

СОДЕРЖАНИЕ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ НЕРЕЦЕПТОРНЫХ SRC-КИНАЗ ПРИ СУБКЛИНИЧЕСКОМ ИММУННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРОВОЛН ЧАСТОТОЙ 1 ГГц

С.С. БОНДАРЬ*, И.В. ТЕРЕХОВ*, А.А. ВОЕВОДИН**

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

**ФГБОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России,
ул. Академика Лебедева, д. 6, г. Санкт-Петербург, 194044, Россия

Аннотация. В исследовании обсуждается содержание в мононуклеарных лейкоцитах (МНК) отдельных нерецепторных тирозиновых протеинкиназ семейства *src* (*FRK*, *FYN*, *LYN*, *LCK*) и влияние на их уровень низкоинтенсивного излучения частотой 1 ГГц. У пациентов в постклиническую фазу инфекционно-воспалительного процесса, а так же у здоровых лиц, показана чувствительность внутриклеточных сигнальных систем, регулируемых протеинкиназами семейства *src* к воздействию низкоинтенсивных микроволн. Показана потенциальная способность микроволн модулировать разнообразные процессы, за счет изменения содержания в клетках исследованных протеинкиназ. При этом облучение выступает в роли антионкогена, способствуя повышению содержания в МНК факторов, являющихся негативными регуляторами клеточной пролиферации. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований биологических эффектов низкоинтенсивного излучения частотой 1 ГГц с точки зрения их применения в комплексном лечении и реабилитации пациентов с соматической патологией, в том числе опухолевого генеза.

Ключевые слова: *FRK*, *FYN*, *LYN*, *LCK*, пневмония, мононуклеарные клетки цельной крови.

CONTENTS IN MONONUCLEAR CELLS WHOLE BLOOD NON-RECEPTOR SRC-KINASE AT SUBCLINICAL IMMUNE-INFLAMMATORY PROCESS UNDER THE INFLUENCE OF MICROWAVE 1 GHz

S.S. BONDAR*, I.V. TEREKHOV*, A.A. VOEVODIN**

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

**Russian Military Medical Academy, Academician Lebedev Str., 6, Saint-Petersburg, 194044, Russia

Abstract. This study discusses the content in mononuclear leukocytes (MNCs) separate non-receptor tyrosine protein kinase family of *src* (*FRK*, *FYN*, *LYN*, *LCK*), and their effects on the level of low-intensity radiation of 1 GHz. The sensitivity of intracellular signaling systems to the effects of low-intensity microwave radiation at a frequency of 1 GHz is demonstrated in patients at post-clinical phase of infectious-inflammatory process, as well as in healthy individuals. It was shown the ability of microwaves to modulate a variety of processes due to changing the content in MNC kinases of the *src* family. In this case, the irradiation acts as anti-oncogene, contributing to the elevated levels of the cell factors, which are negative regulators of cell proliferation. The results of this study indicate the prospects for further research of biological effects of low-intensity radiation of 1 GHz from the point of view of application of physiotherapeutic factors in the combined treatment and rehabilitation of patients after infectious-inflammatory process.

Key words: *FRK*, *FYN*, *LYN*, *LCK*, pneumonia, mononuclear cell, non-receptor tyrosine kinase.

Воздействие на организм разнообразных стрессоров, приводящее к формированию дистресса сопровождается существенными нарушениями внутриклеточных процессов, включая процесс передачи рецепторной информации, приводящий к нарушению функциональной активности клеток [1, 2]. При этом рассогласование молекулярных механизмов рецепторной трансдукции приводит к нарушению клеточной реактивности, сопровождающейся формированием аутоиммунных реакций, опухолевой трансформацией, переходом острого инфекционного процесса в хроническую форму [3].

В формировании и функционировании сигнальных путей трансдукции рецепторных сигналов и активации иммунокомпетентных клеток ключевую роль играют нерецепторные тирозиновые протеинкиназы, входящие в семейство *src*, обеспечивающие селективную реакцию на рецепторную активацию данных клеток, включающую в себя одним из необходимых этапов их активации – пролиферацию [21, 23]. При этом тирозиновая киназа *LCK* экспрессируется преимущественно в *T*-лимфоцитах, участвуя в проведении сигналов с *T*-клеточного рецептора и регуляции цитотоксичности *NK* клеток. Тирозиновая киназа *LYN* экспрессирующаяся, в частности, в *B*-клетках, обеспечивая передачу сигнала преимущест-

венно с *B*-клеточного рецептора, регулирует функциональную активность гуморального иммунного ответа, участвуя так же в регуляции фагоцитоза за счет активации *NF-κB* сигнальных путей. Кроме этого протеинкиназа *LYN* принимает участие в регуляции чувствительности негемопоэтических клеток к инсулину, фосфорилируя фактор *IRS1* и *GLUT4* [24, 25].

Нерецепторная тирозинкиназа *FYN*, участвуя в передаче сигнала с *T*-клеточного рецептора, задействована так же в сигнальных путях интегринов, дифференцировке и активации *NK*. Благодаря возможности активировать и стабилизировать опухолевой супрессор *P TEN*, способный подавлять активацию *AKT/mTOR*-сигнального пути, протеинкиназа *FRK* может рассматриваться в качестве негативного регулятора клеточной пролиферации, причем не только в интактных клетках, но и в клетках, подвергшихся опухолевой трансформации [26]. *FYN* – ассоциированная киназа *FRK* играет важную роль в клеточной физиологии, выступая в качестве регулятора клеточного цикла, обеспечивая негативный контроль активности фосфоинозитол-3 протеинкиназы (*PI3K*) [26, 27].

Таким образом, вовлеченные в регуляцию ключевых клеточных функций и информационный обмен, данные протеинкиназы могут рассматриваться в качестве мишеней управляющего воздействия при различных патологических состояниях. В связи с тем, что разнообразные внешние факторы способны приводить к дизрегуляции молекулярных механизмов, в частности, нарушать передачу информации от рецептора к исполнительному аппарату клетки, коррекция таких нарушений требует системного подхода, с сохранением пространственной и временной синхронизации молекулярных процессов [4]. При этом, использование таргетных лекарственных препаратов, блокирующих активность одной регуляторной молекулы, как правило, приводит к усугублению дизрегуляции клеточной активности, что на уровне организма проявляется многочисленными побочными явлениями и осложнениями [5]. Указанное обстоятельство определяет необходимость дальнейшего поиска факторов, способных оказывать регулирующее и корригирующее действие на внутриклеточные механизмы регуляции информационного обмена.

