

Влияние инфракрасного и ультрафиолетового излучения на клетки тканей, иммобилизованных в пористо-проницаемой структуре никелида титана

Гюнтер С.В.¹, Кокорев О.В.¹, Дамбаев Г.Ц.², Вотяков В.Ф.¹

Influence of infrared and the ultraviolet radiation on cells tissue, immobilised in porous-permeable structure of titanium nickelid

Gyunther S.V., Kokorev O.V., Dambayev G.Ts., Votyakov V.F.

¹ НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы СФТИ при НИ ТГУ, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Гюнтер С.В., Кокорев О.В., Дамбаев Г.Ц., Вотяков В.Ф.

Исследованы параметры воздействия электромагнитных излучений ультрафиолетового (320 нм) и инфракрасного (900 нм) спектров на клетки биотканей (селезенки, опухоли и костного мозга мышей C57BL/6). Полученные данные показывают, что воздействие инфракрасным и ультрафиолетовым излучениями позволяет достоверно регулировать жизнеспособность клеточной популяции, в одном случае повышать их численность (при облучении инфракрасным спектром), в другом — уменьшать количество жизнеспособных клеток (при облучении электромагнитными волнами ультрафиолетового диапазона). Показано усиление данных эффектов при иммобилизации клеток на пористом порошке и пористо-проницаемых инкубаторах из никелида титана.

Ключевые слова: биологические ткани, клетки, ультрафиолетовые волны, инфракрасное излучение, спектр, никелид титана.

Parameters of action of electromagnetic radiation UV (320 nanometers) and IR (900 nanometers) spectrums, on cells of biotissue (cells of spleen, tumor and a cells bone marrow mice C57BL/6) are investigated. The research data show that action by infrared and ultraviolet radiances allow to regulate viability of cell population significant. In one case to raise their number (at an irradiating the infrared spectrum), in other to reduced their viability cells (at an irradiating electromagnetic waves of an ultraviolet range). The multiple increase of the present effects is displayed at an immobilisation of cells on an porous powder and porous-permeable incubators from a titanium nickelid.

Key words: tissue, cells, infrared radiation, ultraviolet irradiation, spectrum, titanium nickelid.

УДК 616-018-089.22-089.844:546.82-034.24-19]:615.831.4/.7

Введение

Эукариотические клетки, из которых состоят живые организмы, — это самостоятельное автономное образование, обладающее всеми свойствами живой системы, проявляющееся в росте, реакции на окружающую среду, регенерации и воспроизведении себе подобных. Биологическое поле клеток постоянно изменяется под действием самых различных факторов, осуществляя электромагнитное (ЭМ) взаимодействие как между клетками, так и с пространством биосферы. Каждая клетка имеет уникальный спектр поглощения и выброса энергии, т.е. определенный спектр излучений, который можно на-

звать своеобразным «паспортом клетки». По этим и другим признакам клетку идентифицируют лимфоциты, контролирующие ее «нормальность». Любое отклонение от этих характеристик свидетельствует о снижении клеточного иммунитета и рассматривается как предболезнь [2].

Взаимодействие излучений различных клеток при отсутствии внешнего сигнала происходит за счет резонансных явлений между волнами различной длины. Признаком здоровых физиологических колебаний полей человека является их постоянное изменение, обусловленное жизнедеятельностью тканей. Каждая клетка имеет свои внутриклеточные регуляторы, обладающие

способностью преобразовывать весь огромный спектр частот окружающего пространства. Оболочка клетки — мембрана — играет большую роль, являясь рецептором, настроенным на восприятие одних сигналов и не чувствительным к другим [12].

Необходимо учитывать и то, что биохимические процессы в организме сводятся к химическим реакциям в водных растворах. Вода является наиболее распространенным компонентом организма, в крови ее содержание составляет около 81%, в мышцах — 75%, в костях — около 20%. Вода участвует практически во всех биохимических реакциях, активно реагируя на излучения. В результате резонансных воздействий излучения происходит изменение структурно-фазового состояния воды. Вступая в резонанс с молекулами воды, биоволны активизируют и изменяют их структуру, повышая вероятность «прилипания» молекулы воды к поверхности клетки, стимулируя увеличение водной массы, ускоряя проникновение воды через мембрану в цитоплазму клетки [11]. Это улучшает циркуляцию крови как в артериях, так и, что особенно важно, в капиллярах [6].

