

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 615.849.11.03:616.24-0021.015.44

Терехов И.В., Бондарь С.С., Хадарцев А.А.

ЛАБОРАТОРНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТОВ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ

ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», медицинский институт, 300012, Тула, Российская Федерация

Целью исследования являлось изучение внутриклеточной концентрации факторов противовирусной защиты клеток цельной крови реконвалесцентов ВП и здоровых лиц под влиянием низкоинтенсивного СВЧ-облучения цельной крови *in vitro* частотой 1000 МГц. В соответствии с поставленной целью в лизатах мнуклеаров цельной крови, подвергнутых воздействию низкоинтенсивного СВЧ-излучения частотой 1000 МГц методом ИФА определяли концентрацию митохондриального противовирусного сигнального белка MAVS, RIG-I-подобного рецептора 3-го типа — хеликазы LGP2, RIG-I-подобного рецептора — хеликазы MDA5, трансмембранного протеина 173 (Tmem173), интерферон-регулируемых факторов (IRF) 3, 7 и 8, субъединиц p50 и p65 ядерного фактора транскрипции NF-kB, фосфорилированной по серину в положении 32 формы ингибитора ядерного фактора транскрипции (Ikb-α), а также его общую концентрацию. Кроме того, в клеточном супернатанте оценивали спонтанную продукцию клетками цельной крови ИФН-α/β.

Установлена способность однократного 20-минутного СВЧ-воздействия повышать в фазу реконвалесценции ВП внутриклеточный уровень важнейших регуляторных белков, в первую очередь MDA5. Кроме того, облучение стимулирует повышение внутриклеточного уровня MAVS и Tmem173. В ходе исследования также была выявлена способность облучения повышать фосфорилирование ингибитора ядерного фактора NF-kB и уровень компонентов p50 и p65 NF-kB. Показана способность СВЧ-воздействия оказывать стимулирующее действие в отношении продукции клетками цельной крови ИФН-β. У практически здоровых лиц облучение способствует в большей степени повышению внутриклеточного содержания MAVS в сравнении с уровнем MDA5 и Tmem173. При этом облучение культуры клеток цельной крови стимулирует повышение продукции интерферонов.

Ключевые слова: пневмония; интерфероны; СВЧ-излучение; интерферон-регулируемые факторы; ядерный фактор транскрипции NF-kB.

Для цитирования: Терехов И.В., Бондарь С.С., Хадарцев А.А. Лабораторное определение внутриклеточных факторов противовирусной защиты при внебольничной пневмонии в оценке эффектов низкоинтенсивного СВЧ-излучения. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (6): 380-384. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-6-380-384

Terekhov I.V., Bondar S.S., Khadartsev A.A.

THE LABORATORY DETECTION OF INTRA-CELLULAR FACTORS OF ANTI-VIRAL DEFENSE UNDER COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN EVALUATION OF EFFECTS OF LOW-INTENSITY MICROWAVE RADIATION

The medical institute of the Tulsii state university, 300012 Tula, Russia

The study was carried out to investigate intra-cellular concentration of factors of antiviral defense of cells of whole blood of re-convalescents of community-acquired pneumonia and healthy individuals under effect of low intensity SHF-radiation of whole blood *in vitro* with frequency of 1000 MGz. The technique of enzyme-linked immunosorbent assay was applied for analyzing lysates of mononuclears of whole blood exposed to impact of low intensity SHF-radiation with frequency of 1000 MGz on concentration of mitochondrial antiviral signal protein MAVS, RIG-I-like receptor type III - helicase LGP2, RIG-I-like receptor - helicase MDA5, trans-membrane protein 173 (Tmem 173), interferon-regulated factors (IRF) 3, 7 and 8, sub-units p50 and p65 of nuclear factor of transcription NF-kB, phosphorylated on serine in position 32 of inhibitor of nuclear factor of transcription (Ikb-α) and also its total concentration. Besides, spontaneous production of interferon - α/β by cells of whole blood was evaluated in cellular supernatant.