Одним из факторов, способных модулировать функциональную активность внутриклеточных молекулярных систем, обладающих способностью приводить к синхронизации молекулярных процессов, является низкоинтенсивное электромагнитное излучение дециметрового, миллиметрового и терагерцового диапазона [6, 7]. Используя резонансные частоты электромагнитных излучений, достигается коррекция функционального состояния клеток, тканей и органов, находящихся в зоне воздействия [8].

В последнее время появились результаты исследований, свидетельствующие о возможности коррекции функционального состояния клеток путем воздействия на них низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц, являющегося частотой резонансной прозрачности водосодержащих сред [7, 9, 10].

Цель исследования. В связи с важной ролью, которую играют нерецепторные *src*-подобные протеинкиназы в обеспечении сигнальной трансдукции в *T*- и *B*-лимфоцитах, нами исследовано их содержание в *моноклеарных лейкоцитах* (МНК) цельной крови у пациентов, перенесших острый инфекционно-воспалительный процесс нижних отделов респираторного тракта и практически здоровых лиц, а так же оценены биологические эффекты микроволнового излучения частотой 1 ГГц при их воздействии на культуру клеток цельной крови.

Материалы и методы исследования. В соответствии с целью настоящей работы были обследованы 30 пациентов мужского пола с бактериальной внебольничной пневмонией нетяжелого течения на 15–17-е сутки заболевания в возрасте от 20 до 35 лет, составившие основную группу. Контрольную группу составили 15 практически здоровых молодых человек из числа доноров крови в возрасте от 20 до 33 лет. Материалом для исследования служила венозная кровь, забиравшаяся в утренние часы (с 7:00 до 7:30) из локтевой вены.

Для проведения исследования внутриклеточных маркеров 1 мл цельной крови вносили во флакон, содержащий 4 мл среды *DMEM*, гепарин (2,5 ЕД/мл), гентамицин (100 мкг/мл) и *L*-глутамин (0,6 мг/мл). Подготовленные таким образом образцы облучали в течение 45 минут аппаратом микроволновой терапии «Акватон-02» (ООО «ТЕЛЕМАК», г. Саратов), на частоте $1,0 \pm 0,03$ ГГц (плотность потока энергии 50 нВт/см^2) [11, 12].

После облучения флаконы помещались на 1, 3 и 24 часа в термостат при 37°C с последующим выделением на градиенте фиколл-верографина ($\rho=1,077$) МНК и приготовлением лизатов, для чего использовали 1 мл клеточной суспензии содержащих 5×10^6 МНК. Выделенные МНК дважды отмывали в фосфатно-солевом буфере, после чего лизировали, используя буфер следующего состава: 10 mM *Tris*, pH 7,4; 100 mM *NaCl*, 1 mM *EDTA*, 1 mM *EGTA*, 1 mM *NaF*, 20 mM *Na₄P₂O₇*, 2 mM *Na₃VO₄*, 1% *Triton X-100*, 10% глицерола, 0,1% *SDS*, 0,5% деоксихолата, 1 mM *PMSF* (матричный 0,3 M раствор в *DMSO*). В лизирующий раствор добавляли (*ex tempore*) 1% коктейля ингибитора протеаз (*Sigma-Aldrich*, США), выдерживали на льду (при $t = +4-5^\circ\text{C}$) в течение 15 минут. Полученные лизаты центрифугировали в течение 10 минут при 15 000 об/мин, с последующим аликвотированием и замораживанием при -76°C .

Подсчет клеток и анализ жизнеспособности осуществляли с помощью счетчика *TC20* (*Bio-Rad*, США). Жизнеспособность клеток подготовленных культур составляла более 90%.

Облучение образцов крови проводили с помощью генератора сигналов *HP8664A* с использованием излучающей антенны магнитного типа в дальней зоне облучателя, непосредственно перед их помещением в термостат [12, 13].

В клеточных лизатах МНК методом ИФА оценивали содержание протеинкиназы *LYN*, *FYN*, *LCK*, *FRK*. Исследование молекулярных маркеров выполняли методом иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе *Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия)*. При проведении анализа использовали наборы производства *CUSABIO BIOTECH (Китай)*.

Статистическую обработку проводили в программе *Statistica 7.0*. Результаты исследования представлены в виде: среднее значение признака (\bar{x}) \pm выборочное стандартное отклонение (s), а так же медиана (Me), 25 (q_{25}) и 75 (q_{75}) проценти выборки. Статистическую значимость (p) межгрупповых различий в несвязанных выборках оценивали с помощью Критерия Колмогорова-Смирнова, в связанных – с использованием критерия знаков [22].

Результаты и их обсуждение. В табл. 1 представлены результаты анализа межгрупповых различий уровней исследованных факторов в МНК.

Таблица 1

Межгрупповые различия исследованных факторов

| Фактор | Группы исследования | | | | Δ , % | Уровень значимости, p |
|--------------------|---------------------|-------|-------------|-------|--------------|-------------------------|
| | Основная | | Контрольная | | | |
| | \bar{x} | s | \bar{x} | s | | |
| <i>FRK</i> , нг/мл | 0,83 | 0,172 | 0,57 | 0,149 | 45,6 | $p < 0.005$ |
| <i>LCK</i> , нг/мл | 0,54 | 0,334 | 0,29 | 0,054 | 86,2 | $p < 0.001$ |
| <i>FYN</i> , нг/мл | 0,75 | 0,284 | 0,57 | 0,054 | 31,6 | $p > 0.1$ |
| <i>LYN</i> , нг/мл | 1,51 | 0,121 | 1,65 | 0,116 | -8,5 | $p < 0.005$ |

Приложение: Δ – различие исследованного фактора в основной группе в сравнении с группой контроля (%)

Анализ полученных результатов показал, что в МНК основной группы имеет место повышенное содержание протеинкиназ *FRK*, *LCK* и *LYN* на фоне снижения в клетках уровня протеинкиназы *LYN*. Сохраняющееся повышение уровня протеинкиназ *LCK* и *FYN*, способствует сохранению в данную фазу патологического процесса активности сигнального пути *TCR*, позволяя говорить о снижении активности сигнальной трансдукции *BCR* в *B*-лимфоцитах. Повышение содержания в МНК протеинкиназы *FRK*, может свидетельствовать об усилении в клетках контроля пролиферации.

