень исследованных показателей в подгруппе основной группы, подвергнутой облучению, представлен в табл. 4.

Проведенный анализ показал, что однократное низкоинтенсивное микроволновое излучение частотой 1 ГГц способствует статистически значимому снижению фосфорилирования в мононуклеарных лейкоцитах протеинкиназы *ERK1/2*, *JNK1/2*, повышению фосфорилирования киназы терминальной протеинкиназы – *MEK1*, терминальной протеинкиназы *p38* и *IκBα*.

Указанные изменения сигнальных путей в МНК реконвалесцентов ВП сопровождались статистически значимым ростом уровня антиоксидантов и тиолов в клеточном супернатанте, с увеличением содержания в цитоплазме клеток СОД. Под воздействием микроволн частотой 1 ГГц также отмечалось повышение концентрации в клеточных супернатантах ферментов ГПО и ТРР, обеспечивающих защиту клеток от активных форм кислорода [21, 27].

В образцах крови пациентов, перенесших инфекционно-воспалительный процесс, после однократного воздействия микроволн частотой 1 ГГц, в сравнении с группой контроля, имело место сокращение различий уровня АОС на 41,9%, концентрации СОД на 16,5%, тиолов на 10,8%. При этом уровень ГПО и ТРР в облученных культурах возрастал на 10,8 и 4,9% выше уровня практически здоровых лиц. На этом фоне однократное облучение способствовало повышению в МНК активности фактора транскрипции *NF-κB*, о чем говорит сокращение на 6,7% различий между основной группой и практически здоровыми лицами по уровню фосфорилирования его ингибитора – *IκBα*.

Уровень исследованных факторов у пациентов с ВП после облучения

Фактор	Показатели				
	<i>x</i>	25%	<i>Me</i>	75%	Δ , ‰
БТШ27, нг/мл	14,91	13,18	14,81	15,92	4,8
БТШ27, ед/нг	0,146	0,126	0,148	0,164	24,5**
<i>JNK1/2</i> , нг/мл	1,982	1,63	1,89	2,29	22,7**
<i>JNK1/2</i> , ед/нг	0,889	0,657	0,825	1,114	-9,2*
<i>ERK1/2</i> , нг/мл	1,447	1,22	1,38	1,57	32,1**
<i>ERK1/2</i> , ед/нг	2,407	2,006	2,176	2,636	-22,8**
<i>MEK1</i> , нг/мл	2,051	1,51	2,16	2,35	21,6**
<i>MEK1</i> , ед/нг	0,467	0,261	0,449	0,6	12,9*
<i>p38</i> , нг/мл	2,51	2,18	2,605	2,75	13,3*
<i>p38</i> , ед/нг	0,164	0,142	0,162	0,191	79,1**
<i>IkBa</i> , нг/мл	3,256	2,5	3,13	3,9	-8,8
<i>IkBa</i> , ед/нг	0,286	0,213	0,272	0,31	44,7**
АОС, мкмоль	1,554	1,48	1,54	1,66	28,9**
СОД, нг/мл	1,377	1,16	1,395	1,58	34,3**
ТС, мкмоль/мл	2,152	1,68	2,245	2,67	17,5*
ГПО, нг/мл	3,265	2,71	3,305	3,63	13,3*
ТРР, нг/мл	1,576	1,28	1,52	1,76	6,8

Примечание: Δ – различие показателя в подгруппах до и после облучения (‰); * – уровень значимости различий (p)<0,05; ** – уровень значимости различий (p)<0,01

Механизмом наблюдаемого биологического эффекта, очевидно, является модуляция активности под влиянием микроволн *MAPK/SAPK*-сигнального пути, в частности повышение фосфорилирования протеинкиназы *MKK1 (MEK1)* и терминальной протеинкиназы *p38*, и снижения фосфорилирования – *ERK1/2 JNK1/2*. Фосфорилирование *p38*, очевидно, связано с активацией *IkBa*, приводящей к отсоединению его от *NF- κ B*, транслокации последнего в ядро, сопровождающейся транскрипцией соответствующих генов, в частности, СОД [10,11].