The capacity of single 20 minutes of SHF-radiation effect to increase intracellular level of important regulative proteins, primarily MDA5, during the phase of convalescence of community-acquired pneumonia was established. Besides, radiation stimulates increasing of intracellular level of MAVS and Tmem173. The capacity of radiation was established to increase phosphorylation of inhibitor of nuclear factor NF-kB and level of components p50 and p65 of NF-kB. The capacity of SHF-radiation effecting production of interferon-β by cells of whole blood is demonstrated. In healthy individuals, radiation contributes into decreasing of intracellular content of MAVS in more degree as compared with levels of MDA5 and Tmem173. At that, radiation of culture of cells of whole blood stimulates increasing of production of interferons.

Key words: pneumonia; interferon; SHF-radiation; interferon-regulated factors; nuclear factor of transcription of NF-kB.

For citation: Terekhov I.V., Bondar S.S., Khadartsev A.A. The laboratory detection of intra-cellular factors of anti-viral defense under community-acquired pneumonia in evaluation of effects of low-intensity microwave radiation. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (6): 380-384. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-6-380-384

For correspondence: Khadartsev A.A., doctor of medical sciences, professor, director of medical institute e-mail: ahadar@yandex.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support.

Received 02.09.2015
Accepted 15.12.2015

Для корреспонденции: Хадарцев Александр Азубечирович, д-р мед. наук, проф., дир. медицинского института ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», e-mail: ahadar@yandex.ru

Формирование клеточного ответа на вирусную инфекцию в значительной степени определяется состоянием внутриклеточных молекулярных систем, включая факторы транскрипции, цитоплазматические рецепторы, связывающие чужеродный генетический материал, противовирусные белки, тормозящие репликацию, и другие факторы [8]. Вместе с тем реакция на чужеродные антигены начинается с распознавания соответствующего паттерна патогенности специализированным цитоплазматическим либо мембранным рецептором. При этом в обеспечении распознавания чужеродных агентов большую роль играют толл-подобные и RIG-I-подобные рецепторы, обеспечивающие распознавание антигенов и активацию соответствующих защитных программ, направленных на элиминацию разнообразных патогенов как бактериального, так и вирусного происхождения, включая РНК-содержащие вирусы [9, 10]. Особое значение для выживаемости и дальнейшей судьбы клетки при ее контакте с вирусом имеет состояние противовирусных защитных механизмов. Нарушение функциональной активности на любом уровне реализации противовирусной стратегии ассоциируется с уязвимостью клетки к вирусной инвазии, создает условия для ее злокачественной трансформации. При этом повышение резистентности организма к вирусам требует повышения эффективности работы в первую очередь внутриклеточных молекулярных механизмов, обеспечивающих защиту от проникшей в клетку чужеродной генетической информации, активации генов интерферонов и антимикробных пептидов. Оно достигается с помощью транскрипционных факторов — таких как AP-1 и NF- κ B [10]. В настоящее время для повышения резистентности организма к вирусной инфекции широко используются иммуномодуляторы, в качестве которых выступают химические соединения, способные путем раздражения иммунной системы усилить выработку иммунокомпетентными клетками защитных молекул — в частности, интерферонов.

Альтернативным путем повышения устойчивости организма к инфекции является повышение эффективности работы стресс-лимитирующих механизмов, которая определяется состоянием внутриклеточных сигнальных путей, обеспечивающих запуск защитных внутриклеточных систем [6, 7]. При этом одним из факторов, способных делать внутриклеточные молекулярные процессы более эффективными, является низкоинтенсивное микроволновое излучение. Влияние на клеточные культуры микроволнового излучения частотой 1000 МГц при мощности воздействия 10—100 нВт/см² сопровождается иммунорегуляторным эффектом, проявляющимся в нормализации производства клетками цитокинов, усилении экспрессии ими толл-подобных рецепторов и повышении активности фагоцитоза [1, 2]. Кроме того, воздействие данного физиотерапевтического фактора приводит к увеличению активности ядерного фактора транскрипции NF- κ B, а также к повышению продукции иммунокомпетентными клетками эндогенных антимикробных факторов, в частности кателицидина, липополисахарид-связывающего белка, окиси азота и других защитных факторов [1, 3, 4].

