



WIADAP

Sp. z o.o., Wrocławski Park Technologiczny,
World International Association of Deep Aqua Purification Sp. z o.o.
Dział Handlowy, Laboratorium, ul. Duńska 13, 54-427 Wrocław
EU +37254557747; +48696100153
WWW.WIADAP.PRO

ЭФФЕКТ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ ПЛАЗМЫ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

Елькин И.Е., Хмель В.П., Мельничук Н.М., Домбровский Е.В.
Вроцлавский Технологический Парк, Вроцлавская, Белостокской и Люблинская
Медицинские Академии

Уже достаточно давно привлекает внимание в исследовательском и практическом плане взаимодействие с живыми объектами электромагнитных полей и излучений. На этой основе развиваются методы физико-химической медицины и различных биотехнологий. В настоящее время в практической медицине находит применение квантовая терапия, магнитотерапия и др. методы физико-химического лечения, выгодно отличающиеся от медикаментозной терапии, во-первых, более широким спектром полезного действия, во-вторых, тем, что не обладают нежелательными для организма побочными эффектами лекарств, которые часто являются ксенобиотиками. Наряду с названными методами заслуживает самого пристального внимания возможность медико-биологического применения низкотемпературной (холодной) плазмы (НТП), что само по себе является совершенно новым направлением (ноу – хау) в области оздоровления живых организмов и человека!

Целью настоящей работы было исследование эффектов НТП в отношении биологических объектов, в данном случае - иммунокомпетентных клеток (иммуноцитов) крови здоровых людей и страдающих различными заболеваниями (в том числе и онкологией) семян растений, микроорганизмов, дрожжей.

Данные исследования проводятся под руководством профессора Елькина И.Е на базе Европейских медицинских центров и центров изучения проблем животноводства и растениеводства, для этого были привлечены ряд профильных ученых.

Под иммунокомпетентными клетками обычно подразумевают лимфоциты и моноциты/макрофаги, но, учитывая тесную функциональную связь в иммунных реакциях, к ним часто относят и полиморфноядерные лейкоциты. Особое внимание было уделено анализу воздействия НТП *in vitro* на иммуноциты больных с различным течением (хроническим, острым) болезни, а также с онкологической формой патологии различного генеза, которая, как известно, формируется в условиях недостаточной эффективности иммунобиологического надзора. Успешное лечение хронических и онкологических заболеваний всегда представляло одну из сложнейших задач, решение которой упирается в постоянное совершенствование как методологических, так и методических разработок. Непременным условием успеха в таком мероприятии является раннее распознавание болезни и адекватный путь лечения.

Известно, что не только повреждение, но и инициация восстановительных (репаративных) процессов в организме может быть вызвана внешними воздействиями.

Установлено, что физические и химические факторы при кратковременном воздействии и в малых дозах обладают стимулирующим эффектом в отношении физиологических систем организма. Поэтому удачная интеграция знаний из смежных областей медицины, биологии, физики, химии и техники может способствовать практическому использованию этого эффекта во благо человека. Например, о большой медицинской значимости исследований по электромагнитному "облучению" говорилось на 1-ом Международном конгрессе "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине" (СПб., 1997), Международной научной конференции "Электромагнетизм в медицине" (Чикаго, 1997), 7-й Международной научно-практической конференции по квантовой медицине (Москва, 2000). Следует, однако, заметить, что молекулярно-клеточные механизмы такого воздействия еще далеки от полного понимания. Очевидно поэтому его лечебное применение не всегда дает желаемый результат. Необходимо, таким образом, изучить эти механизмы и научиться прогнозировать эффекты физико-химических методов лечения применительно к конкретной клинической ситуации.

Если твердые материалы в процессе технологической обработки подвергаются непосредственному воздействию НТП в камере плазмогенератора, то в исследовании живых объектов это невозможно. Поэтому облучение биообъектов проводили в стеклянных, пластиковых и кварцевых пробирках как в сухом виде, так и в водных растворах (иммуноцитов в составе крови). Таким способом попутно проясняли вопрос о природе возможных биологических эффектов НТП, имея ввиду потенциальный барьер для определенных видов излучений плазмы на пути к объекту, вынужденно создаваемый в виде стенок пробирок из разного материала и жидкофазного слоя крови.

Для оценки реакции живых объектов на воздействие НТП были применены подходы и методы, основанные на люминесцентном микроспектральном анализе клеток с привлечением флуоресцентных зондов. Такой способ анализа, например, флуорохромированных акридиновым оранжевым (АО) живых клеток, эффективен в распознавании патологических процессов и контроле за лечением (см. рис. 1 и 2). Целесообразность использования АО как индикатора состояния иммунокомпетентных клеток крови, заключается в том, что он, обладая метахроматическими свойствами, позволяет отслеживать различные стороны жизнедеятельности этих клеток, важные для обеспечения их функций. На этой основе удалось создать компьютерную экспертную систему по автоматизированному типированию функционального состояния организма (примеры см. на рис. 3).

Анализ полученных результатов показывает, что несмотря на наличие возможного барьера перед объектом, имеет место выраженный ответ живых клеток на воздействие плазмы. Не исключен, правда, феномен переноса эффекта с барьерных материалов на объект, т.е. опосредованное воздействие. В первую очередь это относится к водным растворам, поскольку наблюдается определенное изменение физико-химических свойств воды под воздействием НТП. Возможен и аддитивный эффект. Этот вопрос требует отдельного рассмотрения.

Воздействие НТП на биологические объекты действительно выразилось в том, что называют стимулирующим эффектом. Например, облученные НТП (или обработанные облученной водой), при рабочем напряжении генератора $U = 2400 - 2700 \text{ V}$, плотности ионного потока в камере $P = 2,5 \times 10^6 \text{ ион/см}^2$ и времени облучения $t = 20 \text{ мин}$, семена ряда огородных культур выказали повышенные, в сравнении с контролем, всхожесть, жизнестойкость, вегетативный рост (см. рис. 4). Облученные при таких же условиях микроорганизмы (молочно-кислые бактерии, одноклеточные и многоклеточные дрожжи) интенсифицировали биосинтетические процессы, размножение, изменялись морфологически (см. рис.5-7), что свидетельствует об определенных физиологических сдвигах у них под воздействием НТП

На рис.8-10 в качестве примера отражен эффект воздействия НТП (в том же режиме облучения) на иммуноциты крови здорового человека и больного с хроническим воспалительным процессом (иммунобластный лимфоаденит). Результаты представлены в виде

спектров люминесценции флуорохромированных АО отдельных живых клеток (рис. 8) и бипараметрических распределений их люминесцентных сигналов в составе клеточных популяций (лимфоцитов и лейкоцитов) на фазовой плоскости (рис. 9, 10) в координатах I_{530} (X, абсцисса) и I_{640} (Y, ордината), соответствующих двум максимумам спектра эмиссии клеток. Представленные на рис. 10 данные дополнительно обработаны с помощью программы "MEGO", реализующей алгоритмы идентификации характера патологических процессов.

