

Действие наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения на процессы регенерации

Князева И.Р.^{1,3}, Медведев М.А.¹, Жаркова Л.П.^{2,3}, Гостюхина А.А.²,
Кутенков О.П.³, Ростов В.В.³, Большаков М.А.^{2,3}

The influence of nanosecond microwave pulses on the regeneration processes

*Knyazeva I.R., Medvedev M.A., Zharkova L.P., Gostyukhina A.A., Kutenkov O.P.,
Rostov V.V., Bolshakov M.A.*

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

³ Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск

© Князева И.Р., Медведев М.А., Жаркова Л.П. и др.

Исследовано влияние импульсно-периодического микроволнового излучения (10 ГГц, длительность импульсов 100 нс, частота повторения 4—19 импульсов в секунду, пиковая плотность потока мощности 40—1 520 Вт/см²) на репаративную регенерацию полнослойной кожной раны у мышей. Исследуемое воздействие может стимулировать заживление ран. Данный эффект зависит от частоты повторения импульсов и величины пиковой плотности потока мощности.

Ключевые слова: наносекундные импульсы, микроволновое излучение, регенерация.

The effects of pulse periodic microwaves (10 GHz, duration of pulse 100 ns, pulse repetition frequency 4—19 pps, peak power density 40—1 520 W/cm²) on the reparative regeneration of full-thickness skin wounds on mice was investigated. This effect depends on the pulse repetition frequency and peak power density.

Key words: nanosecond pulses, microwave radiation, regeneration.

УДК 616-003.93-08:615.849.112-022.532

Введение

К настоящему времени начались исследования биологического действия импульсно-периодического микроволнового излучения (ИПМИ) с длительностью импульсов единицы — десятки наносекунд и большой пиковой мощностью. Облучение биологических объектов ИПМИ может инициировать изменение биохимических показателей клеток крови и гепатоцитов лабораторных животных [2, 9, 11], понижать или повышать пролиферативную активность опухолевых и нормальных клеток [3, 6], индуцировать изменение электропроводности в суспензиях гепатоцитов и их митохондрий, в цельной крови и суспензии эритроцитов [5]. С точки зрения функционирования физиологических систем отмеченные изменения можно расце-

нивать как стимулирующее или ингибирующее влияние ИПМИ.

В последнее время обозначился определенный интерес к ранозаживляющему действию электромагнитных факторов, в частности импульсного радиочастотного излучения [8, 11], немодулированного крайне высокочастотного излучения [7], комбинации его с видимым и инфракрасным светом [1]. Поэтому представляется интересным и полезным изучить потенциальную возможность стимуляции ранозаживляющего действия ИПМИ с импульсами наносекундной длительности.

Стимуляция заживления ран посредством ИПМИ актуальна как с теоретической точки зрения в плане выяснения молекулярно-клеточных механизмов такого действия, так и с практической стороны. В частности, есть данные о том, что воздействие импульсным радио-

частотным излучением используется в косметической хирургии для ускорения заживления ран и снятия болевых ощущений в постоперационный период [11]. Как считают В. Strauch и соавт., причинами стимуляции заживления ран под влиянием курсового воздействия такого излучения является активация Ca^{2+} -кальмодулинзависимой продукции окиси азота [11]. В свою очередь, эффект ранозаживления с помощью крайне высокочастотного воздействия рядом авторов объясняется понижением интенсивности воспалительных процессов, усилением микроциркуляции в раневом очаге и прилежащих тканях [1, 7]. Как представляется, перечень возможных вариантов действия ИПМИ может быть расширен, в том числе и за счет непосредственного влияния на клетки, участвующие в процессе регенерации ран (лимфоциты, фибробласты, стволовые клетки).

ИПМИ с импульсами наносекундной длительности может оказаться более эффективным по сравнению с неимпульсным режимом, используемым большинством исследователей, поскольку энергия микроволн скомпрессирована в коротком импульсе, а средний поток мощности за сеанс может не оказывать существенной тепловой нагрузки.

Цель настоящей работы — оценить влияние ИПМИ на состояние раневой поверхности в процессе посттравматической регенерации кожи у мышей.