Цель исследования — изучение биологических эффектов облучения культуры клеток цельной крови реконвалесцентов внебольничной бактериальной пневмонии и практически здоровых лиц низкоинтенсивным микроволновым излучением частотой 1000 МГц в отношении внутриклеточного содержания в мононуклеарах цельной крови отдельных факторов противовирусной резистентности.

Материал и методы. В ходе работы были обследованы 30 пациентов мужского пола с внебольничной бактериальной пневмонией (ВП) нетяжелого течения в стадии реконвалесценции (15—17-е сутки заболевания) в возрасте 20—35 лет (средний возраст $22,5 \pm 2,5$ года) — группа «ВП». Контроль-

ную группу — «К» — составили 15 практически здоровых молодых человека в возрасте 20—33 лет (средний возраст $23,1 \pm 2$ года) из числа доноров крови.

Материалом исследования служила венозная кровь, забирываемая в утренние часы (с 7-00 до 7-30) из локтевой вены. Путем разделения пробы крови на две части в каждой группе формировали две подгруппы. 1-я подгруппа содержала необлученные образцы крови, 2-я — образцы, подвергнутые СВЧ-облучению при плотности потока мощности излучения (ППМ) 0,1 мкВт/см².

Исследование эффектов СВЧ-облучения проводили с использованием наборов «Цитокин-Стимул-Бест» (ЗАО «Вектор Бест», г. Новосибирск). Для проведения исследования 1 мл цельной крови помещали во флакон, содержащий 4 мл среды DMEM. Подготовленные таким образом образцы облучали в течение 45 мин аппаратом микроволновой терапии «Акватор-02» (ООО «Телемак», г. Саратов) при частоте $1000 \pm 0,01$ МГц. После облучения флаконы помещались на 24 ч в термостат (37 °С) с последующим выделением мононуклеаров на градиенте фиколл-верографин ($\rho = 1,077$) и отбором клеточного супернатанта на исследование. Оценка концентрации изучаемых маркеров проводилась методом иммуноферментного анализа (ИФА).

В лизате мононуклеаров методом ИФА определяли концентрацию митохондриального противовирусного сигнального белка MAVS, RIG-I-подобного рецептора 3-го типа — хеликазы LGP2, RIG-I-подобного рецептора — хеликазы MDA5, трансмембранного протеина 173 (Tmem173), интерферон-регулирующих факторов (IRF) 3, 7 и 8, субъединиц p50 и p65 ядерного фактора транскрипции NF- κ B, фосфорилированной по серину в положении 32 формы ингибитора ядерного фактора транскрипции (I κ B α [pS32]), общей концентрации (I κ B α [оф]) данного фактора. Концентрацию интерферонов (ИФН) α и β определяли в клеточном супернатанте.

При проведении исследований использовались наборы реактивов производства компании CUSABIO BIOTECH (Китай). Анализ проводили на анализаторе Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия) в соответствии с инструкцией производителя наборов реактивов.

Статистическую обработку проводили в программе Statistica 7. Статистическую значимость (p) межгрупповых различий оценивали с помощью критерия Колмогорова—Смирнова.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки содержания в мононуклеарах исследованных факторов, а также показатели концентрации интерферонов в клеточном супернатанте здоровых лиц представлены в табл. 1.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что в агранулоцитах практически здоровых лиц внутриклеточная концентрация хеликазы IFN1 превышает уровень RIG-I-подобного рецептора 3-го типа в среднем в 587 раз. Уровень IRF7 превышал концентрацию IRF3 в 12,1 ($p = 0,0001$), а IRF8 — в 22,4 раза ($p < 0,0001$). Соотношение субъединиц p50/p65 фактора транскрипции NF- κ B составило 1,28 при доле фосфорформы I κ B α 31,6%. При этом концентрация I κ B α в мононуклеарах практически здоровых лиц в 80 раз превышает уровень p65 и в 64 раза — p50. Полученные результаты указывают на преобладание в клеточных супернатантах практически здоровых лиц концентрации ИФН- α , превышающей в 4,9 раза уровень ИФН- β .