В результате воздействия ЭМ поля, если электроны выбиваются из своей орбиты на более высокий уровень, они поглощают энергию, а при возврате на исходную орбиту, напротив, энергия излучается. Отдача энергии происходит посредством излучения кванта энергии [6]. При этом происходит излучение как в области видимого света, так и близкого к ультрафиолетовым (УФ) излучениям и инфракрасным (ИК) лучам с совершенно определенными длинами волн. Интегральное излучение дает спектр определенного цвета. Клетки тканей и в целом вещество тканей, молекулы которых выстроены из множества атомов, обладают взаимосвязанными колебательными движениями. Эти явления усиливаются, когда на ткани действует внешнее излучение, происходит увеличение температуры тканей [1].

При воздействии ИК-излучения на ткани происходит его поглощение кислородом, молекулами воды, ферментами, мембранами клеток и другими структурами. Выделяющееся в результате воздействия излучения тепло увеличивает колебательную энергию биомолекул, изменяет состояние жидких сред и является, по сути, ключевым моментом, от которого зависит выраженность последующих процессов во всей термодинамической системе. Известно, что излучение

с длиной волны от 900 до 1 200 нм непосредственно без участия фотосенсибилизаторов приводит к высокоэнергетическому резонансному возбуждению кислорода, который, воздействуя на клеточные мембраны, изменяет антигенные свойства тканей и ведет к изменению структуры соединений [3]. Однако кванты ИК-излучения несут слишком мало энергии, чтобы вызвать еще и фотохимическое действие. Действие ИК-излучения связано в основном с глубинным прогревом тканей. Под действием ИК-излучения повышение температуры усиливает биологическую активность клеток, ускоряется кровоток, усиливается деятельность желез, снимается мышечный спазм, снижается болевой синдром. Интенсивное нагревание кожи приводит к распаду ее белковых молекул и высвобождению биологически активных веществ, в том числе гистаминаподобных. Они повышают проницаемость сосудистой стенки, участвуют в регуляции местной и общей гемодинамики, вызывают раздражение рецепторов. В развитии общих реакций организма и реакций со стороны более глубоко расположенных органов играют роль преимущественно рефлекторные связи [4].

В действии коротковолнового излучения на живой организм интерес представляет влияние УФ-излучения на биополимеры — белки и нуклеиновые кислоты. Молекулы биополимеров содержат кольцевые группы молекул, содержащие углерод и азот, которые интенсивно резонируют, т.е. поглощают излучение с короткой (около 300 нм) длиной волны. Поглощенная энергия может передаваться по цепи атомов в пределах молекулы без существенной потери, пока не достигнет слабых связей между атомами и не разрушит связь. В течение такого процесса, называемого фотолизом, образуются частицы (осколки) молекул, оказывающие сильное действие на клеточные структуры. Под действием ультрафиолетовых лучей в белках происходит денатурация. При облучении светом определенной длины волны электрический заряд молекул уменьшается, они соединяются (слипаются) и теряют свою активность — ферментную, гормональную и антигенную [9].

УФ-излучение, взаимодействуя с веществом, в том числе и с органическим, часто вызывает его ионизацию (так называемый фотоэлектрический эффект). Длительность состояния электронного возбуждения составляет миллиардные доли секунды, и в дальнейшем

энергия возбуждения целиком или частично переходит в тепловую энергию колебания и взаимодействия атомов. Порция энергии, соответствующая разнице уровней основного и возбужденного состояния атома, передается соседним атомам и молекулам малыми квантами дальнего инфракрасного излучения. Именно фотохимический путь разрядки возбужденных электронных состояний играет решающую роль в механизме биологического действия УФ-излучения [8].

Таким образом, реакция различных клеток тканей на электромагнитное воздействие является индивидуальной и зависит от различных факторов, включая и области окружения клеток.

Исходя из вышеизложенного в работе был проведен ряд исследований, связанных с определением воздействия электромагнитных волн УФ (320 нм) и ИК (900 нм) диапазонов на клетки различных биотканей (селезенки, опухоли Эрлиха и клетки костного мозга) (патент 2438699 «Способ изготовления вакцины для лечения аденокарциомы Эрлиха от 10.01.2012).