Из сравнения представленных спектрально-люминесцентных данных видно, что на воздействие НТП реагируют не единичные клетки, а весь их пул, включая и лимфоциты и лейкоциты (популяции которых в норме четко различимы в приведенных примерах как на самой фазовой плоскости, так и на гистограммах распределения безразмерного параметра Y/X). Известно, в этой связи, что интенсивности люминесценции флуорохромированных АО живых клеток на длине волны 530 нм (ось X) определяются физико-химическим (структурно-функциональным) состоянием ядерного хроматина (ДНП-комплекса), где АО связывается с ДНК в мономерной форме, а на длине волны 640 нм (ось Y) - аналогичным состоянием их лизосомного аппарата, в котором АО накапливается уже в полимерной форме, и отражают, таким образом, общий уровень активности клеток.

На основании полученных данных можно заключить, что НТП обладает стимулирующим потенциалом в отношении иммунокомпетентных клеток. По своим внешним проявлениям этот эффект при люминесцентном микроспектральном анализе живых клеток напоминает ранние стадии поликлональной активации иммуноцитов такими агентами, как лектины. То, что иммунокомпетентные клетки претерпевают значительные физико-химические, биохимические и морфологические изменения под влиянием антигенов или митогенов, т.е. агентов, появляющихся в условиях инфекции, интоксикации или других нарушениях гомеостаза организма установлено уже достаточно давно. Эти разнообразие изменения обычно обозначают термином "активация иммунокомпетентных клеток".

Большая часть пула лимфоцитов крови обладает способностью к размножению, дифференцировке в эффекторные клетки или интенсификации метаболической (функциональной) активности; моноциты/макрофаги мало способны к размножению (если вообще способны), однако могут дифференцироваться в более активно фагоцитирующие, экскретирующие высокоадгезивные клетки; зрелые гранулоциты не способны ни к делению, ни к дифференцировке, но, очевидно, могут интенсифицировать свои функциональные проявления. Активация иммунокомпетентных клеток является обязательным условием их участия в защитных реакциях организма. Сигналом же к активации одновременно многих иммунокомпетентных клеток является воздействие определенного "активатора". Одни активаторы обладают широким диапазоном действия - влияют на различные клетки (например, лектины); другие в большей степени специализированы - действуют на отдельные субпопуляции клеток (цитокины). Общим же качественным признаком воздействия является быстрый переход достаточно большой субпопуляции иммунокомпетентных клеток в новое состояние

Термин "активация" обычно употребляется в двух аспектах: во-первых, для обозначения достаточно длительного процесса, который заканчивается размножением и (или) дифференцировкой клеток, во-вторых, для обозначения изменений, происходящих в иммунокомпетентных клетках в первые минуты после воздействия активаторов. На настоящем этапе исследований мы пока ориентируемся на второй аспект.

Результаты многих работ позволяют считать, что общая картина активации антигенами и митогенами очень сходна. Это как будто бы дает возможность экстраполировать результаты работы с митогенами на активацию иммунокомпетентных клеток вообще. Однако в нашей ситуации анализ иммуноцитов в фиксированном виде свидетельствует о неидентичности их реакции на воздействия митогена (лектина) и НТП (см. рис.11, 12). Возможно это, с одной

стороны, в какой-то мере, связано с их исходно различным функциональным состоянием у здоровых и больных индивидуумов, а с другой - с инициацией совершенно различных генетических программ клеточного поведения.

Как известно, лектины (Кона, ФГА, ЛПС и др.) это стимуляторы митотической активности у лимфоцитов, т.е. они иницируют те процессы биосинтеза РНК, ДНК, белков, которые необходимы для клеточной пролиферации. У зрелых полиморфноядерных лейкоцитов реакция на лектины, по-видимому, ограничивается только первоначальными физико-химическими изменениями в статусе клетки. Это мы наблюдаем у здорового человека, когда иммуноциты находятся в состоянии относительного функционального покоя. В норме *in vivo* лимфоциты, получая соответствующий активационный сигнал на размножение и дифференцировку, покидают русло циркуляции и уходят в лимфоидные органы для завершения реакции, становясь фактически недоступными для обычного иммуногематологического анализа. При патологии, в условиях повышенных функциональных нагрузок, иммуноциты (лимфоциты) остаются в кровотоке и реализуют, очевидно, другую(ие) генетическую программу, исключаящую деление и направленную на наращивание своей прямой физиологически затребованной активности, как это происходит при любой адаптационной реакции организма.

В реализации пластической адаптации организма к каким-либо чрезвычайным воздействиям также основную роль играет интенсификация синтеза нуклеиновых кислот и белков. Первым и ключевым этапом этого процесса, особенно при иммуногенезе, является синтез РНК, который предшествует белковому биосинтезу. В состоянии функционального покоя у иммуноцитов происходит только фоновый биосинтез, который резко активизируется при функциональной нагрузке на клетку. В отношении биосинтеза ДНК хорошо известно, что в норме иммуноциты крови находятся в G₀-фазе клеточного цикла и имеют постоянный 2n набор ДНК и не синтезируют ее *de novo*. Поэтому, индикатором биосинтетической активности иммуноцитов крови (в данном случае лимфоцитов и моноцитов) может быть внутриклеточное отношение РНК/ДНК, которое можно количественно оценить с помощью люминесцентного микроспектрального анализа специальным образом обработанных (фиксированных) и флуорохромированных АО индивидуальных клеток. В спектральном анализе это отношение может быть выражено с помощью введенного Риглером (Rigler, 1966) и модифицированного другими авторами (Карнаухов, 1978; Darzynkiewicz et al., 1983) уравнения:

$$\square = I_{640}/I_{530} = A_1 \times \text{НК}_1/\text{НК}_2 = A_2 \times \text{РНК}/\text{ДНК},$$

где I_{640} - интенсивность люминесценции клеток на длине волны 640 нм;

I_{530} - интенсивность люминесценции клеток на длине волны 530 нм;

НК_1 - односпиральные нуклеиновые кислоты;

НК_2 - двуспиральные нуклеиновые кислоты;

A_1 и A_2 - коэффициенты пропорциональности, учитывающие структурно-функциональные особенности анализируемого объекта.

$\square\square\square$ - **безразмерный спектральный параметр, который в случае анализа фиксированных клеток может служить показателем их общей биосинтетической активности.**

АО представляет собой метахроматический флуорохром, т.е. он способен менять свой спектр люминесценции от зеленой ($\square_{\max} = 530$ нм) до красной ($\square_{\max} = 640$ нм) в зависимости от физико-химического состояния, иными словами, от того, в какой форме он находится - в виде мономеров или димеров (полимеров). В фиксированных клетках АО связывается с НК_2 (ДНК) в форме мономеров (интеркалирует) и люминесцирует с высоким квантовым выходом

в зеленой области спектра, а с НК₁ (РНК) он связывается в форме димеров и полимеров (стэкинг-взаимодействие) и люминесцирует уже в красной области спектра.

Иногда, в условиях структурной нестабильности хроматина, например, при хронической патологии, повреждающем воздействии на клетку или искусственной депротеинизации ДНП, АО способен генерализованно денатурировать ядерную ДНК иммуноцитов крови *in situ* (на месте), переводя ее из двуспиральной формы в форму однополого клубка с соответствующими спектральными изменениями в эмиссии клеток.

При хронической патологии, в условиях перманентной стимуляции иммуноцитов, они могут перейти в состояние ареактивности или функционального срыва, что делает невозможным их дальнейшие физиологические ответы. Выделенные из такого организма иммуноциты практически не реагируют на митогены, но, если судить по изменениям их люминесцентных характеристик, воспринимают воздействие НТП, реализующееся в виде перехода в состояние, более близкое по люминесцентным параметрам к норме. Иными словами, не исключено, что НТП в отношении иммуноцитов крови обладает свойствами не просто стимулирующего, а, возможно, нормализующего или оптимизирующего характера. Этому есть и другие подтверждения, приведенные ниже.