Результаты оценки концентрации изучаемых факторов в мононуклеарах реконвалесцентов ВП представлены в табл. 2.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что в агранулоцитах реконвалесцентов ВП внутриклеточная концентрация RIG-I-подобного рецептора — хеликазы IFN1 — превышает уровень RIG-I-подобного рецептора

Таблица 1

Концентрация исследованных факторов в группе контроля (пг/мл)

Фактор	Естественное содержание				СВЧ-облучение			
	х	Q25	Me	Q75	х	Q25	Me	Q75
MAVS	0,518	0,34	0,445	0,695	0,613	0,45	0,565	0,775
LGP2	0,079	0,062	0,074	0,097	0,086	0,069	0,083	0,104
Tmem173	0,908	0,84	0,86	0,975	0,99	0,945	0,96	1,035
MDA5	46,385	45,22	46,22	47,55	46,463	45,3	46,305	47,625
p50	0,7383	0,6625	0,733	0,814	0,744	0,669	0,739	0,819
p65	0,577	0,475	0,582	0,679	0,5828	0,4805	0,5875	0,685
IkBa [pS32]	14,93	14,37	14,685	15,49	15,005	14,45	14,735	15,56
IkBa [оф]	47,262	44,585	45,965	49,94	47,345	44,685	46,035	50,005
IRF3	1,59	1,43	1,605	1,75	1,64	1,48	1,65	1,8
IRF7	19,24	15,17	17,86	23,31	19,28	15,19	17,9	23,37
IRF8	0,86	0,715	0,8	1,005	0,91	0,765	0,84	1,055
ИФН-α	11,548	10,03	11,4	13,065	11,64	10,13	11,49	13,14
ИФН-β	2,34	1,93	2,445	2,75	2,41	1,995	2,515	2,82

3-го типа в среднем в 524 раза, что несколько меньше соответствующего соотношения в группе контроля. Уровень IRF7 в данной группе обследованных больных превышал соответствующие концентрации IRF3 и IRF8 в 12,5 и 29,6 раза. Соотношение концентраций субъединиц p50/p65 фактора транскрипции NF-κB составило у обследованных больных 0,96. Анализ показал, что доля фосфорилированной формы IkBa в общей концентрации данного фактора у реконвалесцентов ВП составила 30%, а ее уровень в 87 раз превышал концентрацию p65 и в 91 раз — концентрацию p50. Проведенный анализ также показал, что в клеточном супернатанте больных ВП преобладает ИФН-α, концентрация которого в 10 раз превышала уровень ИФН-β.

Результаты оценки статистической значимости межгрупповых различий концентраций исследованных факторов представлены в табл. 3.

Анализ результатов исследования свидетельствует о том, что у реконвалесцентов ВП в сравнении с группой кон-

троля имеет место повышение продукции ИФН-α, сочетающееся со снижением продукции ИФН-β. На этом фоне отмечалось снижение внутриклеточного уровня транскрипционных факторов IRF, в особенности IRF8, уровень которого у реконвалесцентов был статистически значимо снижен — на 25,9% ($p < 0,05$). Внутриклеточное содержание IRF7 и IRF3 у реконвалесцентов также было статистически значимо снижено в сравнении с группой контроля — на 2,7% ($p < 0,05$) и 6,3% ($p < 0,05$) соответственно.