Кроме того, стимуляция микроволнами фосфорилирования протеинкиназы *p38*, способствует, в свою очередь, фосфорилированию БТШ27, защищающего внутриклеточные протеины от денатурации и играющего таким образом важную роль в клеточном ответе на стресс. Способствуя выживанию клеток, за счет ингибирования апоптоза, БТШ27, кроме всего прочего, защищает ткани от повреждений, развивающихся в результате ишемии-реперфузии [6, 9, 21].

Выявленные в настоящем исследовании особенности биологического действия микроволн, в частности, стимуляция облучением уровня БТШ27 и его фосфорилирования, объясняют экспериментальные наблюдения, указывающие на протективное действие низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц в условиях респираторного дистресс-синдрома и ускорение под влиянием излучения процессов репарации и регенерации тканей [4, 8, 12].

Ограничивая фосфорилирование терминальных протеинкиназ, и в первую очередь, *ERK1/2*, облучение способствует снижению реактивности иммунокомпетентных клеток и восстановлению антиоксидантного потенциала межклеточной среды. Таким образом, микроволны частотой 1 ГГц оказывают существенное влияние на биохимический статус протеинкиназ, изменяя уровень их фосфорилирования в клетке, а, следовательно, и активность регулируемых ими процессов [25, 26]. Отдельные эффекты электромагнитных полей, очевидно, связаны с модуляцией ионного тока через соответствующие каналы, за счет модификации функциональной активности протеинкиназ под влиянием микроволн [22].

Биофизическим механизмом формирования выявленных эффектов может являться модификация свойств воды и водосодержащих сред, являющихся первичной мишенью микроволн [20, 23, 24].

Учитывая универсальный характер биохимических процессов, очевидно, что нетепловое излучение частотой 1 ГГц приводит к сходным последствиям и в других типах клеток, что требует проведения дальнейших исследований. При этом использование для идентификации последствий облучения метода ИФА, позволяет исследовать более тонкие изменения протеома, чем электрофорез. Учитывая высокую чувствительность ИФА можно надеяться на получение большего объема информации о влиянии микроволн на внутриклеточные процессы.

Заключение. Субклинический инфекционно-воспалительный процесс протекает на фоне дефицита антиоксидантной защиты, проявляющегося статистически значимым снижением уровня антиоксидантов и цитозольной фракции СОД, тенденцией к снижению уровня тиолов в межклеточной среде. Указанные изменения сопровождаются развитием клеточного стресса, проявляющегося усилением фосфорилирования БТШ27 и увеличением содержания в МНК терминальной протеинкиназы *JNK*, на фоне снижения фосфорилирования *IкВа*.

Субклиническое течение инфекционно-воспалительного процесса ассоциировано с сильной отрицательной корреляцией уровня антиоксидантов и степени фосфорилирования протеинкиназы *ERK1/2*, а также положительной корреляцией концентрации антиоксидантов и уровня фосфорилирования БТШ27. В свою очередь фосфорилирование БТШ27 положительно коррелирует с уровнем фосфорилирования *p38* и отрицательно – с уровнем *ERK1/2* и *JNK1/2*. Концентрация СОД характеризуется сильной положительной взаимосвязью с уровнем фосфорилирования *IкВа*, и слабой отрицательной – с уровнем фосфорилирования *MEK1*.

Однократное облучение цельной крови реконвалесцентов ВП микроволнами частотой 1 ГГц, плотностью потока мощности 50 нВт/см² сопровождается повышением уровня фосфорилирования *IкВа*, терминальной протеинкиназы *MAPK/SAPK*-сигнального пути – *p38* и протеинкиназы *MEK1*. В облученных культурах реконвалесцентов ВП отмечалось статистически значимое снижение уровня фосфорилирования *ERK1/2* и *JNK1/2*. Указанные изменения сопровождались повышением содержания в межклеточной жидкости концентрации антиоксидантов, СОД, тиолов, ГПО и ТРР. Кроме этого в облученных культурах клеток цельной крови реконвалесцентов ВП, статистически значимо усиливалось фосфорилирование БТШ27.