В табл. 2 представлена динамика содержания в МНК группы контроля исследованных факторов под влиянием низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц.

Таблица 2

Динамика исследованных факторов в группе контроля под влиянием микроволн частотой 1 ГГц

| Фактор | Время, ч | Естественное содержание | | | | СВЧ-облучение | | | |
|--------------------|----------|-------------------------|----------|-------|----------|---------------|----------|-------|----------|
| | | \bar{x} | q_{25} | Me | q_{75} | \bar{x} | q_{25} | Me | q_{75} |
| <i>LCK</i> , нг/мл | 1 | 0,292 | 0,243 | 0,296 | 0,341 | 0,293 | 0,244 | 0,298 | 0,343 |
| | 3 | 0,292 | 0,242 | 0,296 | 0,341 | 0,296 | 0,246 | 0,3 | 0,346 |
| | 24 | 0,292 | 0,242 | 0,296 | 0,341 | 0,298 | 0,248 | 0,302 | 0,349 |
| <i>FIN</i> , нг/мл | 1 | 0,571 | 0,526 | 0,556 | 0,616 | 0,572 | 0,527 | 0,557 | 0,617 |
| | 3 | 0,571 | 0,526 | 0,556 | 0,616 | 0,574 | 0,529 | 0,56 | 0,619 |
| | 24 | 0,571 | 0,526 | 0,555 | 0,616 | 0,576 | 0,531 | 0,561 | 0,622 |
| <i>LYN</i> , нг/мл | 1 | 1,653 | 1,567 | 1,69 | 1,739 | 1,654 | 1,568 | 1,691 | 1,74 |
| | 3 | 1,653 | 1,567 | 1,69 | 1,739 | 1,656 | 1,569 | 1,693 | 1,743 |
| | 24 | 1,653 | 1,567 | 1,69 | 1,739 | 1,658 | 1,571 | 1,694 | 1,745 |
| <i>FRK</i> , нг/мл | 1 | 0,567 | 0,467 | 0,551 | 0,667 | 0,568 | 0,468 | 0,552 | 0,668 |
| | 3 | 0,566 | 0,466 | 0,55 | 0,667 | 0,57 | 0,47 | 0,554 | 0,67 |
| | 24 | 0,566 | 0,467 | 0,551 | 0,666 | 0,571 | 0,472 | 0,556 | 0,671 |

На рис.1 представлена динамика эффектов облучения в группе контроля.

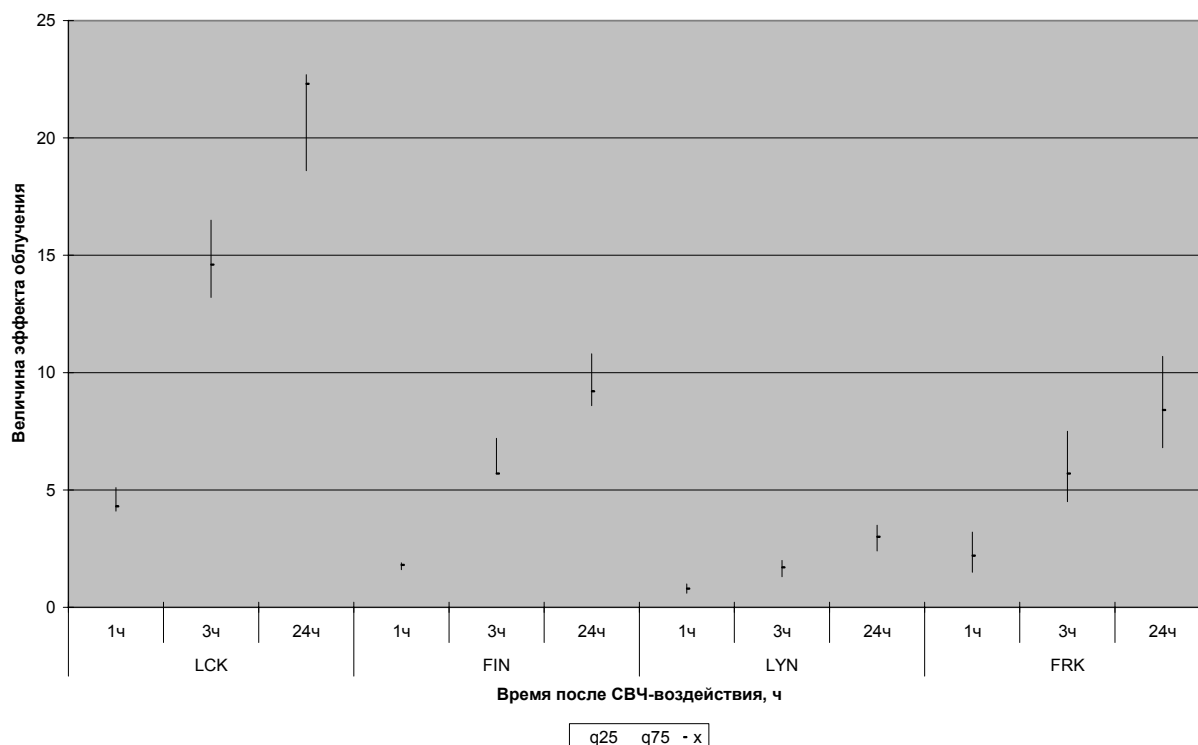


Рис.1. Динамика эффектов облучения в группе контроля

Примечание: символом \bar{x} отмечено среднее значение эффекта облучения; вертикальные линии отражают максимальное и минимальное значение эффекта облучения

Проведенный анализ показал, что наибольшее влияние микроволны оказывают на уровень в МНК протеинкиназы *LCK*. Минимальной чувствительностью отличается содержание протеинкиназы *LYN*. При этом величина эффекта облучения для всех факторов возрастает в течение суток после однократного воздействия на клетки низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц.