На этом фоне внутриклеточный уровень MAVS в группе ВП характеризовался статистически значимым повышением на 21,2% ($p < 0,05$), а концентрация его регулятора — белка Tmem173 — была статистически значимо снижена на 13,3% ($p < 0,05$). На этом фоне уровень цитоплазматических РНК-хеликаз — LGP2 и MDA5 — у реконвалесцентов ВП превышал контрольные значения на 12,5% ($p > 0,1$) и 0,6% ($p > 0,1$) соответственно.

Кроме того, у обследованных больных было выявлено повышенное на 12,8% ($p > 0,1$) внутриклеточное содержание субъединицы p65 и практически равное снижению на 12,1% ($p > 0,1$) концентрации субъединицы NF-κBp50, носящее характер тенденции. Результаты исследования также выявили статистически значимое снижение в среднем на 6,7% ($p < 0,05$) концентрации фосфорилированной по серину-32 формы IkBa и снижение на 2,1% ($p > 0,1$) общей формы IkBa.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о снижении у реконвалесцентов ВП внутриклеточного уровня интерферон-регулирующие факторов, а также концентрации IkBa [pS32] и Tmem173, сопровождающемся уменьшением содержания в клеточном супернатанте ИФН-β. Вместе с тем у лиц, перенесших ВП, отмечалось увеличение внутриклеточного содержания MAVS и продукции ИФН-α.

Результаты анализа биологических эффектов однократного СВЧ-облучения клеточных культур представлены в табл. 4.

Анализ результатов облучения исследуемой клеточной культуры указывает на восприимчивость внутриклеточных молекулярных систем к микроволновому излучению. При этом биологические эффекты СВЧ-облучения находятся в определенной зависимости от функционального состояния клеток цельной крови: в частности, у больных и здоровых лиц величина эффекта облучения различается.

Анализ эффектов облучения показал, что облучение культуры цельной крови здоровых лиц сопровождается повышением внутриклеточного уровня MAVS в наибольшей степени. В два раза меньший по величине эффект отмечен в отношении LGP2 и Tmem173. Кроме этого, проведенный анализ показал, что из трех исследованных интерферон-регулируемых факторов однократное СВЧ-облучение в большей степени способствовало повышению уровня IRF8 и IRF3; очевидно, это является стимулирующим фактором для экспрессии генов интерферонов I типа. Выявленная особенность биологического влияния излучения проявляется его стимулирующим действием в отношении продукции ИФН-β

Таблица 2

Концентрация исследованных факторов у реконвалесцентов ВП (пг/мл)

Фактор	Естественное содержание				СВЧ-облучение			
	х	Q25	Me	Q75	х	Q25	Me	Q75
MAVS	0,635	0,49	0,65	0,79	0,694	0,55	0,7	0,86
LGP2	0,089	0,069	0,086	0,115	0,105	0,073	0,091	0,145
Tmem173	0,784	0,59	0,785	0,835	0,835	0,63	0,825	0,91
MDA5	46,68	40,2	44,97	47,45	46,73	40,25	45,03	47,53
p50	0,51	0,347	0,56	0,649	0,516	0,35	0,566	0,655
p65	0,531	0,436	0,512	0,644	0,536	0,441	0,517	0,649
IkBa [pS32]	13,89	13,02	13,68	14,46	14,0	13,11	13,76	14,53
IkBa [оф]	46,3	44,13	46,64	47,8	46,37	44,15	46,71	47,9
IRF3	1,495	1,305	1,52	1,615	1,539	1,34	1,565	1,675
IRF7	18,66	10,99	14,38	20,05	18,71	11,05	14,44	20,09
IRF8	0,63	0,405	0,625	0,77	0,676	0,465	0,675	0,79
ИФН-α	17,96	15,49	17,155	19,62	18,02	15,51	17,23	19,67
ИФН-β	1,8	1,72	1,83	1,87	1,87	1,78	1,9	1,96