Выявленные особенности биологического действия низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц опосредованы изменением степени фосфорилирования терминальных протеинкиназ *MAPK/SAPK*-сигнального пути и *IкВа*, определяют характер модуляции функциональной активности соответствующих внутриклеточных сигнальных путей.

Низкоинтенсивное микроволновое излучение частотой 1 ГГц может рассматриваться в качестве дополнительного фактора медицинской реабилитации пациентов, перенесших ВП, способствующего нормализации антиоксидантной защиты и реактивности МНК.

Литература

1. Бриль Г.Е., Петросян В.И., Сеницын Н.И., Елкин В.А. Поддержание структуры водного матрикса – важнейший механизм гомеостатической регуляции в живых системах (концептуальная модель и ее базовое экспериментальное обоснование) // Биомедицинская радиоэлектроника. 2000. №2. С. 18–23.
2. Бурлакова Е.Б., Кондрадов А.А., Мальцева Е.Л. Суперслабые эффекты химических веществ и физических факторов на биологические системы // Биофизика. 2004. Т. 49, № 3. С. 517–522.
3. Власкин С.В., Терехов И.В., Петросян В.И., Дягилев Б.Л., Дубовицкий С.А., Киричук В.Ф., Семиволос А.М. 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.
4. Гудцова Т.Н., Жукова Г.В., Гаркави Л.Х., Суханова М.И., Евстратова О.Ф., Бартенева Т.А. Морфофункциональные аспекты противоопухолевого эффекта низкоинтенсивного микроволнового резонансного излучения в // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 150, № 11. С. 595–600.
5. Еськов В.М., Зилов В.Г., Фудин Н.А., Хадарцев А.А., Веневцева Ю.Л., Громов М.В., Карташова Н.М., Кидалов В.Н., Филатова О.Е., Цогоев А.С., Борисова О.Н., Купеев В.Г., Мельников А.Х., Наумова Э.М., Бехтерева Т.Л., Валентинов Б.Г., Демушкина И.Г., Смирнова И.Е., Сясин Н.И., Терехов И.В., Хадарцева К.А., Хижняк Л.Н., Юсупов Г.А., Адырхаева Д.А., Бочкарев Б.Ф., Хижняк Е.П. Избранные технологии диагностики: Монография / Под ред. Хадарцева А.А., Зилова В.Г., Фудина Н.А.. Тула: ООО РИФ «ИНФРА», 2008. 296 с.
6. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // Успехи биологических наук. 2014. Т. 54. С. 299–348.
7. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомедицинская химия. 2009. Т. 55, № 3. С. 255–277.
8. Логаткина А.В., Бондарь С.С., Терехов И.В., Собченко А.А. Метаболические эффекты низкоинтенсивной дециметровой физиотерапии при артериальной гипертензии // Вестник новых медицинских технологий. 2015. Т. 22, № 2. С. 71–77.
9. Надеев А.Д., Гончаров Н.В. Активные формы кислорода в клетках сердечно-сосудистой системы // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2014. № 4. С. 80–94.

10. Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 2003. 288 с.
11. Потехина Е.С., Надеждина Е.С. Митоген-активируемые протеинкиназные каскады и участие в них Ste20-подобных протеинкиназ // Успехи биологической химии. 2002. Т. 42. С. 235–256.
12. Солодухин К.А., Никифоров В.С., Громов М.С., Парфенюк В.К., Бондарь С.С., Терехов И.В. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии // Медицинская иммунология. 2012. Т.14, №6. С. 541–544.
13. Терехов И.В., Солодухин К.А., Никифоров В.С. Исследование возможности использования не-теплого СВЧ-излучения в реабилитационном периоде у больных внебольничной пневмонией // Физиотерапевт. 2011. № 4. С. 12–17.
14. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров А.А., Бондарь С.С. Продукция цитокинов клетками цельной крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного СВЧ-облучения // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 2-57. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/4815.pdf> (дата обращения: 30.06.2014). DOI: 10.12737/5025
15. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров В.С., Бондарь С.С. Морфо-функциональные проявления острого респираторного дистресс-синдрома и его коррекция СВЧ-излучением в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. № 1. Публикация 2-58. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4817.pdf> (дата обращения: 30.06.2014). DOI: 10.12737/5026.
16. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров В.С., Бондарь С.С. Функциональное состояние клеток цельной крови при внебольничной пневмонии и его коррекция СВЧ-излучением // Фундаментальные исследования. 2014. №10(4). С. 737–741.
17. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты // Бюллетень ВШЦ СО РАМН. 2012. № 2. С. 178–180.
18. Kirichuk V.F., Tsymbal A.A. Effects of terahertz irradiation at nitric oxide frequencies on intensity of lipoperoxidation and antioxidant properties of the blood under stress conditions // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2009. Т. 148. № 2. P. 200–203.
19. 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.
20. Lobyshev V.I. Water is a sensor to weak forces including electromagnetic fields of low intensity // Electromagnetic Biology and Medicine. 2005. № 24(3). P. 449–461.
21. Mahmood D.F., Abderrazak A., El Hadri K., Simmet T., Rouis M. The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease // Antioxid Redox Signal. 2013. № 19(11). P. 1266–1303. DOI: 10.1089/ars.2012.4757.
22. Pall M. Electromagnetic fields act via activation of voltage-gated calcium channels to produce beneficial or adverse effects // J. Cell. Mol. Med. 2013. № 17(8). P. 958–965.
23. Petrosyan V.I. Resonance RF Emission from Water // Technical Physics Letters. 2005. № 31 (12). P. 1007–1008.
24. Sinitsyn N.I., Petrosyan V.I., Yolkin V.A., Gulyaev Yu.V. Special function of the "millimeter wavelength waves - aqueous medium" system in nature // Critical Reviews in Biomedical Engineering. 2000. № 28(1-2). P. 269–305.
25. Stankiewicz W., Dabrowski M.P., Kubacki R. Immunotropic influence of 900 MHz microwave GSM signal on human blood immune cells activated in vitro // Electromagn Biol Med. 2006. № 25(1). P. 45–51.
26. Stankiewicz W., Zdanowski R., Skopinska-Rosewska 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.
27. Yao-Sheng Lu, Bao-Tian Huang, Yao-Xiong Huang Reactive Oxygen Species Formation and Apoptosis in Human Peripheral Blood Mononuclear Cell Induced by 900 MHz Mobile Phone Radiation // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2012, Article ID 740280. DOI:10.1155/2012/740280.

References

1. Bpill' GE, Petrosyan VI, Sinitsyn NI, Elkin VA. Podderzhanie struktury vodnogo matriksa – vazhnyshiy mekhanizm gomeosticheskoj regulyatsii v zhivyykh sistemakh (kontseptual'naya model' i ee bazovoe eksperimental'noe obosnovanie) [Maintaining the structure of the water matrix is the most important mechanism of homeostatic regulation in living systems]. Biomeditsinskaya radioelektronika. 2000;2:18-23. Russian.
2. Burlakova EB, Kondradov AA, Mal'tseva EL. Superslabye efekty khimicheskikh veshchestv i fizicheskikh faktorov na biologicheskie sistemy [Superweak effects of chemical substances and physical factors on biological systems]. Biofizika. 2004;49(3):517-22. Russian.