Целью исследования явилось изучение влияния инфракрасного и ультрафиолетового излучения на жизнеспособность клеток тканей, иммобилизованных в пористо-проницаемой структуре никелида титана.

Материал и методы

В экспериментах использовались мелкогранулированный пористый порошок (никелид титана) с размером гранулы от 1 до 100 мкм (рис. 1) и пористо-проницаемые инкубаторы (пористость 80%) из никелида титана с иммобилизованными на них клетками различных тканей (рис. 2) [8].

Животные: мыши С57BL/6 массой тела 20—24 г, возраст 18—12 нед, самцы. **Опухоль:** карцинома Эрлиха (асцитный вариант), доза перевивки $5 \cdot 10^6$ клеток.

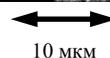
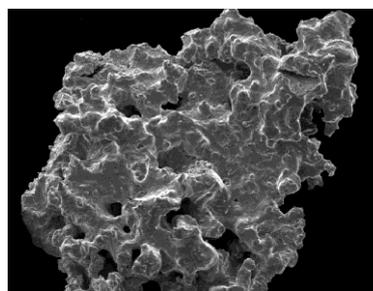
Клетки выделялись из асцитической жидкости мышей методом центрифугирования. Затем ресуспендировались в полной культуральной среде, состоящей из среды DMEM (Sigma, США) с 10%-й эмбриональной телячьей сывороткой, 250 мг/л глутамина и 40 мкг/мл гентамицина (ООО «Панэко», г. Москва). В аналогичной среде использовались клетки костного мозга и селезенки мышей.

Суспензию раскапывали в 96-луночный планшет по $2 \cdot 10^5$ клеток на лунку, сверху ставили светонепроницаемую конструкцию со встроенными светодиодами необходимой длины волны. Облучение проводили на

расстоянии 1 см от поверхности жидкости. Клетки культивировали в светонепроницаемом CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С и 100%-й влажности.



а



б

Рис. 1. Пористо-проницаемый мелкогранулированный никелид титана: а — насыпь порошка; б — единичная гранула



а



2,5 × 2,5 × 4 мм

б

Рис. 2. Пористо-проницаемые инкубаторы из никелида титана: а — инкубаторы, б — единичный инкубатор

По окончании культивирования подсчитывали количество жизнеспособных клеток при помощи 0,4%-го витального красителя трипанового синего. Для каждого светодиода число лунок с образцами клеточной

суспензии составляло 5. Предварительно в опытные лунки добавляли стерильные образцы из никелида титана: 20 мкг мелкогранулированного никелида титана или объемную конструкцию $2,5 \times 2,5 \times 4$ мм пористо-проницаемого инкубатора, составляющие приблизительно одну десятую культурального объема.

Клеточные образцы облучали в течение 4 ч с последующим адаптационным периодом 20 ч. Затем планшеты центрифугировали и после 30 мин обработки раствором трипсина-ЭДТА подсчитывали количество жизнеспособных клеток и вычисляли их содержание от общего количества с помощью 0,4%-го трипанового синего.

Статистическую обработку проводили общепринятыми методами при помощи пакета статистических компьютерных программ Statistica 6. Поскольку в исследовании присутствовали выборки, закон распределения числовых показателей в которых отличался от нормального (по данным проверки при помощи критерия Колмогорова—Смирнова), достоверность различий изучаемых признаков проверяли при помощи непараметрического *U*-критерия Манна—Уитни (попарные сравнения независимых совокупностей показателей).

Результаты

Подробные исследования взаимодействия мультипотентных мезенхимальных клеток костного мозга с пористым проницаемым никелидом титана показали, что поверхность данного материала является хорошей адгезирующей и биосовместимой с данным типом клеток подложкой [7]. В подтверждение этого на внутренней поверхности образцов из никелида титана наблюдали отдельно прикрепленные фибробластоподобные клетки костного мозга (рис. 3), которые заполняли 90% пор инкубатора в течение 28 сут.

