

Действие инфракрасного лазера с длиной волны 1265 нм на раковые клетки

Ворсина С.Н.

Ульяновский государственный университет

В настоящее время идёт внедрение низкоинтенсивного лазерного излучения инфракрасного спектра в биологические исследования и медицину. Данные исследования проводят в разных странах. Главным преимуществом инфракрасного лазера является не травмирующее действие [3].

В основе действия излучения лежит фотобиологические эффекты, которые вызывают определенные биологические и физиологические реакции. Они способны к активации метаболизма клеток и повышению их функциональной активности, что приводит к заживляющим и восстанавливающим процессам [2].

Данная активация метаболизма клеток обладает противовоспалительным действием, вызовом активации микроциркуляции крови и повышению уровня трофического обеспечения тканей. При этом оказывает обезболивающее и иммуностимулирующее действие, а также стимулирует рефлексогенное действие на функциональную активность различных органов и систем [1].

Цель исследования: изучение действия лазера инфракрасного спектра с длиной волны 1265 нм на раковые клетки эпителия кишечника человека.

Материал и методы исследования.

Материалами исследования являются раковые клетки эпителия кишечника человека линии НСТ – 116. Выживаемость клеток оценивалась через 5 минут и сутки, после облучения ($9/54 \text{ j/cm}^2$). Клетки окрашиваются смесью красителей Yo – Pro – 1 и йодистого пропидия при температуре 37°C. Через 20 минут анализируются с помощью флуоресцентного микроскопа клетки подвергшиеся апоптозу (greenfluorescencefilter 480/529) и некрозу (redfluorescencefilter 480/529).

Внутриклеточную концентрацию ROS определяли при помощи DCFH – DA. Через 5 минут и 3 часа после облучения среду заменяли на эквивалентный объём натрий – фосфатного буфера (PBS) и окрашивали клетки раствором DCFH – DA в 96% этаноле (концентрация – 10 мкМ) в

течение 20 минут. Культуру клеток после окрашивания инкубировали 10 минут при 4°C и анализировали (filter 480/529). Фотографирование выполнялось с использованием системы, состоящей из микроскопа NikonTi – S, камеры DS – Qi1MC, объектива NikonSPlanFluorELWD 20×0.45.

Количественный анализ проводился с использованием программы ImageJ. Скорректированную интегральную флуоресценцию клетки (СИФК) рассчитывали по формуле: СИФК = Интегральная плотность – (Площадь выделенной клетки × Фоновое значение флуоресценции). Работа выполнена на базе лаборатории молекулярно – клеточной биологии НИТИ УлГУ.

Результаты исследования.

Для изучения выживаемости клеток, мы пользовались смесью красителей Yo – Pro – 1 и йодистого пропидия. Данные красители нужны для выявления некроза (йодистый пропидий) и апоптоза (Yo – Pro – 1). Данные по апоптозу раковых клеток НСТ – 116 при воздействии лазера инфракрасного спектра с длиной волны 1265 нм в течение 30 минут для апоптоза).

После воздействия инфракрасного лазера на клетки линии НСТ – 116. Через 5 минут после облучения показатель клеток, изменился, но остался статистически значимым, следовательно, спустя 5 минут после облучения в колонии число клеток, подвергнутых апоптозу, было весьма незначительное.

Другую группу клеток проверяли через 24 часа. При воздействии лазером инфракрасного спектра, показатель изменяется, при этом является статистически значимым, на основании чего мы можем сделать вывод, что спустя 24 часа после облучения в колонии число клеток, подвергнутых апоптозу, было весьма значительным.

При исследовании некроза в клетках, через 5 минут и 24 часа после облучения инфракрасным лазером с интенсивность 9,54 Дж/см² все показатели были достоверно значимыми по статистическим данным. Благодаря чему, мы предположили, что инфракрасный лазер с длиной волны 1265 нм, не влияет на гибель клеток. Лазер длинной волны 1265 нм способен вызывать гибель нежелательных клеточных популяций без некроза. Низкоинтенсивное лазерное запускает в клетке каскад реакций, ведущих к индукции регенеративных процессов и активации стрессового ответа без клеточной гибели, что способствует оздоровлению тканей.

Таким образом, при воздействии инфракрасного лазера в течение 30 минут с длиной волны 1265 нм на раковые клетки эпителия кишечника человека линии НСТ – 116, происходит снижение величины флуоресценции

в клетках, что является признаком стимулирования апоптоза, в ходе которого апоптозные клетки теряют контакт с соседними клетками, уменьшаются в размере, в результате чего клетка распадается на апоптозные тельца. Таким образом, излучение инфракрасного лазера способствует активации апоптоза раковых клеток эпителия кишечника человека. Некротические процессы при облучении незначительны.

Литература

1. Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии / И.М. Байбеков, А.Х. Касымов, В.П. Карташев и др. - Ташкент: Изд-во им. Ибн Сины, 1991. – 223с.

2. Королёв В.А. Волоконно-оптические датчики для внутрисполостного применения в медицине / В.А. Королёв, Потапов В.Т. // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. XVI, выпуск №2. - С. 148-150.

3. Characterization of 2',7'- dichlorofluorescein fluorescence in dissociated mammalian brain neurons: estimation on intracellular content of hydrogen peroxide. / Y. Oyama, A. Hayashi, T. Ueha, K. Maekawa // Brain Res. – 1994. – Vol. 635(1-2). – P. 113-117.

4. Schmitt C.A. Apoptosis and therapy / C. A.Schmitt, S.W.Lowe // J. Pathol. - 1999. - Vol. 187. - P. 127-137.