Иммуноциты крови онкологических больных значительно отличались по своим люминесцентным характеристикам не только от аналогичных клеток здоровых людей, но и других больных, что уже изначально выражалось в специфическом их отражении на фазовой плоскости (см. рис.3, г). Они слабо отвечали, или вообще не реагировали, особенно на поздних стадиях болезни, на ФГА и Кон А. У них не наблюдалось образования на мембранах ни "кэпов", ни "пэтчей", типичных для реакции лимфоцитов на меченый лиганд (например, ФГА-ФИТЦ) в нормальных условиях. Но они отвечали на воздействие НТП, сходным образом отвечали на раково-эмбриональный антиген (РЭА) и начинали реагировать на ФГА-ФИТЦ после предварительной обработки НТП и 60 мин инкубации (рис. 13). Эти данные свидетельствуют, что НТП действует на иммуноциты и на уровне клеточных мембран, модифицируя их физико-химическое состояние. Можно предполагать, по меньшей мере, повышение текучести мембран, что способствует эффективному протеканию реакции рецептор-лиганд на поверхности клеток. Очевидно с данным фактом связано и некоторое повышение адгезивных свойств и фагоцитарной активности нейтрофилов после обработки НТП (рис. 14).

Как известно, антигенное воздействие как *in vivo*, так и *in vitro* на сенсibilизированные иммунокомпетентные клетки может индуцировать у них или митогенный/дифференцировочный ответ, или, совместно с гормональными стимулами, активизировать специфическую функциональную деятельность, что соответствующим образом отражается на их биохимических, морфологических, адгезивных и люминесцентных характеристиках. Примененный в данном случае для постановки реакции *in vitro* полиспецифичный РЭА был получен лабораторным путем по традиционной технологии при искусственном прерывании беременности (рабочая концентрация антигена составила около 0,5 мг/мл по белку). Попутно подчеркнем здесь тот факт, что на данный антиген достоверно реагировали в не менее чем 50% случаев иммуноциты носителей злокачественных опухолей, некоторых доброкачественных, но не иммуноциты беременных женщин (у которых предполагалась иммунная сенсibilизированность к РЭА) или больных с другой патологией.

Оппозитное действие НТП оказала на иммуноциты больных с острыми заболеваниями (рис. 15). Из чего, собственно, и можно заключить, что, по-видимому, в отношении уже активированных и находящихся на пике функциональной активности клеток НТП обладает нормализующим или "тормозящим" биологическим эффектом. Об этом, возможно, свидетельствует еще один факт.

На рис. 16 приведены характерные фазовые траектории, описывающие фотодинамический эффект в субстрате (ДНП-АО) в интактных и обработанных НТП иммуноцитах крови здоровых лиц и больных с острой и хронической патологией при облучении живых флуорохромированных АО клеток возбуждающим эмиссию светом в близкой ($\lambda_{\text{в}} = 390 \text{ нм}$) УФ-области спектра в течение 60 с. Как видно из кинетик, процессы "фединга» в рассмотренных случаях разыгрываются по различным, но типовым сценариям. Данный факт, очевидно, обусловлен особенностями физико-химического состояния ДНП в этих клетках, поскольку выявлены определенные закономерности в характере фотодеструкции исследуемого материала. Это при том, что флуорохромирование клеток и процедуру регистрации бипараметрических кинетик фотовыгорания красителя осуществляли в идентичных условиях. Для нас здесь главное то, что фазовые траектории, описывающие фотодеструкцию субстрата после воздействия НТП, например, у иммуноцитов больных с хронической и острой патологией практически зеркально противоположны. Фотофизические и фотохимические особенности этого феномена еще требуют изучения.

Таким образом, установлена реакция и ее вариации у иммунокомпетентных клеток крови на воздействие НТП *in vitro* в условиях нормы и патологии. Однако, планируемый перевод настоящих исследований в плоскость практической реализации для медицинских нужд требует дальнейшей разработки этого вопроса. В частности, относительно общих и специальных механизмов активации иммунокомпетентных клеток. Проведение подобных исследований обычно начинается с опытов *in vitro*, которые предшествуют попыткам рационального применения новых знаний. Изучение феноменологии и механизмов активации иммуноцитов преследует несколько целей. Одна из них - оценка исходного состояния популяций иммунокомпетентных клеток, особенно в клинических условиях. Вторая - установление корреляций между характером ранних и последующих изменений в иммунокомпетентных клетках при воздействии того или иного активатора в различных условиях. Третья - отыскание путей к управлению поведением иммунокомпетентных клеток.

Иммунная система, как известно, самым непосредственным образом обеспечивает и контролирует адаптивные и восстановительные процессы в организме. Поэтому, циркулирующие в кровотоке клетки иммунной системы, выполняя в организме "цензорные" и гомеостатические эффекторные функции, могут одновременно еще служить тем "зеркалом" (т.е. выполнять "репортерные" функции), в котором отражаются практически все адаптационные и патологические перестройки организма. Даже выделенные из организма иммунокомпетентные клетки крови сохраняют те структурно-функциональные особенности, которые были определены им *in vivo* их клеточным и гуморальным микроокружением. Можно попытаться использовать это свойство "отражения действительности" иммуноцитов для направленной иммунокоррекции при патологии, например, путем экстракорпорального электромагнитного воздействия (в данном случае плазменного) на них, и их возвращения обратно в организм. Более того, учитывая многофункциональность иммунной системы, можно ожидать при этом и более широких физиологических сдвигов в организме, что, вероятно, повысит терапевтическую целесообразность подобного воздействия. Основания для таких ожиданий имеются.