В табл.3 представлена динамика содержания в МНК основной группы исследованных факторов под влиянием низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц.

Таблица 3

Динамика исследованных факторов в основной группе под влиянием микроволн частотой 1 ГГц

| Фактор | Время, ч | Естественное содержание | | | | СВЧ-облучение | | | |
|--------------------|----------|-------------------------|----------|-------|----------|---------------|----------|-------|----------|
| | | \bar{x} | q_{25} | Me | q_{75} | \bar{x} | q_{25} | Me | q_{75} |
| <i>LCK</i> , нг/мл | 1 | 0,539 | 0,372 | 0,383 | 0,554 | 0,541 | 0,373 | 0,385 | 0,556 |
| | 3 | 0,539 | 0,372 | 0,383 | 0,555 | 0,543 | 0,375 | 0,387 | 0,558 |
| | 24 | 0,539 | 0,372 | 0,383 | 0,554 | 0,545 | 0,377 | 0,388 | 0,56 |
| <i>FIN</i> , нг/мл | 1 | 0,746 | 0,606 | 0,655 | 0,734 | 0,747 | 0,607 | 0,657 | 0,736 |
| | 3 | 0,745 | 0,606 | 0,654 | 0,734 | 0,749 | 0,61 | 0,659 | 0,738 |
| | 24 | 0,746 | 0,607 | 0,655 | 0,734 | 0,751 | 0,612 | 0,661 | 0,74 |
| <i>LYN</i> , нг/мл | 1 | 1,505 | 1,458 | 1,507 | 1,601 | 1,507 | 1,46 | 1,509 | 1,603 |
| | 3 | 1,505 | 1,458 | 1,508 | 1,601 | 1,509 | 1,462 | 1,511 | 1,604 |
| | 24 | 1,506 | 1,458 | 1,508 | 1,602 | 1,512 | 1,464 | 1,515 | 1,607 |
| <i>FRK</i> , нг/мл | 1 | 0,567 | 0,467 | 0,551 | 0,667 | 0,568 | 0,468 | 0,552 | 0,668 |
| | 3 | 0,566 | 0,466 | 0,55 | 0,667 | 0,57 | 0,47 | 0,554 | 0,67 |
| | 24 | 0,566 | 0,467 | 0,551 | 0,666 | 0,571 | 0,472 | 0,556 | 0,671 |

На рис. 2 представлена динамика эффектов облучения в основной группе.

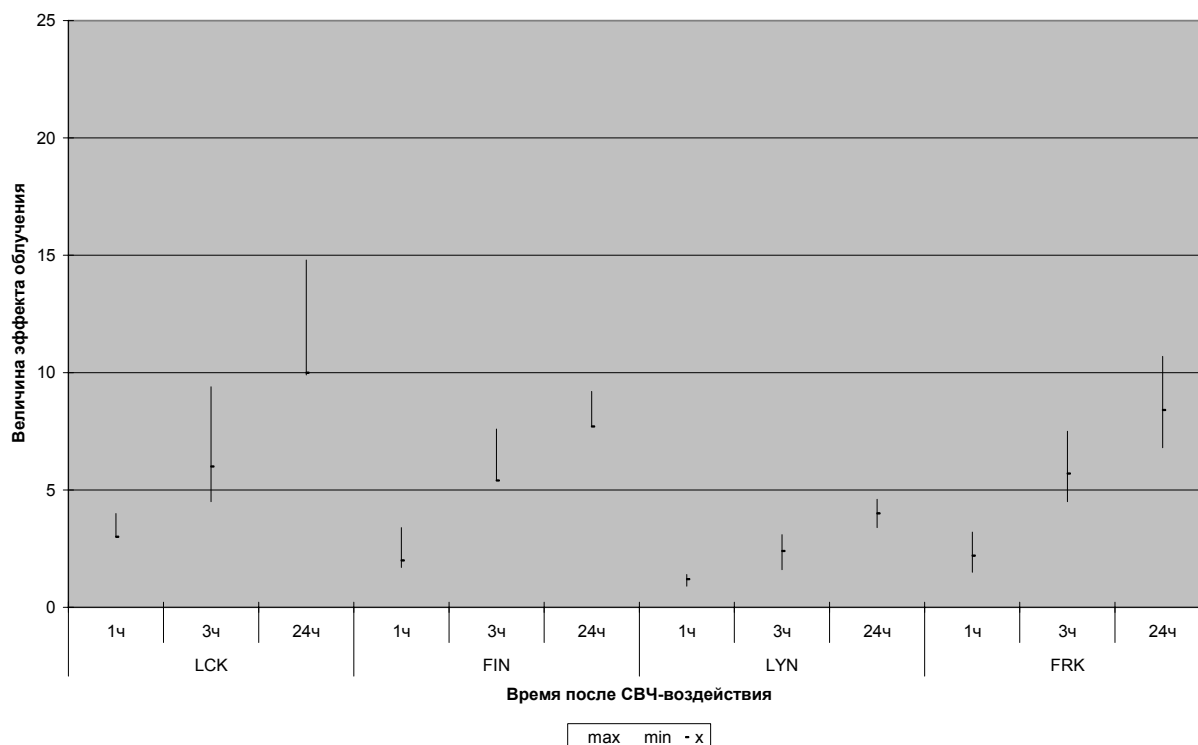


Рис.2. Динамика эффектов облучения в основной группе

Примечание: символом \square отмечено среднее значение эффекта облучения; вертикальные линии отражают максимальное и минимальное значение эффекта облучения

Проведенный анализ показал, что влияние микроволн на исследуемые показатели в основной группе существенно ниже, чем в группе контроля, в особенности по отношению к протеинкиназе *LCK*. При этом стимулированный микроволнами прирост содержания в МНК исследованных факторов в основной группе так же, как и в группе контроля, находится в зависимости от экспозиции клеточных культур после воздействия.

В табл. 4 представлены результаты анализа статистической значимости различий содержания в МНК нерецепторных протеинкиназ спустя 24 часа после однократного воздействия на клетки микроволн частотой 1 ГГц.