3. Vlaskin SV, Terekhov IV, Petrosyan VI, Dyagilev BL, Dubovitskiy SA, Kirichuk VF., Semivolos AM. Sposob terapevticheskogo vozdeystviya na biologicheskie ob"ekty elektromagnitnymi volnami i ustroystvo dlya ego osushchestvleniya [The method of therapeutic influence on biological objects by electromagnetic waves and the instrument for its implementation]: pat. 2445134 Russian Federation: MPK: A61N500, A61N502 № 2010138921/14; zayavl. 21.09.2010; opubl. 20.03.2012, Byul. № 8. Russian.
4. Gudtskova TN, Zhukova GV, Garkavi LK, Sukhanova MI, Evstratova OF, Barteneva TA. Morfo-funktional'nye aspekty protivoopukhlevogo effekta nizkointensivnogo mikrovolnovogo rezonansnogo izlucheniya [Morphofunctional aspects of the antitumor effect of low-intensity microwave resonance radiation] v. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2010;150(11):595-600. Russian.
5. Es'kov VM, Zilov VG, Fudin NA, Khadartsev AA, Venetseva YL, Gromov MV, Kartashova NM, Kidalov VN, Filatova OE, Tsogoev AS, Borisova ON, Kupeev VG, Mel'nikov AK, Naumova EM, Bekhtereva TL, Valentinov BG, Demushkina IG, Smirnova IE, Syasin NI, Terekhov IV, Khadartseva KA, Khizhnyak LN, Yusupov GA, Adyrkhaeva DA, Bochkarev BF, Khizhnyak EP. Izbrannye tekhnologii diagnostiki: Monografiya [Selected diagnostic technologies: Monograph]. Pod red. Khadartseva AA, Zilova VG, Fudina NA. Tula: OOO RIF «INFRA»; 2008. Russian.
6. Kalinina EV, Chernov NN, Novichkova MD. Rol' glutationa, glutationtransferazy i glutaredoksina v regulyatsii redoks-zavisimyykh protsessov [The role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes]. Uspekhi biologicheskikh nauk. 2014;54:299-348. Russian.
7. Kulinskiy VI, Kolesnichenko LS. Sistema glutationa. Sintez, transport, glutationtransferazy, glutationperoksidazy [Sistema glutationa. Sintez, transport]. Biomeditsinskaya khimiya. 2009;55(3):255-77. Russian.
8. Logatkina AV, Bondar' SS, Terekhov IV, Sobchenko AA. Metabolicheskie efekty nizkointensivnoy detsimetrovoy fizioterapii pri arterial'noy gipertonii [Metabolic effects of low-intensity decimetric physiotherapy in arterial hypertension]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2015;22(2):71-7. Russian.
9. Nadeev AD, Goncharov NV. Aktivnye formy kisloroda v kletkakh serdechno-sosudistoy sistemy [Active forms of oxygen in the cells of the cardiovascular system]. Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyykh zabolevaniy. 2014;4:80-94. Russian.
10. Pal'tsev MA, Ivanov AA, Severin SE. Mezhkletochnye vzaimodeystviya [Intercellular interactions]. Moscow: Meditsina; 2003. Russian.
11. Potekhina ES, Nadezhkina ES. Mitogen-aktiviruemye proteinkinaznye kaskady i uchastie v nikh Ste20-podobnykh proteinkinaz [Mitogen-activated protein kinase cascades and the participation in them of Ste20-like protein kinases]. Uspekhi biologicheskoy khimii. 2002;42:235-56. Russian.
12. Solodukhin KA, Nikiforov VS, Gromov MS, Parfenyuk VK, Bondar' SS, Terekhov IV. Vliyanie nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya na vnutrikletochnye protsessy v mononuklearakh pri pnevmonii [Influence of low-intensity G_n-irradiation on intracellular processes in mononuclears in pneumonia]. Meditsinskaya immunologiya. 2012;14(6):541-4. Russian.
13. Terekhov IV, Solodukhin KA, Nikiforov VS. Issledovanie vozmozhnosti ispol'zovaniya neteplovogo SVCh-izlucheniya v reabilitatsionnom periode u bol'nykh vnebol'nichnoy pnevmoniey [Investigation of the possibility of using nonthermal microwave radiation in the rehabilitation period in patients with community-acquired pneumonia]. Fizioterapevt. 2011;4:12-7. Russian.
14. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov AA, Bondar' SS. Produktsiya tsitokinov kletkami tsel'noy krovi rekonvalescentov vnebol'nichnoy pnevmonii pod vliyaniem nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya [Production of cytokines by whole blood cells of convalescents of community-acquired pneumonia under the influence of low-intensity Cd-irradiation]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie. 2014 [cited 2014 Jun 30];1 [about 6 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/4815.pdf>. DOI: 10.12737/5025
15. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Morfo-funktional'nye proyavleniya ostrogo respiratornogo distress-sindroma i ego korrektsiya SVCh-izlucheniem v eksperimente [Morpho-functional manifestations of acute respiratory distress syndrome and its correction by Hv-radiation in the experiment]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie. 2014 [cited 2014 Jun 30]; 1 [about 7 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4817.pdf>. DOI: 10.12737/5026.
16. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Funktsional'noe sostoyanie kletok tsel'noy krovi pri vnebol'nichnoy pnevmonii i ego korrektsiya SVCh-izlucheniem [Functional state of whole blood cells in community-acquired pneumonia and its correction by Hg-radiation]. Fundamental'nye issledovaniya. 2014;10(4):737-41. Russian.
17. Tolpygina OA. Rol' glutationa v sisteme antioksidantnoy zashchity [The role of glutathione in the antioxidant defense system]. Byulleten' VSNTs SO RAMN. 2012;2:178-80. Russian.
18. Kirichuk VF, Tsybmal AA. Effects of terahertz irradiation at nitric oxide frequencies on intensity of lipoperoxidation and antioxidant properties of the blood under stress conditions. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2009;148(2):200-3.