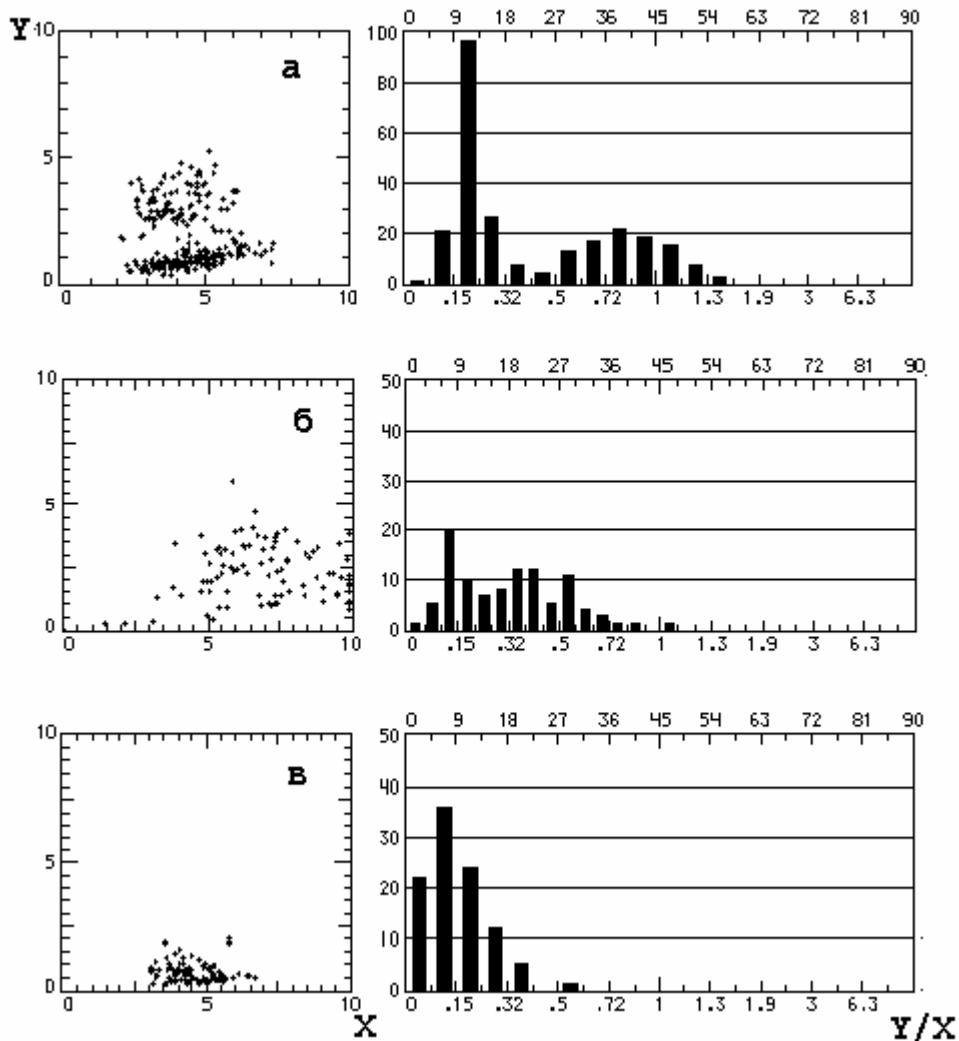


Рис.1. Распределение на фазовой плоскости бипараметрических флуоресцентных сигналов популяций живых иммуноцитов (лимфоцитов и лейкоцитов) крови в норме (а), при остром воспалительном процессе (б) и хроническом воспалительном процессе.

Ось абсцисс (X) - интенсивность флуоресценции клеток на длине волны 530 нм.

Ось ординат (Y) - интенсивность флуоресценции клеток на длине волны 640 нм.

Дополнительно даны гистограммы распределения значений Y/X . Данные получены с помощью программы "MICROFLU".

Двухволновая микрофлуориметрия. Флуорохромирование АО при pH = 7,2.



Рис.2. Функциональные состояния организма человека, распознаваемые экспертной системой по характеру распределения на фазовой плоскости флуоресцентных сигналов витально флуорохромированных АО иммунцитов крови.

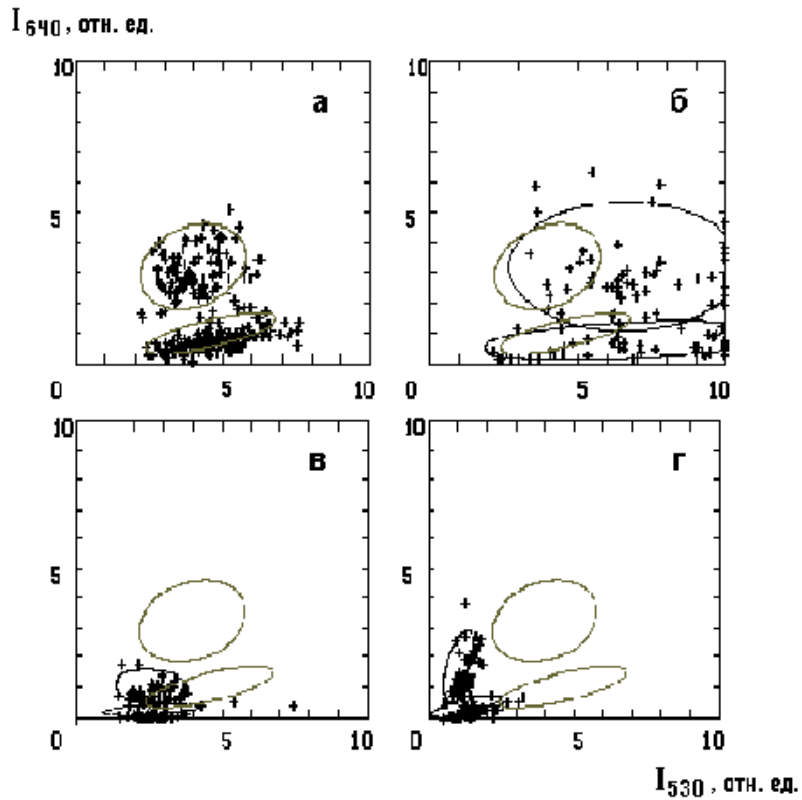


Рис. 3. Примеры распределений на фазовой плоскости в координатах I_{530} (X, ось абсцисс) и I_{640} (Y, ось ординат) бипараметрических флуоресцентных сигналов живых иммуноцитов крови, соответствующих состоянию нормы (а), острого патологического процесса (б), хронического патологического процесса в состоянии ремиссии (в) и опухолевого (гиперпластического) процесса (г).

Эллипсами обозначены распределения лейкоцитов (верхний эллипс) и лимфоцитов (нижний эллипс) в исследуемом случае и в норме (для сравнения). Обработка данных произведена с помощью программы "MEGO".

Рис. 4.

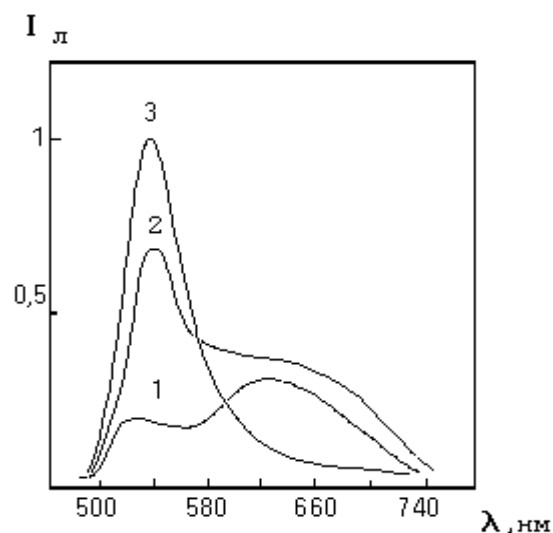


Рис. 5. Динамика спектров люминесценции дрожжей *Sacch. cerevisiae* в процессе выхода из анабиоза после облучения ПТР. 1 – начало инкубации; 2 – 20 мин инкубации; 3 – 40 мин инкубации. Витальное флуорохромирование АО. Ось абсцисс – длина волны в нм. Ось ординат – интенсивность люминесценции. Спектры нормированы

Рис. 6. Сравнение морфологических и спектрально-люминесцентных характеристик дрожжей *Sacch. Cerevisiae*, инкубированных 72 ч в растворе 5% - сахарозы на обычной водопроводной воде (а) и облученной в НТП (б).

а – большинство дрожжевых клеток находится в состоянии анабиоза;

б - большинство дрожжевых клеток находится в физиологически активном состоянии.

Препараты живых клеток. Флуорохромирование АО при pH = 7,2.

Ось X – интенсивность флуоресценции I_{530} ;

ось Y – интенсивность флуоресценции I_{640} ;

ось Z – размер клеток в мкм.