Материал и методы

Исследования проведены на 120 беспородных мышках-самцах массой 25—30 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при постоянных температуре, давлении и влажности, световой режим 12 : 12, вода и пища были доступны в любое время суток. Раневой процесс воспроизводился в межлопаточной области методом иссечения полнослойного кожного лоскута с повреждением подлежащей фасции и мышечного слоя. Исходная площадь повреждения составляла около 100 мм². Все болезненные манипуляции с животными осуществлялись под эфирным наркозом в соответствии с общепринятыми рекомендациями [10]. Мыши содержались в индивидуальных клетках (для исключения дополнительного заживления под влиянием компонентов слюны других животных).

В рамках данной работы было проведено три серии экспериментов. В первой серии животные подвер-

гались тотальному воздействию ИПМИ (облучение всего организма). В последующих сериях воздействие оказывалось лишь на область раневой поверхности. Во всех сериях животные были разделены на опытные группы и группу ложного облучения (ЛО) по шесть особей в каждой.

Источником ИПМИ служил лабораторный генератор на основе магнетрона МИ-505 (10 ГГц, длительность импульсов 100 нс, частота повторения импульсов 4—19 в секунду (имп./с), пиковая плотность потока мощности (пППМ) составляла от 40 до 1 520 Вт/см², значение удельной поглощенной мощности (УПМ) от 0,5 до 2,4 Вт/кг). Процесс ранозаживления оценивался по скорости сокращения площади раневого дефекта, который фиксировался в динамике с помощью фотокамеры Sony-DSC-F717 (Япония) с последующим анализом изображений посредством пакета программ Imageanalyzer. Полученные значения площади ран облученных животных сравнивали с показателями групп ЛО. Кроме того, отмечались сроки отпадения первичного струпа.

Опытная группа сразу после операции, а затем ежедневно в течение 10 сут подвергалась в одно и то же время воздействию 4 000 импульсов ИПМИ. Затем облучение прекращалось, но наблюдение продолжалось до полного заживления ран. Животные облучались в пластиковых контейнерах диаметром 3 см, которые размещались в дальней зоне рупора антенны на расстоянии 20 см. Это обеспечивало условие однородного распределения облучающего поля с ориентацией по электрическому вектору параллельно длине тела животного. Животные группы ЛО подвергались имитирующей процедуре облучения при выключенном генераторе.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики с использованием возможностей программы Statistica 6.0 for Windows. Результаты представляли в виде $X \pm m$, где X — выборочное среднее значение и m — ошибка среднего. Сравнение средних величин изучаемых показателей проводили с помощью непараметрического U -критерия Манна—Уитни. Критический уровень значимости различий p при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Влияние ИПМИ на ранозаживление в условиях облучения всего организма животных. При тотальном облучении животных использовались частоты повторения импульсов 4, 8, 10, 13, 19 за 1 с при пППМ, равной 120 Вт/см^2 . Проведенные эксперименты показали, что воздействие с частотами повторения импульсов 4 и 8 за секунду инициировало на 4—7-е сут после операции ускорение заживления ран (рис. 1). Это проявлялось в сокращении площади раневой поверхности на 20 и 17% соответственно по сравнению с группой ЛО, а также в сокращении сроков отхождения первичного струпа до $(15,0 \pm 0,5)$ сут относительно $(17,0 \pm 0,2)$ сут в группе ЛО.

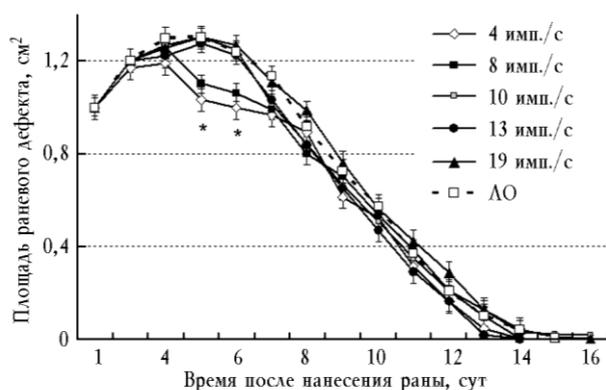


Рис. 1. Динамика изменения нормированной площади раневого дефекта после воздействия ИПМИ (10 ГГц, пППМ 120 Вт/см^2) с частотами повторения 4—19 имп./с в условиях тотального облучения мышей. Здесь и на рис. 2—4: * — различие статистически значимо, $p \leq 0,05$