19. 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.

20. Lobyshev VI. Water is a sensor to weak forces including electromagnetic fields of low intensity. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2005;24(3):449-61.

21. Mahmood DF, Abderrazak A, El Hadri K, Simmet T, Rouis M. The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2013; 19(11): 1266-303. DOI: 10.1089/ars.2012.4757.

22. Pall M. Electromagnetic fields act via activation of voltage-gated calcium channels to produce beneficial or adverse effects. *J. Cell. Mol. Med*. 2013; 17(8): 958-65.

23. Petrosyan VI. Resonance RF Emission from Water. *Technical Physics Letters*. 2005; 31 (12): 1007-8.

24. Sinitsyn NI, Petrosyan VI, Yolkin VA, Gulyaev YuV. Special function of the "millimeter wavelength waves - aqueous medium" system in nature. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*. 2000; 28 (1-2): 269-305.

25. Stankiewicz W, Dabrowski MP, Kubacki R. Immunotropic influence of 900 MHz microwave GSM signal on human blood immune cells activated in vitro. *Electromagn Biol Med*. 2006; 25(1): 45-51.

26. Stankiewicz W, Zdanowski R, Skopinska-Rosewska 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.

27. Yao-Sheng Lu, Bao-Tian Huang, Yao-Xiong Huang Reactive Oxygen Species Formation and Apoptosis in Human Peripheral Blood Mononuclear Cell Induced by 900 MHz Mobile Phone Radiation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012, Article ID 740280. DOI:10.1155/2012/740280.

Библиографическая ссылка:

Хадарцев А.А., Терехов И.В., Бондарь С.С., Парфенюк В.К., Бондарь Н.В. Состояние антиоксидантной защиты в постклиническую фазу внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №2. Публикация 2-14. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-2/2-14.pdf> (дата обращения: 19.05.2017). DOI: 10.12737/article_5922bc38b22895.03383980.