В предварительных исследованиях всего светового спектра излучения на клетки было отмечено, что достоверно значимые результаты получаются:

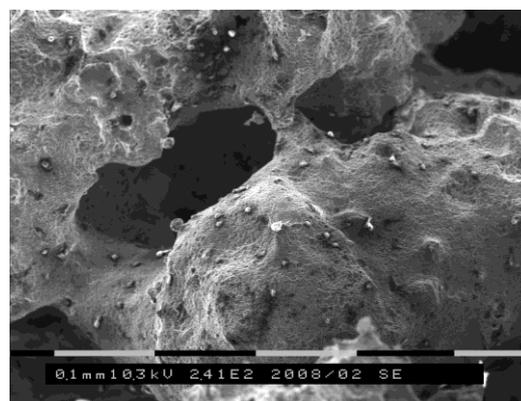
1) при облучении открытых суспензий: прозрачная пластиковая культуральная крышка нивелирует эффект облучения;

2) во время облучения спектрами невидимого диапазона: инфракрасным (850 нм) и ультрафиолетовым (340 нм);

3) при времени облучения более 4 ч (интенсивность излучения светодиода составляет около 40 Вт/м^2).



а



б

Рис. 3. Отдельно прикрепленные мезенхимальные клетки на внутренней поверхности образца из никелида титана (1 сут после засева, SEM): а — ув. 2 500; б — ув. 240

На рис. 4 представлены результаты воздействия ИК- и УФ-излучения на клетки селезенки, опухоли Эрлиха и костного мозга мышей в присутствии пористого порошка из никелида титана.

При воздействии излучения малой интенсивности на клетки селезенки, опухоли и костного мозга в присутствии мелкогранулированного никелида титана наблюдали диаметрально противоположные реакции разных клеточных культур на излучения ИК- и УФ-спектра. При воздействии ИК-излучения отмечено достоверное увеличение популяции костного мозга в присутствии гранул из никелида титана ($p < 0,05$), при тех же условиях УФ-излучение приводит к резкому снижению жизнеспособности всех культур ($p < 0,05$) (как в присутствии мелкогранулированного никелида

титана, так и без него). Наиболее чувствительной культурой к данным родам воздействия являются клетки костного мозга (рис. 4), возможно, это связано с их адгезивной способностью (клетки селезенки и опухоли Эрлиха культивируются в суспензионных культурах) и, соответственно, более быстрой передачей энергетических воздействий с поверхности металлического материала.

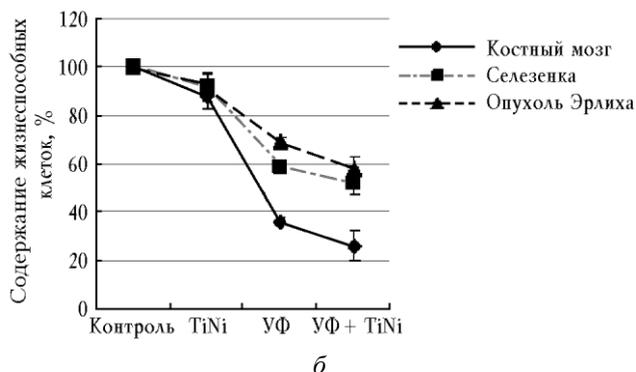
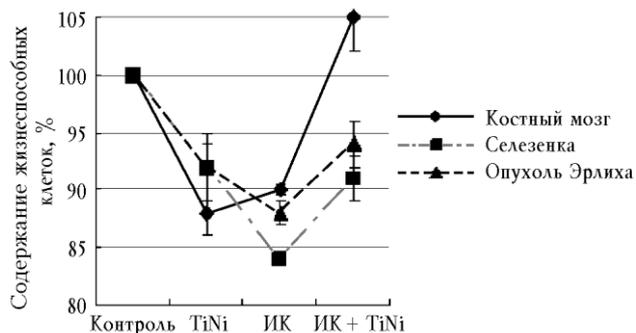


Рис. 4. Содержание жизнеспособных клеток тканей в присутствии мелкогранулированного никелида титана при облучении низкоинтенсивным ИК-спектром (а) и УФ-спектром (б): контроль — содержание жизнеспособных клеток в культуральной среде; TiNi — содержание жизнеспособных клеток в присутствии пористого порошка из никелида титана; ИК, УФ — содержание жизнеспособных клеток после облучения ИК- и УФ-спектром малой интенсивности; ИК + TiNi, УФ + TiNi — содержание жизнеспособных клеток после облучения ИК- и УФ-спектром малой интенсивности в присутствии пористого порошка из никелида титана

На рис. 5 и 6 представлены данные по действию излучения ИК- и УФ-диапазонов электромагнитных волн на жизнеспособность различных типов клеток в пористо-проницаемых инкубаторах из никелида титана.