Таблица 3

Межгрупповые различия концентрации исследованных факторов

Фактор	Мах. отр. разл.	Мах. пол. разл.	Уровень значимости выявленных различий, <i>p</i>	Группы				Δ, %
				ВП		К		
				х	ско	х	ско	
IRF3	-0,38	0,0	<i>p</i> < 0,05	1,49	0,201	1,59	0,197	-6,3
IRF7	-0,5	0,13	<i>p</i> < 0,05	18,7	1,25	19,2	0,58	-2,6
IRF8	-0,5	0,0	<i>p</i> < 0,05	0,63	0,023	0,85	0,02	-25,9
MAVS	-0,25	0,5	<i>p</i> < 0,05	0,63	0,02	0,52	0,023	21,2
LGP2	-0,04	0,5	<i>p</i> > 0,1	0,09	0,02	0,08	0,025	12,5
Tmem173	-0,75	0,13	<i>p</i> < 0,001	0,78	0,025	0,9	0,097	-13,3
MDA5	-0,5	0,25	<i>p</i> > 0,1	46,7	9,32	46,4	1,36	0,6
ИФН-α	0,0	1,0	<i>p</i> < 0,001	18,0	3,66	11,5	1,74	56,5
ИФН-β	-0,75	0,25	<i>p</i> < 0,005	1,8	0,113	2,33	0,559	-22,7
NF-κВ p50	-0,38	0,25	<i>p</i> > 0,1	0,51	0,181	0,58	0,121	-12,1
NF-κВ p65	-0,25	0,5	<i>p</i> > 0,1	0,53	0,139	0,47	0,037	12,8
IkBα [pS32]	-0,63	0,13	<i>p</i> < 0,05	13,9	1,11	14,9	0,772	-6,7
IkBα [оф]	-0,25	0,13	<i>p</i> > 0,1	46,3	2,31	47,3	3,567	-2,1

Примечание: Δ — различие концентрации исследованных факторов между культурами реконвалесцентов и практически здоровых лиц (%); Мах. отр. разл. — максимальное отрицательное различие исследуемого фактора в группе реконвалесцентов и контрольной группе; Мах. пол. разл. — максимальное положительное различие исследуемого показателя в группе реконвалесцентов и контрольной группе.

и ИФН-α. Величины наблюдаемых эффектов при продукции соответствующих интерферонов соотносятся как 3,8:1 в пользу ИФН-β. Таким образом, однократное СВЧ-облучение оказывает выраженное модифицирующее действие на неспецифическую реактивность клеток врожденного иммунного ответа, для которых состояние системы IRF является критичным, определяющим дифференцировку и функциональную активность дендритных клеток и макрофагов.

Анализ результатов исследования также свидетельствует о модификации под влиянием облучения состояния NF-κВ

Таблица 4

Различия концентраций исследованных факторов в облученных культурах в сравнении с необлученными образцами (О)

Фактор	Группы							
	ВП				К			
	х	Q25	Me	Q75	х	Q25	Me	Q75
MAVS	92,5	122,4	76,9	88,6	183,6	323,5	269,7	115,1
LGP2	184,0	58,0	58,5	260,9	91,8	122,0	114,9	72,5
Tmem173	65,4	67,8	51,0	89,8	90,9	125,0	116,3	61,5
MDA5	1,3	1,2	1,3	1,7	1,7	1,8	1,8	1,6
IRF3	29,3	26,8	29,6	37,2	31,4	35,0	28,0	28,6
IRF7	2,8	5,9	4,2	2,0	2,1	1,6	2,2	2,4
IRF8	73,4	148,1	80,0	26,0	58,1	69,9	50,0	49,8
ИФН-α	3,1	1,7	4,4	2,6	7,5	10,0	7,5	5,7
ИФН-β	38,1	32,0	38,3	45,5	28,8	33,7	28,6	25,5
p50	11,0	10,1	10,7	9,2	7,7	9,8	8,2	6,1
p65	9,9	12,6	9,8	7,8	10,1	11,6	9,5	8,8
IkB-α [pS32]	5,7	6,5	6,2	5,2	5,0	5,6	3,4	4,5
IkB-α [оф]	1,48	0,45	1,5	2,09	1,76	2,24	1,52	1,3