Поскольку при разных частотах повторения импульсов различными оказываются интенсивность и продолжительность облучения, то наблюдавшийся эффект, возможно, зависел от этих факторов, а не только от частоты повторения импульсов. Кроме того, при тотальном облучении воздействию ИПМИ подвергались различные физиологические системы организма, оказывающие влияние на репаративно-регенеративные процессы. В совокупности это создавало неопределенность в трактовке результатов, для устранения которой были проведены уточняющие эксперименты.

Локальное воздействие ИПМИ на полнослойные кожные раны. В этой серии экспериментов воздействию подвергалась исключительно область раневой поверхности, остальная часть тела была укрыта радиопоглощающим материалом. Раны облучались

4 000 импульсов с пиковой ППМ 120 Вт/см^2 и частотами повторения 4 и 8 имп./с однократно в течение 10 дней после операции. В результате проведенных опытов были выявлены различия скорости сокращения площади раневого дефекта у облученных животных в сравнении с группами ЛО (рис. 2). Стимулирующий эффект действия ИПМИ наблюдался на 4—7-е сут, а к концу эксперимента сокращение раневой поверхности в среднем было одинаково у опытных и ЛО животных. Средние сроки отпадения первичного струпа в опытной группе составили (13 ± 1) сут от момента нанесения раны, а в группе ЛО — (15 ± 1) сут.

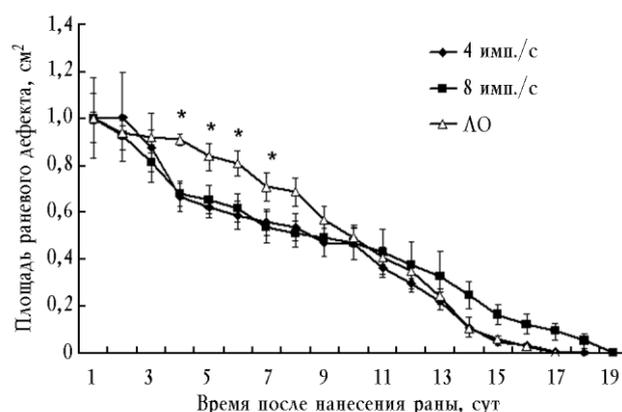


Рис. 2. Динамика изменения нормированной площади раневого дефекта после воздействия ИПМИ (10 ГГц, 4—19 имп./с, пППМ 120 Вт/см^2) в условиях локального облучения области раневой поверхности

Поскольку эффект воздействия ИПМИ с разными частотами повторения импульсов и, соответственно, разными УПМ (0,5 и $1,0 \text{ Вт/кг}$) был одинаковым, но инициировался при одинаковой величине пППМ, можно предположить зависимость величины эффекта от плотности потока мощности. С целью проверки данного предположения была проведена серия экспериментов при фиксированных значениях частоты повторения импульсов и различных значениях интенсивности ИПМИ.

Зависимость заживления ран от пППМ. В этой серии экспериментов животные подвергались воздействию ИПМИ (4 000 импульсов) с одной частотой 8 имп./с, одинаковой продолжительностью воздействия (500 с), но с разными значениями пППМ ($40—1520 \text{ Вт/см}^2$). Из полученных результатов следовало, что использованные режимы воздействия по-разному влияли на процесс ранозаживления. Ускоре-

ние заживления было зафиксировано в период со 2—4-х по 7—9-е сут и немонотонно зависело от пППМ. Наиболее эффективно стимуляция ранозаживления проявилась в ходе воздействия при уровнях 120 и 1 520 Вт/см², в то время как воздействие с другими значениями пППМ оказалось менее эффективными (рис. 3).