Заметны различия влияния ИК- и УФ-излучений на клетки в присутствии мелкогранулированного порошка по сравнению с аналогичным воздействием на клетки, находящиеся в инкубаторе из никелида титана. Так, ИК-

спектр достоверно ($p < 0,05$) увеличивает количество жизнеспособных клеток костного мозга в 1,5 раза в инкубаторах из никелида титана, при этом УФ-спектр не оказывает достоверно значимого влияния на клетки костного мозга. При этом оба спектра излучения достоверно ($p < 0,05$) увеличивают относительное содержание жизнеспособных клеток опухоли в никелид-титановых матриксах при облучении УФ-спектром в 1,7 раза и при облучении ИК-спектром в 2 раза.

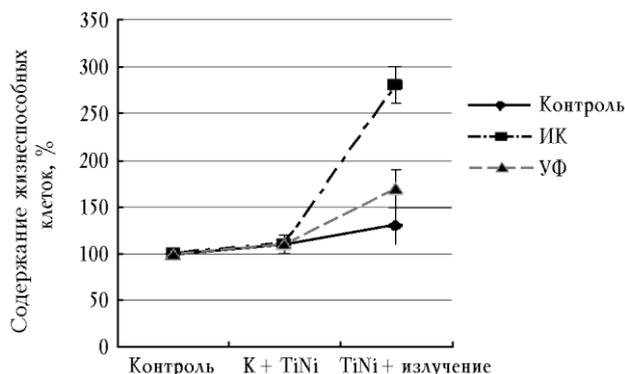


Рис. 5. Содержание жизнеспособных клеток костного мозга в пористых инкубаторах из никелида титана с последующим облучением ИК- и УФ-спектрами: контроль — содержание жизнеспособных клеток в культуральной среде; К + TiNi — содержание жизнеспособных клеток в среде с инкубатором; TiNi + излучение — содержание жизнеспособных клеток в среде с инкубатором после облучения

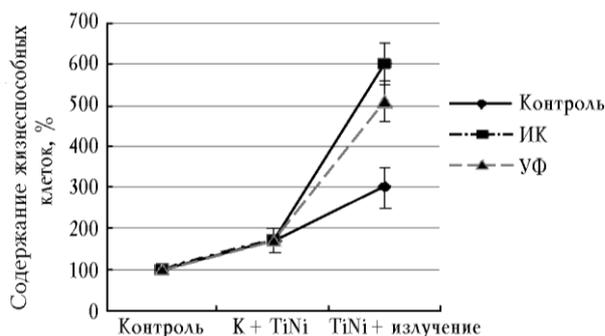


Рис. 6. Содержание жизнеспособных клеток опухоли Эрлиха в пористых инкубаторах из никелида титана с последующим облучением ИК- и УФ-спектрами

Основным объяснением такого поведения клеток в присутствии металлических матриц при ИК- и УФ-излучении является преобразование данных спектров световой энергии в тепловую и нивелирование тепловой энергии пористыми инкубаторами из никелида титана, проявляющееся в воздействии «мягкого» градиента температуры на увеличение численности жизнеспособных клеток. То есть ИК- и УФ-излучения, воздействуя на ячеистую структуру инкубатора, нагревают его по-

ристую основу, при этом жидкая окружающая среда не позволяет разогреваться до критических для клеток температур (43—45 °С), так как жидкая теплоемкая среда сама поглощает выделенное тепло инкубатора, что оказывает благоприятное воздействие на процессы клеточного метаболизма. При этом пористый инкубатор создает экран от губительного воздействия ультрафиолетовых лучей, предохраняя клетки от их деградирующего влияния, чего не происходит в присутствии мелкогранулированного никелида титана.