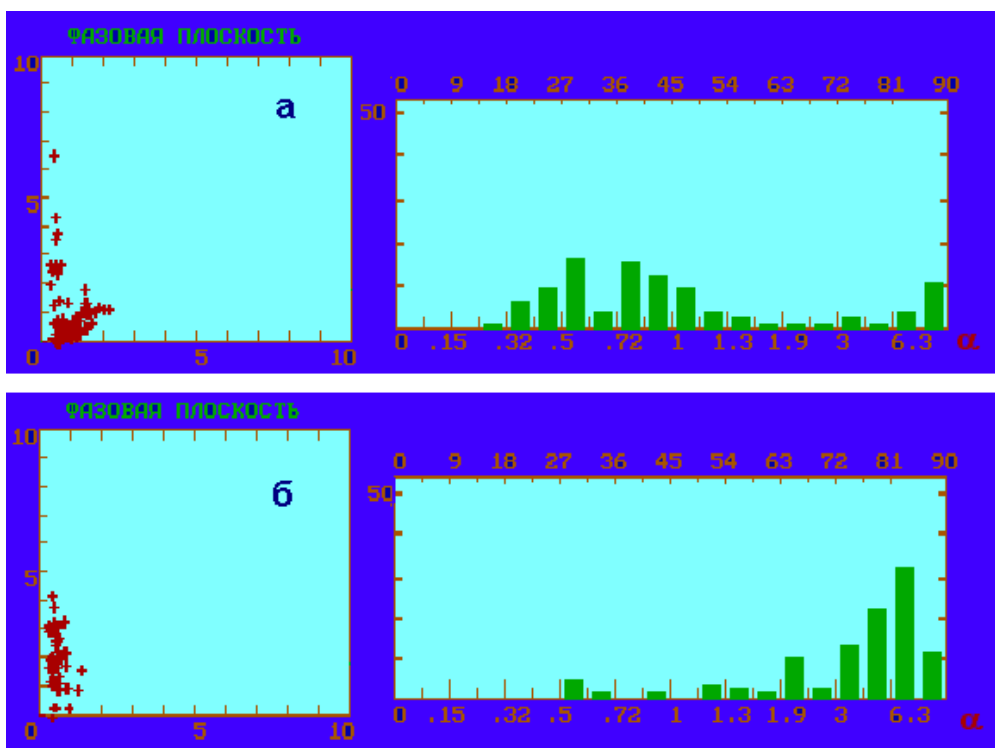


Рис. 7. Изменение биосинтетической активности дрожжей *Sacch. cerevisiae* после воздействия ПТР.

Фазовые плоскости в координатах интенсивностей люминесценции I_{530} (абсцисса) и I_{640} (ордината) и гистограммы распределения значений параметра α : а – контроль; б – после воздействия ПТР.

Фиксация Карнуа. Флуорохромирование АО при $\text{pH}=4,2$.

Двухволновая микрофлуориметрия.

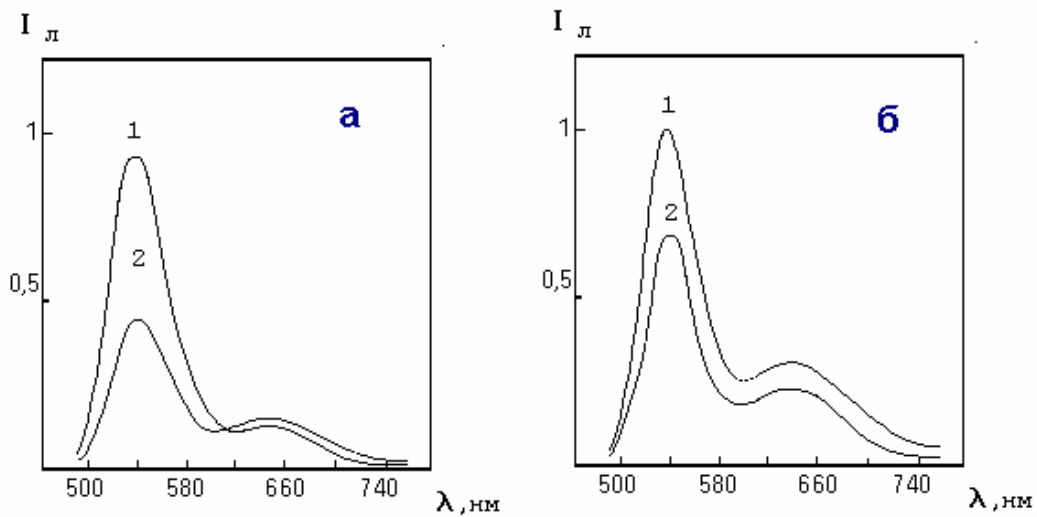


Рис. 8. Спектры флуоресценции живых лимфоцитов крови здорового человека (1) и хронического больного (2) до (а) и после (б) воздействия ПТР. Ось абсцисс - длина волны в нм; ось ординат - интенсивность флуоресценции. Флуорохромирование АО при pH = 7,2.

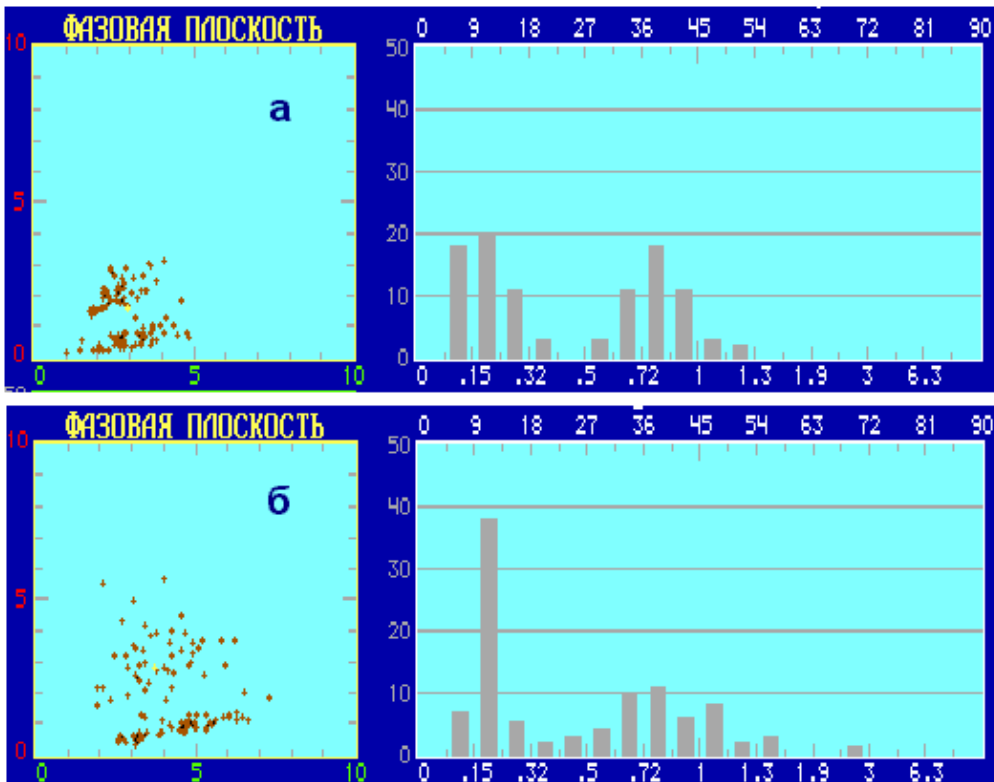


Рис. 9. Изменение флуоресценции популяций живых иммуноцитов крови здорового человека после воздействия ПТР. а - исходное состояние; б - после воздействия ПТР.