сигнального пути. При этом влияние однократного СВЧ-облучения на внутриклеточное содержание в мононуклеарах практически здоровых лиц компонентов транскрипционного фактора NF-κВ в целом слабее, чем на IRF-факторы. Вместе с тем проведенный анализ показал более высокую чувствительность к облучению внутриклеточных концентраций компонентов p50 и p65 транскрипционного фактора NF-κВ в сравнении с его ингибитором — IkBα.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что СВЧ-облучение цельной крови реконвалесцентов ВП, так же как и образцов группы контроля, в максимальной степени стимулирует повышение внутриклеточной концентрации LGP2. При этом влияние исследованного физиотерапевтического фактора на уровень MAVS в два раза слабее в сравнении с LGP2. В отличие от группы контроля однократное СВЧ-облучение цельной крови реконвалесцентов ВП оказывает более выраженное воздействие на внутриклеточное содержание IRF8, регулирующего дифференциацию дендритных клеток. А влияние облучения на концентрацию регулятора активности MAVS — белка Tmem173 — несколько слабее, чем на уровень IRF8.

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что однократное воздействие низкоинтенсивным СВЧ-излучением на внутриклеточные процессы сопровождается изменениями внутриклеточной концентрации ключевых регуляторов клеточного ответа на вирусную инфекцию, заключающимися в повышении внутриклеточной концентрации ключевых факторов распознавания вирусной ДНК, а также факторов, определяющих эффективность регуляции противовирусного иммунного ответа. При этом изменение концентрации регуляторных молекул — хеликаз, выполняющих функцию распознавания компонентов вирусного генома, — приводит к повышению продукции клетками противовирусных белков — интерферонов, что указывает на системный характер происходящих в облученной клеточной культуре трансформаций. Указанные проявления низкоинтенсивного облучения клеточных культур, очевидно, носят адаптивный характер и способствуют повышению резистентности клеток к потенциальной вирусной инвазии. Воздействие облучения на ключевой ядерный фактор транскрипции — NF-κВ, обеспечивающий экспрессию множества защитных генов, включая гены эндогенных антимикробных пептидов, — сопровождается повышением концентрации хеликаз. При этом облучение культуры клеток реконвалесцентов обеспечивает приближение внутриклеточного уровня внутриклеточных рецепторов в облученных культурах реконвалесцентов ВП к уровню контрольной группы, что свидетельствует об иммуномодулирующем действии данного физиотерапевтического фактора.

Принимая во внимание то, что противовирусная защита клетки в значительной степени определяется эффективностью функционирования ее рецепторных систем, в том числе — системы толл-подобных рецепторов и цитоплазматических RIG-I подобных хеликаз, а также соответствующих сигнальных путей, результаты проведенного исследования указывают на протективную роль низкоинтенсивного СВЧ-излучения в отношении вирусов, содержащих, в частности, одноцепочечные и двуцепочечные 5'-трифосфорилированные

РНК. При этом очевидно, что высокая чувствительность внутриклеточного уровня хеликазы LGP2 к низкоинтенсивному воздействию СВЧ-излучения определяет иммуномодулирующий эффект облучения. В связи с тем, что цитоплазматическая хеликаза LGP2 не имеет в своей молекулярной структуре CARD-домена, данный рецептор не способен активировать сигнальный путь противовирусной защиты. При этом LGP2 обеспечивает регуляцию активности других хеликаз, включая MDA5, которые, связываясь с соответствующим молекулярным паттерном, активируют ключевой фактор анти-вирусного ответа — белок MAVS, который запускает анти-вирусный ответ, активируя продукцию интерферонов I типа [14]. Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты указывают на саногенетический характер биологического действия низкоинтенсивного СВЧ-излучения и его протективную роль в межклеточных взаимодействиях. Результаты проведенного исследования также свидетельствуют о необходимости дальнейшего исследования биологических эффектов низкоинтенсивного СВЧ-излучения с резонансными молекулами воды частотами с целью разработки методик применения данного фактора как с профилактической, так и с лечебной целью.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 9—10 см. REFERENCES)