Заключение

Полученные данные показывают, что воздействие крайними (инфракрасным и ультрафиолетовым) спектрами излучений позволяет достоверно регулировать численность и жизнеспособность некоторых клеточных популяций: в одном случае повышать их жизнеспособность (при облучении инфракрасным спектром) совместно с инкубаторами из никелида титана, в другом — снижать их жизнеспособность (при облучении электромагнитными волнами ультрафиолетового диапазона). Влияние инфракрасного спектра может найти применение в реанимации популяции после ее выделения из тканевых структур или увеличения количества малочисленной популяции до необходимой концентрации в пористо-проницаемых инкубаторах. Эффект ультрафиолетового диапазона, возможно, найдет применение в уничтожении остаточных опухолевых очагов или других патологических клеточных популяций. Результаты проведенного исследования могут быть использованы при разработке инкубаторов-носителей клеточных культур, оснащенных генератором электромагнитного излучения с заданными характеристиками излучения.

Организм человека как открытая термодинамическая система сам выделяет и воспринимает энергию электромагнитного излучения, реагируя на клеточном уровне. Степень воздействия излучения на клеточную

биосистему прежде всего связана с длиной волны, длительностью облучения и плотностью энергии. Результаты исследования свидетельствуют о том, что многочисленные факторы внешней среды, даже незначительные, могут оказывать влияние на клеточные популяции организма, при этом значительную роль в модуляции процессов жизнедеятельности могут играть факторы межклеточного пространства и окружения.

Литература

1. Алешенков М.С., Родионов Б.Н. Взаимодействие физических полей и излучений с биологическими объектами и защита от их негативного воздействия. М.: МГУЛ, 1998.
2. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки: пер. с англ. М.: Мир, 1994. Т. 1. 350 с.
3. Антонов В.Ф., Черныш А.М., Пасечник В.И. Биофизика. М.: Физика, 2000. 154 с.
4. Вайль Н.С. Инфракрасные лучи в клинической диагностике и медико-биологических исследованиях. М.: Медицина, 1996. 278 с.
5. Илларионов В.Е. Медицинские информационно-волновые технологии. М.: ВЦ МК «Защита», 1998.
6. Исаков В.Л. Основные вопросы разработки методических рекомендаций по лазерной медицине // Применение лазеров в биологии и медицине. К., 1995. С. 7—20.
7. Кокорев О.В., Дамбаев Г.Ц., Ходоренко В.Н., Гюнтер В.Э. Применение пористо-проницаемых инкубаторов из никелида титана в качестве носителей клеточных культур // Клет. трансплантология и ткан. инженерия. 2010. Т. 5, № 4. С. 31—37.
8. Материалы с памятью формы и новые медицинские технологии / под ред. В.Э. Гюнтера. Томск: Изд-во «НПП МИЦ», 2010. 360 с.
9. Мейер А., Зейтц Э. Ультрафиолетовое излучение: пер. с нем. М.: Науч. лит., 574 с.
10. Нефедов Е.И., Протопопов А.А., Хадарцев А.А., Яшин А.А. Биофизика полей и излучений и биоинформатика. Тула: Изд-во ТулГУ, 1998. Ч. 1.
11. Ремизов А.Н. Медицинская и биологическая физика. М.: Высш. школа, 1996. 608 с.
12. Тучин В.В. Оптическая биомедицинская диагностика. Т. 2. М., 2007. С. 367.

Поступила в редакцию 03.10.2011 г.

Утверждена к печати 30.05.2012 г.

Сведения об авторах

С.В. Гюнтер — канд. техн. наук, науч. сотрудник НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы (г. Томск).

О.В. Кокорев — канд. мед. наук, науч. сотрудник НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы (г. Томск).

Г.Ц. Дамбаев — д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАМН, зав. кафедрой госпитальной хирургии СибГМУ (г. Томск).

В.Ф. Вотяков — канд. техн. наук, науч. сотрудник НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы (г. Томск).

Гюнтер С.В., Кокорев О.В., Дамбаев Г.Ц., Вотяков В.Ф.

Влияние ИК- и УФ-излучения на клетки тканей...

Для корреспонденции

Гюнтер Сергей Викторович, тел.: 8 (382-2) 41-38-15, 8-913-858-0655; e-mail: guntersv@inbox.ru