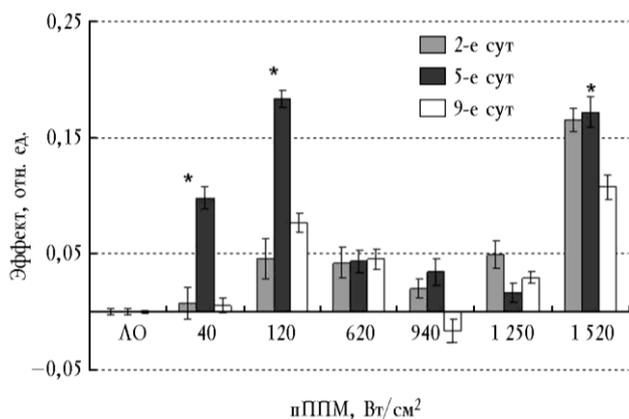


Рис. 3. Стимуляция ранозаживления воздействием ИПМИ с частотой повторения 8 имп./с при уровнях пППМ 40—1 520 Вт/см². Эффект воздействия оценивался как разность скоростей сокращения раневого дефекта в облученной группе относительно ЛО группы

Динамики заживления ран при облучении с пППМ 120 и 1 520 Вт/см² несколько отличались (рис. 4). В частности, эффект действия ИПМИ с пиковым значением ППМ 120 Вт/см² проявлялся на 5—7-е сут, а при воздействии 1 520 Вт/см² стимулирующее влияние было более продолжительным — 2—9 сут. Зависимость эффекта ранозаживления от пППМ оказалась немонотонной и нелинейной. Несмотря на отличие в интенсивностях воздействия более чем на порядок, величины эффекта оказались сопоставимы ((20,0 ± 1,4)% по сравнению с группой ЛО), хотя период стимуляции ранозаживления при более интенсивном облучении был продолжительнее на (4,0 ± 0,2) сут.



Рис. 4. Динамика сокращения площади раневого дефекта после локального облучения ИПМИ с частотой повторения 8 имп./с при уровнях пППМ 120 Вт/см² (сплошная кривая) и 1 520 Вт/см² (штриховая кривая). Эффект воздействия оценивался как разность скоростей сокращения раневого дефекта в облученной группе относительно группы ЛО

Анализ результатов экспериментального исследования свидетельствует о том, что ИПМИ с различными параметрами оказывает преимущественно стимулирующее действие на процессы ранозаживления. Одним из вероятных механизмов стимуляции заживления ран после воздействия ИПМИ представляется улучшение микроциркуляции крови в области раневого дефекта [7], которое может быть объяснено схемой, представленной в работе В. Strauch и соавт. [11]. В соответствии с этой схемой воздействие электромагнитным излучением усиливает кальций-кальмодулиновое связывание, что активирует NO-синтетазу, далее — усиление продукции оксида азота, который обеспечивает расширение капилляров. Помимо этого к стимулирующему эффекту приводит цитопротекторное действие NO при слабой его генерации [4]. Причиной ингибирующего действия электромагнитного излучения может быть торможение вышеприведенной функциональной цепочки усиления продукции NO либо, напротив, ее чрезмерная стимуляция, поскольку известно, что при избытке NO сам способен оказывать цитотоксическое действие [4]. Не исключено влияние ИПМИ и на другие структуры, участвующие в процессах регенерации ткани как непосредственно в области раны, так и на уровне всего организма.

Заключение

Таким образом, в настоящей работе показано, что ИПМИ оказывает стимулирующее влияние на репаративно-регенеративные процессы при заживлении по-

верхностных ран мышей на 2—5-е сут после облучения. Эффект при этом зависит от частоты повторения импульсов и интенсивности ИПМИ. Наибольший эффект оказывает воздействие с частотой повторения 8 имп./с и пиковой ППМ 120 и 1 520 Вт/см². Безусловно, полученные данные дают основание для поиска оптимальных возможностей в использовании ИПМИ с определенными параметрами в качестве физического фактора для лечения повреждений кожных покровов. Кроме того, полученные результаты будут иметь несомненную ценность для совершенствования принципов гигиенического нормирования ИПМИ и для дальнейшего исследования механизмов его биологического действия.