1. Терехов И.В., Солодухин К.А., Никифоров В.С., Громов М.С., Парфенюк В.К., Бондарь С.С. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии. *Медицинская иммунология*. 2012; 14 (6): 541—4.
2. 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): 12—7.
3. 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; 11 (4): 67—72.
4. 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): 737—41.
5. 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). Available at: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf>.
6. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Карасева Ю.В., Хадарцева К.А., Фудин Н.А. Патогизиология стресса как баланс стрессогенных

и антистрессовых механизмов. *Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии*. 2012; (7): 16—21.

7. Антонишкис Ю.А., Лобзин Ю.В., Несмеянов А.А., Хадарцев А.А., Еськов В.М. Новые представления о механизме защитной реакции клеток крови на экстремальное воздействие. *Вестник новых медицинских технологий*. 2012; 19 (1): 24—8.
8. Иванов Д.В., Хадарцев А.А. *Клеточные технологии в восстановительной медицине*. Тула: Тульский полиграфист; 2011.

Поступила 02.09.15

REFERENCES

1. Terekhov I.V., Solodukhin K.A., Nikiforov V.S., Gromov M.S., Parfenyuk V.K., Bondar' S.S. Effect of low-intensity microwave radiation on intracellular processes in mononuclear pneumonia. *Meditsinskaya immunologiya*. 2012; 14 (6): 541—4. (in Russian)
2. Terekhov I.V., Solodukhin K.A., Nikiforov V.S. Study the possibility of using the heat of the microwave radiation in the rehabilitation period in patients with community-acquired pneumonia. *Fizioterapevt*. 2011; (4): 12—7. (in Russian)
3. Terekhov I.V., Solodukhin K.A., Itskovich V.O. Features of the biological effect of low intensity microwave radiation on cytokine production of whole blood cells with community-acquired pneumonia. *Tsitokiny i vospalenie*. 2012; 11 (4): 67—72. (in Russian)
4. Terekhov I.V., Khadartsev A.A., Nikiforov V.S., Bondar' S.S. Functional state of whole blood cells with community-acquired pneumonia and microwave radiation correction. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014; 10 (4): 737—41. (in Russian)
5. Terekhov I.V., Khadartsev A.A., Nikiforov V.S., Bondar' S.S. Cytokine production by whole blood cells of the reconvalescents of community-acquired pneumonia under the influence of low-intensity microwave irradiation. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnyy zhurnal*. 2014; (1). Available at: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf>. (in Russian)
6. Khadartsev A.A., Morozov V.N., Karaseva Yu.V., Khadartseva K.A., Fudin N.A. Pathophysiology of stress as the balance of stress and anti-stress mechanisms. *Vestnik nevrologii, psikhatrii i neyrokhirurgii*. 2012; (7): 16—21. (in Russian)
7. Antonishkis Yu.A., Lobzin Yu.V., Nesmeyanov A.A., Khadartsev A.A., Es'kov V.M. New ideas about the mechanism of the protective reaction of the blood cells in the extreme effects. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2012; 19 (1): 24—8. (in Russian)
8. Ivanov D.V., Khadartsev A.A. Cellular Technologies in Regenerative Medicine [Kletochnye tekhnologii v vosstanovitel'noy meditsine]. Tula: Tul'skiy poligrafist; 2011. (in Russian)
9. Satoh T., Kato H., Kumagai Y., Yoneyama M., Sato S., Matsushita K. et al. LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (4): 1512—7.
10. Sheller J.R., Polosukhin V.V., Mitchell D., Cheng D.S., Peebles R.S., Blackwell T.S. Nuclear factor kappa B induction in airway epithelium increases lung inflammation in allergen-challenged mice. *Exp. Lung Res*. 2009; 35 (10): 883—95.

Received 02.09.15