Фазовые плоскости и гистограммы распределения значений Y/X. Обозначения как на рис.1. Пояснения в тексте.

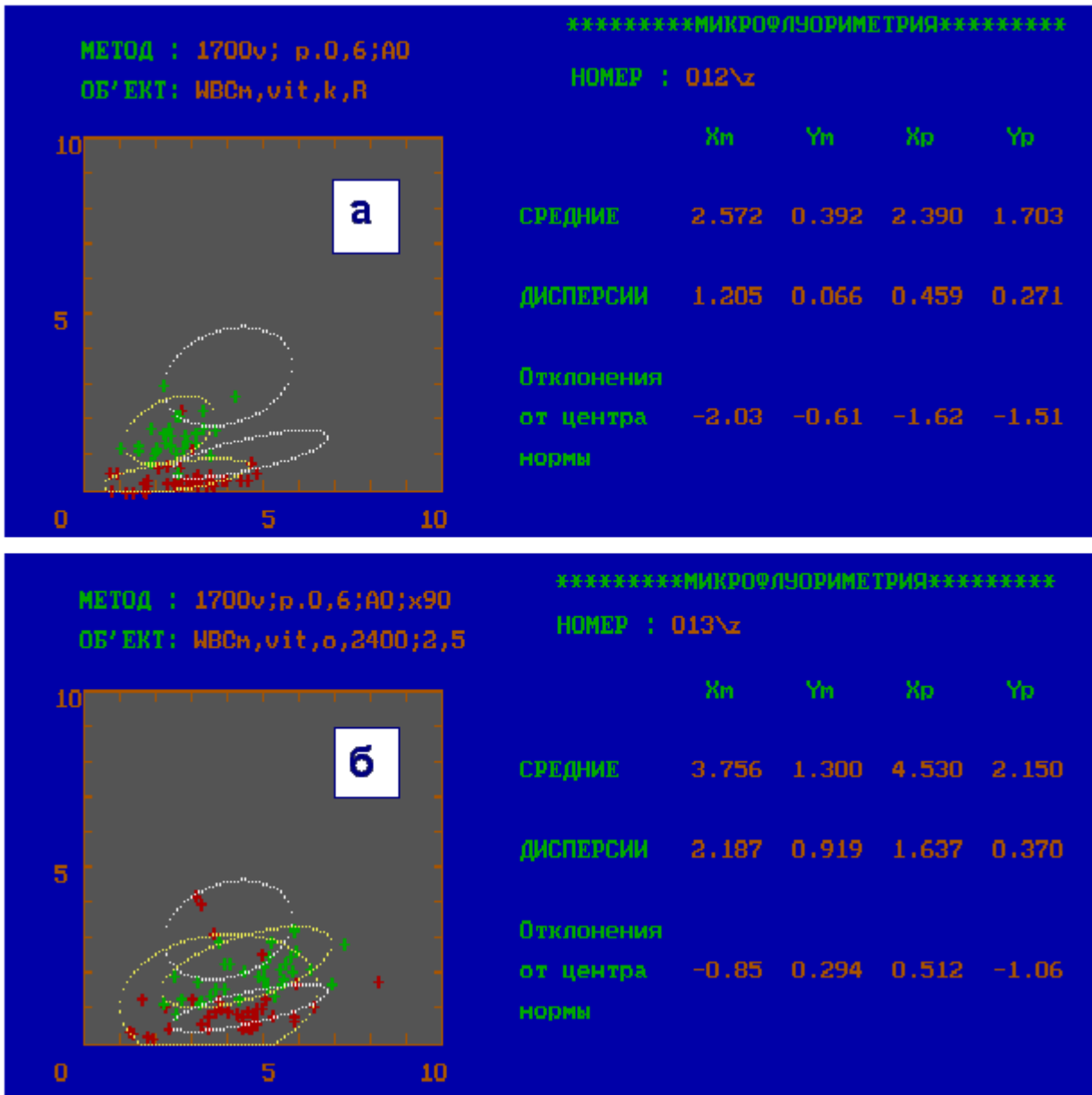


Рис. 10. Изменение флуоресценции популяций живых иммуноцитов крови хронического больного после воздействия ПТР.

а - исходное состояние; б - после воздействия ПТР.

Фазовые плоскости. Данные обработаны по программе "MEGO". Пояснения в тексте.

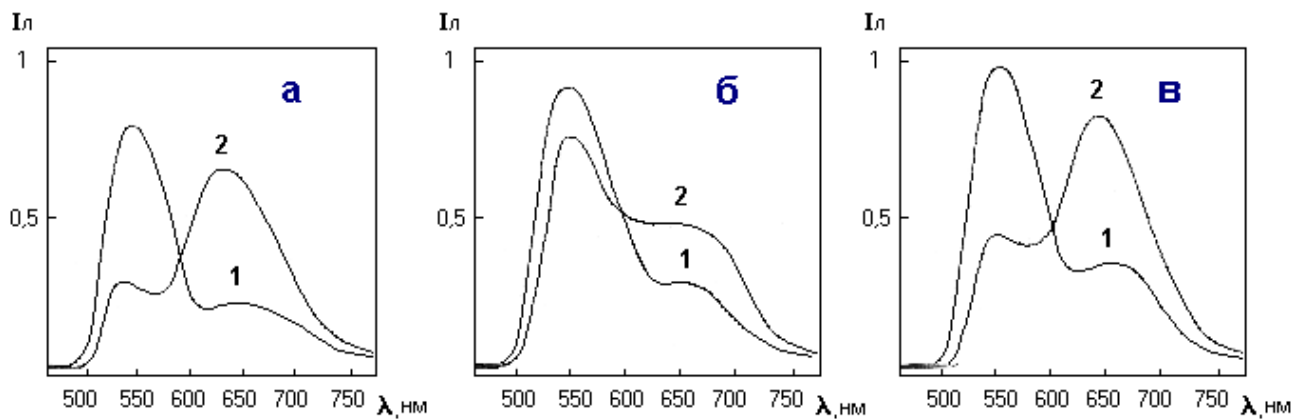


Рис. 11. Спектры флуоресценции фиксированных лимфоцитов крови здорового человека (1) и хронически больного (2) без воздействий (а), после воздействия ПТР (б) и после воздействия ФГА (в). Фиксация Карнуа. Флуорохромирование АО при рН = 4,2. Ось абсцисс – длина волны в нм; ось ординат – интенсивность флуоресценции.