Таблица 4

Анализ статистической значимости выявленных различий

| Фактор | Группы | | | | | | ε, ед. |
|------------|--------------------|-------|------|-----------------|-------|------|--------|
| | Контрольная группа | | | Основная группа | | | |
| | Z | p | Δ, ‰ | Z | p | Δ, ‰ | |
| <i>FRK</i> | 5,05 | 0,000 | 22,3 | 8,11 | 0,000 | 10,0 | 0,45 |
| <i>LCK</i> | 5,05 | 0,000 | 9,2 | 8,11 | 0,000 | 7,7 | 0,84 |
| <i>FYN</i> | 5,05 | 0,000 | 3,0 | 8,11 | 0,000 | 4,0 | 1,33 |
| <i>LYN</i> | 5,05 | 0,000 | 8,4 | 8,11 | 0,000 | 8,4 | 1,0 |

Примечание: Z – значение z-критерия, p – уровень значимости выявленных различий, Δ – различие исследованного показателя до и после облучения (‰), ε – соотношение эффектов облучения в основной группе и группе контроля (ед.)

Проведенный анализ показал, что однократное облучение культуры клеток цельной крови низкоинтенсивным излучением частотой 1 ГГц сопровождается статистически значимыми изменениями содержания в МНК исследованных молекулярных маркеров, обеспечивающих функционирование T- и B-клеточных рецепторов.

Анализ динамики внутриклеточной концентрации исследованных факторов под влиянием однократного СВЧ-облучения выявил различный характер ответа внутриклеточной системы здоровых лиц и реконвалесцентов ВИ на проводимое воздействие. Так, в группе контроля более выражено изменялась концентрация протеинкиназы *FYN*, у пациентов группы контроля – *FRK*. Влияние микроволн на уровень протеинкиназы *LYN* был сопоставим в основной и контрольной группе. При этом эффект облучения увеличивался в течение суток после однократного воздействия на культуры низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц.

Проведенный анализ показал, что постклиническая стадия иммунно-воспалительного процесса сопровождается статистически значимым повышением содержания в МНК протеинкиназы *FRK* и *LCK*, а так же снижением уровня протеинкиназы *LYN*. Учитывая роль протеинкиназы *FRK* во внутриклеточной физиологии, повышение уровня киназы в МНК указывает на повышенную активность сигнального пути *T*-клеточного рецептора у реконвалесцентов ВИ. При этом сниженный уровень киназы *LYN*, очевидно свидетельствует об угнетении активности сигнального пути *B*-клеточного рецептора, связанного с торможением гуморального иммунного ответа в данную фазу патологического процесса.

Повышенный уровень в МНК протеинкиназы *FYN* и *LCK* указывает на сохранение стимуляции ко-рецепторов (*CD4*, *CD8*) комплексами антиген-молекула главного комплекса гистосовместимости, следствием чего является так же сохранение активации ядерных факторов транскрипции *NFAT*, *AP-1* и *NF-κB* наблюдающееся у таких больных [14, 23].

Проведенный анализ показал, что однократное воздействие на клетки цельной крови низкоинтенсивных микроволн частотой 1 ГГц уже спустя час после облучения способствует повышению уровня в МНК всех исследованных факторов. При этом наиболее выраженное изменение имеет место в отношении протеинкиназы *FRK*. Нерепетиторная *src*-подобная протеинкиназа *FRK* (*FYN* – ассоциированная киназа) играет важную роль в негативной регуляции пролиферативных процессов, за счет активации и стабилизации опухолевого супрессора *PTEN*, а так же негативной регуляции активности *AKT/mTOR*-сигнального пути [27, 29]. В этих условиях, стимулируя увеличение в МНК содержания *FRK*, микроволновое излучение способствует усилению онкосупрессорных функций рассматриваемого внутриклеточного фактора. При этом, снижение уровня фосфорилирования протеинкиназы *AKT1*, наблюдающееся под влиянием микроволн, возможно имеет своим механизмом, ее повышенную инактивацию протеинкиназой *FRK*, уровень которой повышен в облученных клетках [10, 15].

Кроме того, учитывая роль протеинкиназы *FYN* в регуляции работы сигнальных путей интегринов, рецепторов факторов роста и цитокинов, в дифференцировке натуральных киллерных клеток, формировании архитектоники коры, очевидно, что эффекты микроволн могут проявляться не только изменением функциональной активности МНК, но и других типов клеток [16].

При этом очевидно, что пролиферативные эффекты облучения, компенсируются либо сдерживаются стимуляцией содержания в клетках антионкогенов, что в свою очередь, позволяет говорить о модулирующем действии микроволн на внутриклеточные процессы, характер проявлений которых будет находиться в зависимости от исходного функционального состояния облученных клеток [17-20].

Стимулирующее влияние облучения на уровень в клетках протеинкиназы *LYN*, опосредует стимуляцию функциональной активности В-лимфоцитов и продукцию ими иммуноглобулинов, а так же их антигенпрезентирующие функции. Так же изменение в облученных клетках уровня протеинкиназы *LYN* определяет модуляцию баланса *Tx1/Tx2*, которая определяется в том числе, изменением продукции ИЛ-4 и синтеза *IgE* [12, 17, 18, 26]. Кроме того, повышение уровня данной протеинкиназы способствует улучшению усвоения клетками глюкозы, за счет фосфорилирования фактора *IRS1* и активации переносчика глюкозы *GLUT-4*, определяя метаболические эффекты микроволн [21, 25].

Таким образом, на модели МНК в постклиническую фазу инфекционно-воспалительного процесса, а так же в состоянии здоровья, показана чувствительность внутриклеточных сигнальных систем к воздействию низкоинтенсивного микроволнового излучения частотой 1 ГГц, а так же потенциальная возможность микроволн модулировать разнообразные процессы, за счет воздействия на уровень в клетке нерепетиторных тирозиновых *src*-подобных протеинкиназ. При этом облучение выступает в роли антионкогена, способствуя повышению в клетке факторов, являющихся негативными регуляторами клеточной пролиферации [16, 27]. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований биологических эффектов низкоинтенсивного излучения частотой 1 ГГц с точки зрения применения данного физиотерапевтического фактора в комплексном лечении и реабилитации пациентов перенесших инфекционно-воспалительных процесс.