Работа частично поддержана грантом РФФИ 09-02-99014-р_офи и проектом АВЦП № 2.1.1/2777.

Литература

1. Бессонов А.Е., Чемерис Н.К., Ганеев А.Б. и др. Репаративная регенерация тканей под воздействием электромагнитных волн миллиметрового, инфракрасного и части видимого диапазонов, генерируемых терапевтическим аппаратом «Минитаг» НИР НЦИМ «ЛИДО» // Физ.-хим. основы информ. медицины. ИБК РАН. Пушкино, 2000. С. 18.
2. Большаков М.А., Коровин М.С., Гриднева В.И. и др. Оценка некоторых показателей метаболической функции печени крыс после воздействия импульсно-периодического рентгеновского или микроволнового излучений // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. 2005. № 3. С. 70—74.
3. Булдаков М.А., Литвяков Н.В., Астапенко А.Н. и др. Импульсно-периодические СВЧ и рентгеновское излучения: влияние на клетки костного мозга и селезенки // Вестник ТГУ. 2006. № 21. С. 23—24.
4. Ванин А.Ф. Оксид азота в биологии: история, состояние и перспективы исследований // Биохимия. 1998. Т. 63, вып. 7. С. 867—869.
5. Жаркова Л.П., Афанасьев К.В., Большаков М.А. и др. Оценка влияния импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на биологические структуры с помощью измерения импедансных характеристик // Вестник ТГУ. 2008. № 312. С. 180—183.
6. Литвяков Н.В., Ростов В.В., Булдаков М.А. и др. Ингибирование пролиферации опухолевых клеток импульсно-периодическим рентгеновским излучением // Сиб. онколог. журн. 2006. № 1 (17). С. 24—31.
7. Лушников К.В., Ганеев А.Б., Шумилиа Ю.В. и др. Снижение интенсивности клеточного иммунного ответа и неспецифического воспаления при действии электромагнитного излучения крайне высоких частот // Биофизика. 2003. Т. 38, № 5. С. 918—925.
8. Athanasiou A., Karkambounas S., Batistatou A. et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on secondary skin wound healing: an experimental study // Bioelectromagnetics. 2007. V. 28. P. 362—368.
9. Bolshakov M.A., Knyazeva I.R., Rostov V.V. et al. Initiation of free-radical oxidation in albino mice by exposure to pulse periodic microwaves and X-rays // Biophysics. 2005. S. 1. V. 50. P. 104—109.
10. Euroguide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes. FELASA: 2007. 17 p.
11. Strauch B., Herman C., Dabb R. et al. Evidence-based use of pulsed electromagnetic field therapy in clinical plastic surgery // Aesthet. Surg. J. 2009. № 29 (2). P. 135—143.

Поступила в редакцию 10.03.2011 г.

Утверждена к печати 13.05.2011 г.

Сведения об авторах

И.Р. Князева — канд. биол. наук, доцент кафедры нормальной физиологии СибГМУ, научный сотрудник отдела физической электроники ИСЭ СО РАН (г. Томск).

М.А. Медведев — д-р мед. наук, профессор, академик РАМН, зав. кафедрой нормальной физиологии СибГМУ (г. Томск).

Л.П. Жаркова — аспирант кафедры физиологии человека и животных ТГУ, инженер отдела физической электроники ИСЭ СО РАН (г. Томск).

А.А. Гостюхина — студентка 5-го курса биологического института ТГУ (г. Томск).

О.П. Кутенков — ведущий инженер отдела физической электроники ИСЭ СО РАН (г. Томск).

В.В. Ростов — д-р физ.-мат. наук, профессор, зав. отделом физической электроники ИСЭ СО РАН (г. Томск).

М.А. Большаков — д-р биол. наук, профессор кафедры физиологии человека и животных ТГУ, ст. науч. сотрудник отдела физической электроники ИСЭ СО РАН (г. Томск).

Для корреспонденции

Князева Ирекле Рашидовна, тел.: (3822) 52-93-64, 8-913-809-1449, факс (3822) 52-98-61; e-mail: knyazeva_irekle@mail.ru