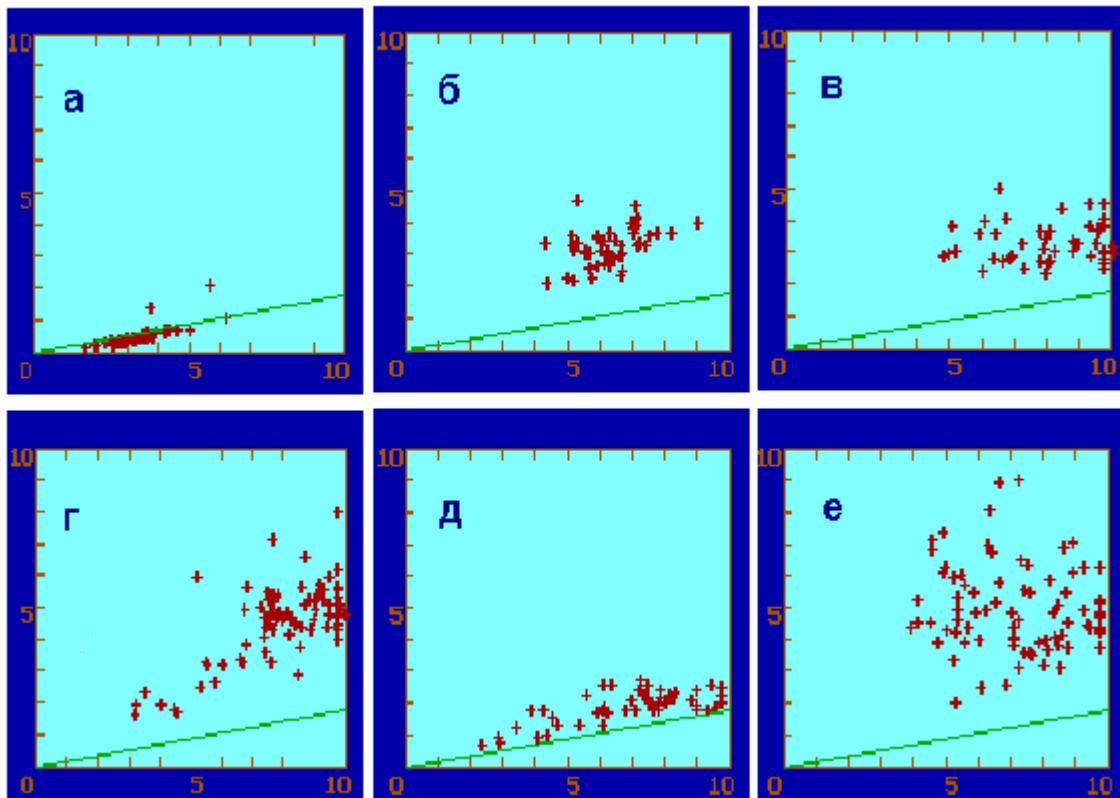


Рис. 12. Изменение флуоресценции популяции фиксированных лимфоцитов крови здорового человека (верхний ряд) и больного с хронической патологией (нижний ряд) после воздействия ПТР и ФГА: а, г - исходное состояние; б, д - после воздействия ПТР; в, е - после воздействия ФГА. Фазовые плоскости. Наклонной линией показана ось распределения значений параметра \square лимфоцитов крови в норме. Ось абсцисс – интенсивность флуоресценции I_{530} ; ось ординат – интенсивность флуоресценции I_{640} .

Фиксация Карнуа. Флуорохромирование АО при рН = 4,2.

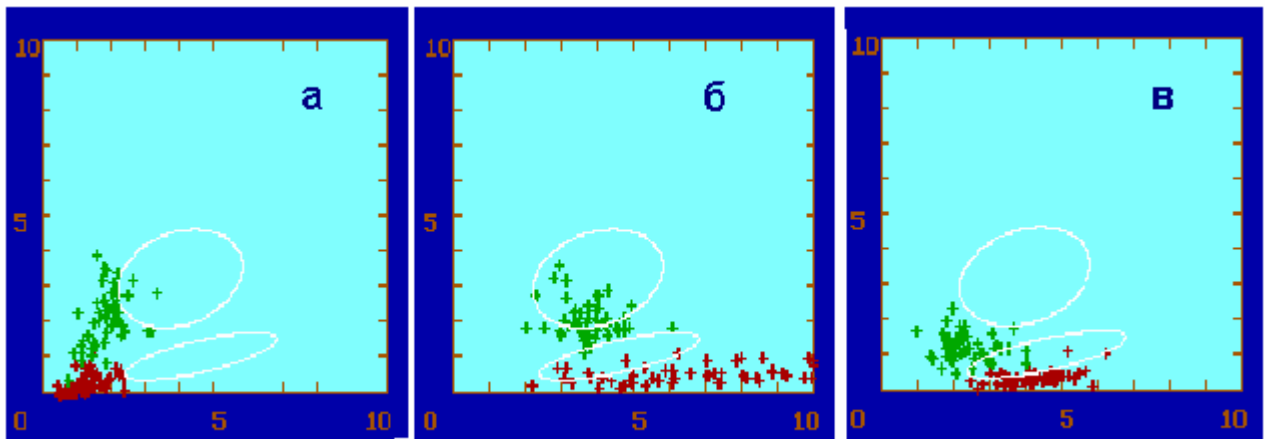


Рис. 13. Изменение флуоресценции популяций живых иммунцитов крови онкологической больной (Ст. молочной железы II ст.) после воздействия ПТР и РЭА: а - исходное состояние; б - после воздействия ПТР; в - после воздействия РЭА.

Витальное флуорохромирование АО. Двухволновая микрофлуориметрия. Ось абсцисс – интенсивность флуоресценции I_{530} ; ось ординат – интенсивность флуоресценции I_{640} . Эллипсами на фазовой плоскости обозначено распределение флуоресцентных сигналов лимфоцитов (нижний эллипс) и лейкоцитов (верхний эллипс) в норме.

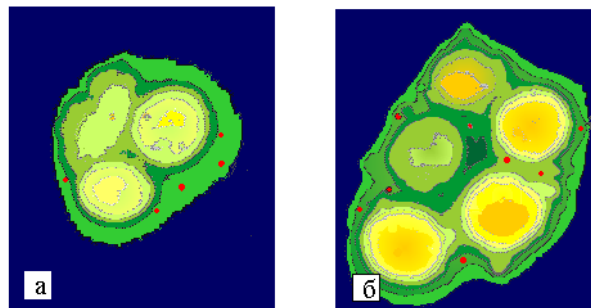


Рис. 14. Фагоцитоз нейтрофилами крови относительно здорового человека дрожжей *S. cerevisiae* до (а) и после (б) воздействия ПТР. Витальное флуорохромирование АО. Цифровая микроскопия.