Выводы:

1. Постклиническая стадия инфекционно-воспалительного процесса характеризуется увеличением на 45,6% ($p < 0,005$) содержания в МНК протеинкиназы *FRK*, на 86,2% ($p < 0,001$) – *LCK*, на 31,6% ($p > 0,1$) – *FYN*, и снижением на 8,5% ($p < 0,005$) содержания протеинкиназы *LYN*.

2. Однократное облучение клеток цельной крови низкоинтенсивным излучением частотой 1 ГГц спустя 1 час после воздействия сопровождается ростом содержания в МНК всех исследованных факто-

ров, при этом максимальный эффект облучения отмечается спустя 24 часа после облучения. Максимальное влияние микроволны оказывают на уровень протеинкиназы *FRK*. Облучение МНК в основной группе способствует нормализации сниженного содержания протеинкиназы *LYN*, что указывает на регулирующее воздействие микроволн в отношении сигнальной трансдукции *B*-клеточного рецептора, модулируя метаболическую активность клеток, за счет повышения усвоения ими глюкозы.

3. Микроволновое излучение частотой 1 ГГц может рассматриваться в качестве немедикаментозного фактора молекулярной реабилитации у пациентов перенесших острый инфекционно-воспалительный процесс нижних отделов респираторного тракта.

Литература

1. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Хрупаев А.Г. Депрессия антистрессовых механизмов как основа развития патологического процесса // *Фундаментальные исследования*. 2012. Т.4, №2. С. 371–375.
2. Хадарцев А.А., Еськов В.М., Хадарцев В.А., Иванов Д.В. Клеточные технологии с позиций синергетики // *Вестник новых медицинских технологий*. 2009. № 4. С. 7–9.
3. Фудин Н.А., Кидалов В.Н., Наумова Э.М., Валентинов Б.Г., Хадарцев А.А. Саногенез с клеточных позиций // *Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал*. 2015. №4. Публикация 2-15. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-4/5316.pdf> (дата обращения 30.11.2015). DOI: 10.12737/17081.
4. Системные подходы в биологии и медицине (системный анализ, управление и обработка информации) / Под ред. Хадарцева А.А., Еськова В.М., Яшина А.А., Козырева К.М. Тула: ООО РИФ «ИН-ФРА», 2008. 372 с.
5. Никитин Е.А. Передача сигнала через *B*-клеточный рецептор: механизмы и ингибиторы // *Клиническая онкогематология*. 2014. №3. С. 251–263.
6. Киричук В.Ф., Андронов Е.В., Тупикин В.Д. Терагерцовое излучение на частоте 400 ГГц оксида азота и агрегационная активность тромбоцитов больных нестабильной стенокардией // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2006. № 5-6. С. 1–5.
7. Бриль Г.Е., Петросян В.И., Сеницын Н.И. Поддержание структуры водного матрикса – важнейший механизм гомеостатической регуляции в живых системах (концептуальная модель и ее базовое экспериментальное обоснование) // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2000. № 2. С. 29–31.
8. Хадарцева К.А., Беляева Е.А., Борисова О.Н., Атлас Е.Е. Возможности внешнего управления физиологическими и патологическими процессами в организме человека (краткий обзор литературы) // *Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал*. 2015. №3. Публикация 8-2. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E20153/5244.pdf> (дата обращения 28.09.2015). DOI: 10.12737/13371.
9. Петросян В.И. Резонансное излучение воды в радиодиапазоне // *Письма в ЖТФ*. 2005. Т. 31, №23. С. 29–33.
10. Терехов И.В., Петросян В.И., Дягилев Б.Л. Молекулярные механизмы иммунореабилитации при использовании низкоинтенсивного СВЧ-излучения // *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2011. № 1(5). С. 34–37.
11. Власкин С.В., Терехов И.В., Петросян В.И. Способ терапевтического воздействия на биологические объекты электромагнитными волнами и устройство для его осуществления: Патент Российской Федерации RU 2445134. 2006.
12. Терехов И.В., Солодухин К.А., Никифоров В.С. Особенности биологического эффекта низкоинтенсивного СВЧ-облучения в условиях антигенной стимуляции мононуклеаров цельной крови // *Физиотерапевт*. 2013. №1. С. 26–32.
13. 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. Т. 10, №4. С. 737–741.
14. Терехов И.В., Солодухин К.А., Никифоров В.С. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии // *Медицинская иммунология*. 2012. Т. 14, №6. С. 541–544.
15. 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. Электронный журнал*. 2016. №1. Публикация 2-6. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-6.pdf> (дата обращения 10.02.2016). DOI: 10.12737/18561.
16. Гудцова Т.Н., Жукова Г.В., Гаркави Л.Х. Морфофункциональные аспекты противоопухолевого эффекта низкоинтенсивного микроволнового резонансного излучения в эксперименте // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2010. Т.150, №11. С. 595–600.