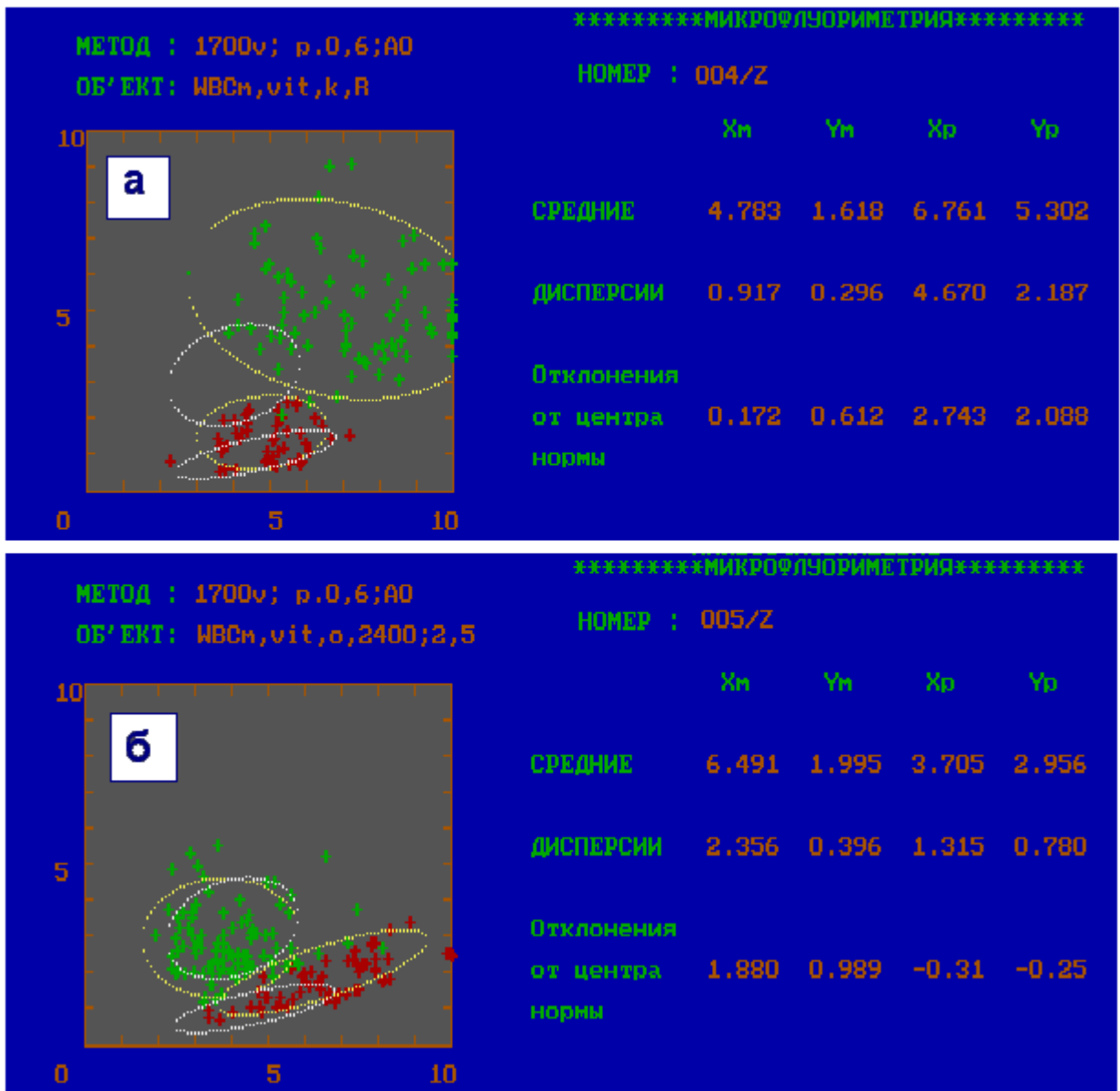


Рис. 15. Изменение флуоресценции живых иммунцитов крови больного с острой патологией после воздействия ПТР:

а - исходное состояние; б - после воздействия ПТР.

Обозначения на фазовых плоскостях как на рис.3.

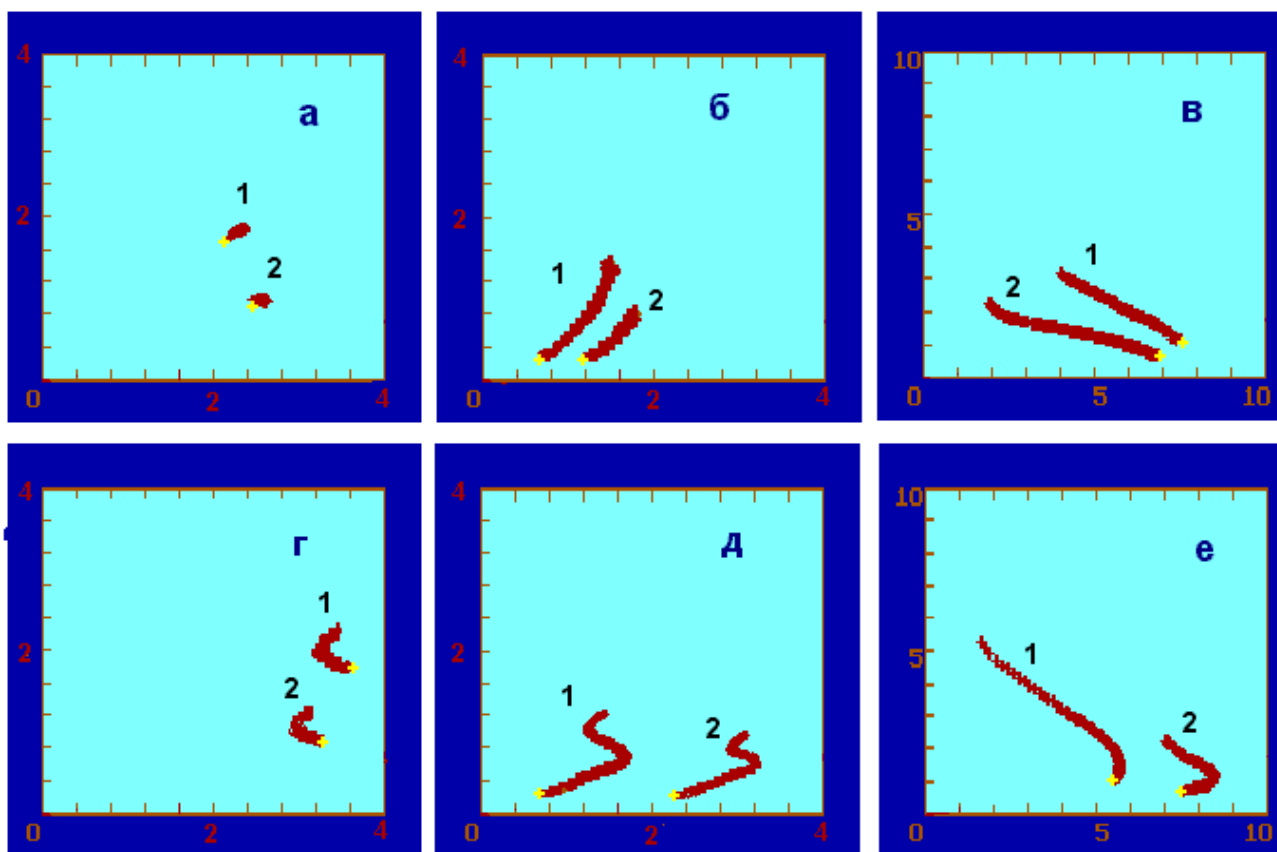


Рис. 16. Фазовые траектории изменения флуоресценции живых иммунных клеток крови в норме и при патологии под влиянием возбуждающего излучения без воздействия (верхний ряд) и после воздействия ПТР (нижний ряд):

а, г - в норме; б, д - при хронической патологии; в, е - при острой патологии.

1 – полиморфноядерные лейкоциты; 2 – лимфоциты; + – конец траектории.

Флуорохромирование АО. Длина волны возбуждающего света - 390 нм. Время облучения – 1 мин.

Исходя из полученных результатов, ассоциацией компаний WIADAP были разработаны, запатентованы и успешно применяются:

- физиотерапевтические приборы (кресла, столы, души и т.п.);
- приборы и методики обработки питьевой воды (для пирорального применения);
- приборы и методики применений в виде трансфузий внутривенно капельно (NaCl 0,9 % для внутривенных трансфузий).
- разработанные с использованием технологии «WIADAP» средства для наружного применения (кремы, мази, жидкости - спреи).

Более детально на сайте <http://wiadap.pro/>