17. Терехов И.В., Солодухин К.А., Ицкович В.О. Особенности биологического действия низкоинтенсивного СВЧ-излучения на продукцию цитокинов клетками цельной крови при внебольничной пневмонии // Цитокины и воспаление. 2012. Т.11, №4. С. 67–72.
18. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров В.С., Бондарь С.С. Продукция цитокинов клетками цельной крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного СВЧ-облучения // Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал. 2014. № 1. Публикация 2-57. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf> (дата обращения 30.06.2014). DOI: 10.12737/5025.
19. Терехов И.В., Бондарь С.С. Особенности биологического действия низкоинтенсивного СВЧ-излучения на состояние противовирусной защиты клеток цельной крови при внебольничной пневмонии и у здоровых лиц // Вестник новых медицинских технологий. 2015. Т.22, №2. С. 55–60.
20. Терехов И.В., Солодухин К.А., Никифоров В.С. Исследование возможности использования нетеплового СВЧ-излучения в реабилитационном периоде у больных внебольничной пневмонией // Физиотерапевт. 2011. №4. С. 12–17.
21. 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.
22. Хромушин В.А., Хадарцев А.А., Бучель В.Ф., Бондарь С.С. Алгоритмы и анализ медицинских данных. Тула, 2010. 36 с.
23. Zamoyska R., Basson A., Filby A., Legname G., Lovatt M., Seddon B. The influence of the src-family kinases, Lck and Fyn, on T cell differentiation, survival and activation // Immunological reviews. 2003. № 191. P. 107–118. DOI: 10.1034/j.1600-065X.2003.00015.x.
24. Lyn-deficient mice develop severe, persistent asthma: Lyn is a critical negative regulator of Th2 immunity / Beavitt S.J., Harder K.W., Kemp J.M., Jones J., Quilici C., Casagrande F., Lam E., Turner D., Brennan S., Sly P.D. et al. // J. Immunol. 2005. № 175. P. 1867–1875.
25. Müller G., Wied S., Frick W. Cross talk of pp125(FAK) and pp59(Lyn) non-receptor tyrosine kinases to insulin-mimetic signaling in adipocytes // Molecular and Cellular Biology. 2000. V.20, №13. P. 4708–4723. DOI:10.1128/mcb.20.13.4708-4723.2000.
26. Charles N., Watford W.T., Ramos H.L., Hellman L., Oettgen H.C., Gomez G., Ryan J.J., O'Shea J.J., Rivera J. Lyn Kinase Controls Basophil GATA-3 Transcription Factor Expression and Induction of Th2 Cell Differentiation // Immunity. 2009. V.30, №4. P. 533–543.
27. Brauer P.M., Tyner A.L. RAKing in AKT: a tumor suppressor function for the intracellular tyrosine kinase FRK // Cell Cycle. 2009. V. 8, №17. P. 2728–2732.
28. Serfas M.S., Tyner A.L. Brk, Srm, Frk, and Src42A form a distinct family of intracellular Src-like tyrosine kinases // Oncol. Res. 2003. V.13, №6-10. P. 409–419.
29. Shi Q., Song X., Wanq J., Gu J., Zhanq W., Hu J., Zhou X., Yu R. FRK inhibits migration and invasion of human glioma cells by promoting N-cadherin/ β -catenin complex formation // V J Mol Neurosci. 2015. V. 55, №1. P. 32–41. DOI: 10.1007/s12031-014-0355-y.

References

1. Khadartsev AA, Morozov VN, Hrupachev AG. Depressija antistressovyh mehanizmov kak osnova razvitiya patologicheskogo processa [Depression is anti-stress mechanisms as a basis for the development of the pathological process]. Fundamental'nye issledovaniya. 2012;4-2:371-75. Russian.
2. Khadartsev AA, Es'kov VM, Khadartsev VA, Ivanov DV. Kletochnye tehnologii s pozicij sinergetiki [Cellular technology from the standpoint of synergy]. Vestnik novyh medicinskih tehnologij. 2009;4:7-9. Russian.
3. Fudin NA, Kidalov VN, Naumova JM, Valentinov BG, Khadartsev AA. Sanogenez s kletochnyh pozicij [Sanogenesis with cell position]. Vestnik novykh meditsinskih tehnologiy (Elektronnyy zhurnal). 2015 [cited 2015 Nov 30];4:[about 4 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-4/5316.pdf>. DOI: 10.12737/17081.
4. Sistemnye podhody v biologii i medicine (sistemnyj analiz, upravlenie i obrabotka informacii) [System approach in biology and medicine (system analysis, management and processing of information)]. Pod red. Khadartseva AA, Es'kova VM, Jashina AA, Kozyreva KM. Tula: OOO RIF «INFRA»; 2008. Russian.
5. Nikitin EA. Peredacha signala cherez B-kletochnyj receptor: mehanizmy i ingibitory [Signal transmission through the B-cell receptor: mechanisms and inhibitors]. Klinicheskaja onkogematologija. 2014;3:251-63. Russian.
6. Kirichuk VF, Andronov EV, Tupikin VD. Teragercovoje izluchenie na chastote 400 GGc oksida azota i agregacionnaja aktivnost' trombocitov bol'nyh nestabil'noj stenokardiej [Terahertz radiation at a frequency of 400 GHz, nitric oxide and platelet aggregation in patients with unstable angina]. Biomedicinskaja radiojelektro-nika. 2006;5-6:1-5. Russian.

7. Brill' GE, Petrosjan VI, Sinicyan NI. Podderzhanie struktury vodnogo matriksa – vazhnejshij mehanizm gomeostateskoj reguljicii v zhivyh sistemah (konceptual'naja model' i ee bazovoe jeksperimental'noe obosnovanie) [Maintaining the aqueous matrix structure - the most important mechanism of homeostatic regulation in living systems (conceptual model and its basic experimental study)]. *Biomedicinskaja radiojelekttronika*. 2000;2:29-31. Russian.
8. Khadartseva KA, Beljaeva EA, Borisova ON, Atlas EE. Vozmozhnosti vneshnego upravlenija fiziologicheskimi i patologicheskimi processami v organizme cheloveka (kratkij obzor literatury) [Features external control physiological and pathological processes in the human body (brief review)]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy (Elektronnyy zhurnal)*. 2015 [cited 2015 Sep 28];3:[about 4 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E20153/5244.pdf>. DOI: 10.12737/13371.
9. Petrosyan VI. Resonance RF Emission from Water. *Technical Physics Letters*. 2005;31(12):1007-8.
10. Terekhov IV, Petrosjan VI, Djagilev BL. Molekuljarnye mehanizmy immunoreabilitacii pri ispol'zovanii nizkointensivnogo SVCh-izlucheniya [Molecular mechanisms immunorehabilitation using low-intensity microwave radiation]. *Bjulleten' medicinskih internet-konferencij*. 2011;1(5):34-7. Russian.
11. Vlaskin SV, Terekhov IV, Petrosjan VI. Sposob terapevticheskogo vozdejstvija na biologicheskie ob'ekty jelektromagnitnymi volnami i ustrojstvo dlja ego osushhestvlenija [A method of therapeutic effect on biological objects with electromagnetic waves and a device for its implementation]. Russian Federation patent RU 2445134. 2006. Russian.
12. Terekhov IV, Soloduhin KA, Nikiforov VS. Osobennosti biologicheskogo jeffekta nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya v uslovijah antigennoj stimuljicii mononuklearov cel'noj krovi [Features of the biological effect of low intensity microwave irradiation under antigenic stimulation of whole blood mononuclear cells]. *Fizioterapevt*. 2013; 1:26-32. Russian.
13. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Funkcional'noe sostojanie kletok cel'noj krovi pri vnebol'nichnoj pnevmonii i ego korrekciya SVCh-izlucheniem [Functional state of whole blood cells with community-acquired pneumonia and microwave radiation correction]. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014;10(4):737-41. Russian.
14. Terekhov IV, Soloduhin KA, Nikiforov VS. Vlijanie nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya na vnutrikletocnyye processy v mononuklearah pri pnevmonii [Effect of low-intensity microwave radiation on intracellular processes in mononuclear pneumonia]. *Medicinskaja immunologija*. 2012;14(6):541-44. Russian.
15. Bondar' SS, Logatkina AV, Terekhov IV. Zavisimost' sodержaniya otdel'nyh molekul v agranulocitah cel'noj krovi pri ishemičeskoj bolezni serdca ot urovnja fosforilirovaniya proteinkinazy r38 na fone nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya [The dependence of the content of individual molecules in agranulocytes whole blood in ischemic heart disease on the level of phosphorylation of protein kinase p38 on a background of low intensity microwave radiation]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy (Elektronnyy zhurnal)*. 2016 [cited 2016 Feb 10];4:[about 4 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-1/2-6.pdf>. DOI: 10.12737/18561.
16. Gudckova TN, Zhukova GV, Garkavi LH. Morfofunkcional'nye aspekty protivopuholevogo jeffekta nizkointensivnogo mikrovolnovogo rezonansnogo izlucheniya v jeksperimente [Morphological and functional aspects of the antitumor effect of low intensity microwave radiation in resonance experiment]. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2010;150(11):595-600. Russian.
17. Terekhov IV, Soloduhin KA, Ickovich VO. Osobennosti biologicheskogo dejstvija nizkointensivnogo SVCh-izlucheniya na produkciju citokinov kletkami cel'noj krovi pri vnebol'nichnoj pnevmonii [Features of the biological effect of low intensity microwave radiation on cytokine production of whole blood cells with community-acquired pneumonia]. *Citokiny i vospalenie*. 2012;11(4):67-72. Russian.
18. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Produkcija citokinov kletkami cel'noj krovi rekonvalescentov vnebol'nichnoj pnevmonii pod vlijaniem nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya [Cytokine production by whole blood cells convalescents CAP under the influence of low-intensity microwave radiation]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy (Elektronnyy zhurnal)*. 2014 [cited 2014 Jun 30];1:[about 4 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf>. DOI: 10.12737/5025.
19. Terekhov IV, Bondar' SS. Osobennosti biologicheskogo dejstvija nizkointensivnogo SVCh-izlucheniya na sostojanie protivovirusnoj zashhity kletok cel'noj krovi pri vnebol'nichnoj pnevmonii i u zdorovyh lic [Features of the biological effect of low intensity microwave radiation on the state of the antiviral defense of whole blood cells with community-acquired pneumonia in healthy individuals]. *Vestnik novykh medicinskih tekhnologij*. 2015;22(2):55-60. Russian.
20. Terekhov IV, Soloduhin KA, Nikiforov VS. Issledovanie vozmozhnosti ispol'zovanija neteplovogo SVCh-izlucheniya v reabilitacionnom periode u bol'nyh vnebol'nichnoj pnevmoniej [Study the possibility of using non-thermal microwave radiation in the rehabilitation period in patients with community-acquired pneumonia]. *Fizioterapevt*. 2011;4: 12-7. Russian.
21. Logatkina AV, Bondar' SS, Terekhov IV, Sobchenko AA. Metabolicheskie jeffekty nizkointensiv-

noj decimetrovoj fizioterapii pri arterial'noj gipertonii [Metabolic effects of low-intensity UHF physical therapy for hypertension]. Vestnik novyh medicinskih tehnologij. 2015;22(2):71-7. Russian.

22. Khromushin VA, Khadartsev AA, Buchel' VF, Bondar' SS. Algoritmy i analiz meditsinskih dannykh [Algorithms and analysis of medical data]. Tula; 2010. Russian.

23. Zamoyska R, Basson A, Filby A, Legname G, Lovatt M, Seddon B. The influence of the src-family kinases, Lck and Fyn, on T cell differentiation, survival and activation. Immunological reviews. 2003; 191:107–18. DOI: 10.1034/j.1600-065X.2003.00015.x.

24. Beavitt SJ, Harder KW, Kemp JM, Jones J, Quilici C, Casagrande F, Lam E, Turner D, Brennan S, Sly PD. et al. Lyn-deficient mice develop severe, persistent asthma: Lyn is a critical negative regulator of Th2 immunity J. Immunol. 2005;175:1867-75.

25. Müller G, Wied S, Frick W. Cross talk of pp125(FAK) and pp59(Lyn) non-receptor tyrosine kinases to insulin-mimetic signaling in adipocytes. Molecular and Cellular Biology. 2000;20(13):4708-23. DOI:10.1128/mcb.20.13.4708-4723.2000.

26. Charles N, Watford WT, Ramos HL, Hellman L, Oettgen HC, Gomez G, Ryan JJ, O'Shea JJ, Rivera J. Lyn Kinase Controls Basophil GATA-3 Transcription Factor Expression and Induction of Th2 Cell Differentiation. Immunity. 2009;30(4):533-43.

27. Brauer PM, Tyner AL. RAKing in AKT: a tumor suppressor function for the intracellular tyrosine kinase FRK // Cell Cycle. 2009;8(17):2728-32.

28. Serfas MS, Tyner A. L. Brk, Srm, Frk, and Src42A form a distinct family of intracellular Src-like tyrosine kinases. Oncol. Res. 2003;13(6-10):409-19.

29. Shi Q, Song X, Wanq J, Gu J, Zhanq W, Hu J, Zhou X, Yu R. FRK inhibits migration and invasion of human glioma cells by promoting N-cadherin/ β -catenin complex formation. V J Mol Neurosci. 2015; 55(1):32-41. DOI: 10.1007/s12031-014-0355-y.

Библиографическая ссылка:

Бондарь С.С., Терехов И.В., Воеводин А.А. Содержание в мононуклеарных клетках цельной крови нерецепторных src-киназ при субклиническом иммунно-воспалительном процессе под влиянием микроволн частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №3. Публикация 2-23. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-3/2-23.pdf> (дата обращения: 17.09.2016). DOI: 12737/21558.