

Wpływ niskociśnieniowej plazmy na aktywność biologiczną immunocytów. Doniesienie wstępne

The influence of low-pressure cold plasma on biological activity of immunocytes. Preliminary report

Igor Elkin

Nantes Sp. z o.o., ul. Dolne Młyny 21, 59-700 Bolesławiec, tel. +48 (0) 75 734 68 99, e-mail: elkin@nantes.com.pl

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań nad wpływem niskociśnieniowej zimnej plazmy na biologiczną aktywność immunocytów. Analizowano zmiany fluorescencji limfocytów krwi ludzkiej. Wykazano wpływ zimnej plazmy na zmiany fluorescencji limfocytów, przy czym wzrost natężenia fluorescencji był wyższy w przypadku limfocytów osoby chorej niż zdrowej.

Słowa kluczowe: zimna plazma, immunocyty, fluorescencję, biologiczna aktywność

Abstract

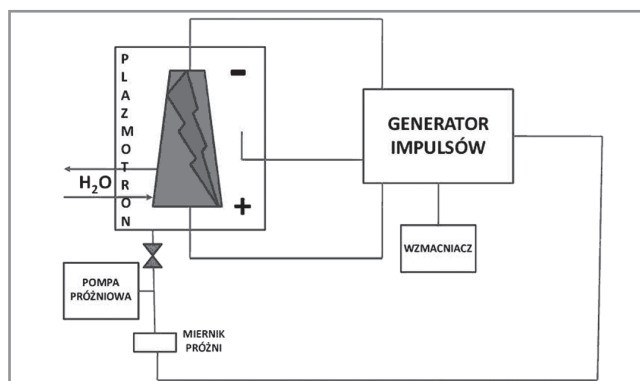
The effect of low-pressure cold plasma on biological activity of immunocytes was examined. The fluorescence of lymphocytes of healthy and ill person was examined. The increase of fluorescence intensity was observed in the lymphocytes of ill person.

Keywords: cold plasma, immunocytes, fluorescence, biological activity

Wprowadzenie

Badania z ostatnich lat wykazują istotny wpływ pola niskociśnieniowej zimnej plazmy na strukturę różnych materiałów, m.in. metali i stopów. Strumień jonów i elektronów o energiach rzędu 0,5-5 keV, wytwarzany w plazmotronie (generatorze plazmy), powoduje objętościową modyfikację tych materiałów, przejawiającą się w podwyższeniu np. charakterystyk wytrzymałościowych [1-4]. Struktura metali i stopów poddanych obróbce plazmowej jest analogiczna do struktury głęboko deformowanych próbek, chociaż w procesie napromieniowania materiały nie są poddawane ani mechanicznym, ani termicznym obciążeniom. Należy wspomnieć, że tak efektywna modyfikacja materiałów nie jest możliwa nawet przy bardzo wysokiej energii cząstek, rzędu kilku MeV, gdzie głębokość modyfikowanej warstwy nie przekracza 100 μm .

Wpływ plazmy na właściwości fizykochemiczne wody był również przedmiotem wielu badań. Wiadomo, że charakter oddziaływania przyspieszonych jonów na powierzchnię materiału istotnie zależy od energii. Przy inicjacji plazmy w obecności resztkowych gazów, po osiągnięciu krytycznych wartości napięcia pola elektrycznego E_c i ciśnienia P_c powstaje stacjonarny reżim istnienia plazmy o stałej koncentracji jonów. Przy różnicy potencjałów między elektrodami wynoszącej 0,6-2,5 kV, odległości między elektrodami 0,3-0,5 m i ciśnieniu 10^{-6} Pa, średnia energia jonów nie przekracza $2,5 \times 10^3$ eV. W takich warunkach, w płynach ulokowanych w sąsiedztwie katody w wodoszczelnych



Rys. 1 Przykładowy schemat układu do obróbki plazmowej wody
Źródło: Opracowanie własne.

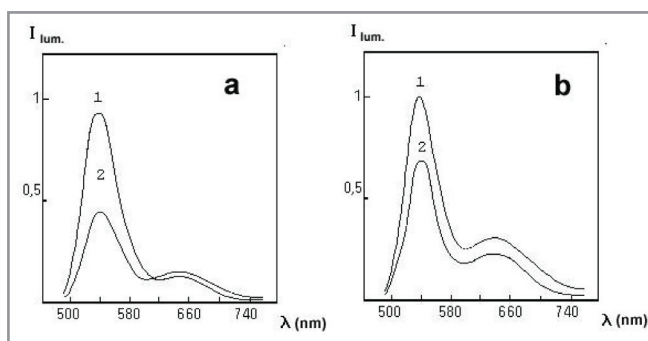
pojemnikach, pod wpływem plazmy zachodzą różnorodne procesy fizyczno-chemiczne i fizyczno-mechaniczne, prowadzące do zmian strukturalnych cieczy (rys. 1).

Przykładowo, bezpośrednie napromieniowanie różnych ogrodowych kultur nasion lub pośrednio – wody (przy napięciu generatora $U = 2,4-2,7$ kV, gęstości strumienia jonów $R = 2,5 \times 10^6$ jonów/cm² i czasie napromieniowania $t = 20$ min) wykazało podwyższoną (w porównaniu z próbkami kontrolnymi) zdolność kiełkowania, żywotność i wegetatywny wzrost. U napromieniowanych w takich samych warunkach drobnoustrojów (bakterie i drożdże) zauważono intensyfikację procesów biosyntezy, rozmnażania oraz zmiany morfologiczne, co może świadczyć o fizjologicznych przemianach zachodzących pod wpływem zimnej plazmy.

Do klasy immunokompetentnych komórek zalicza się limfocyty oraz makrofagi. W zwalczaniu patogenów biorą też udział granulocyty. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu niskociśnieniowej zimnej plazmy na limfocyty krwi ludzkiej. Analizowano *in vitro* wpływ plazmy na limfocyty pobrane od osoby zdrowej i chorej.

Wyniki eksperymentalne i dyskusja

Badania przeprowadzono na limfocytach osoby zdrowej i osoby chorej. W doświadczeniach zastosowano znacznik fluorescencyjny – oranż akrydynowy. Jak już wspomniano, materiał badawczy stanowiły limfocyty osoby zdrowej i osoby chorej na nieswoiste zapalenie węzłów chłonnych. Wyniki badań zilustrowano na rys. 2. Krzywa 1 obrazuje fluorescencję limfocytów osoby zdrowej przed i po za działaniu plazmy, natomiast krzywa 2 – fluorescencję limfocytów osoby chorej. Na rys. 2a przedstawiono wyniki przed zadziałaniem plazmy, a na rys. 2b – po poddaniu próbek działaniu plazmy.



Rys. 2 Fluorescencja znakowanych limfocytów zdrowego człowieka (1) i osoby chorej (2) przed (a) i po (b) oddziaływaniu plazmy
 Źródło: Opracowanie własne.

Analizując wykresy na rys. 2, można zauważyć, że maksimum natężenia fluorescencji przy długości fali 540 nm jest różne u osoby zdrowej i chorej, przy czym wyraźnie wyższa wartość obserwowana jest w przypadku osoby zdrowej. Ponadto, stosunek natężenia fluorescencji przy długości fali 540 nm do natężenia przy 650 nm u zdrowego człowieka jest znacznie wyższy niż u chorego. Wpływ NC plazmy zwiększa intensywność wysokoenergetycznych pasm fluorescencji chorego człowieka przy 540 nm w porównaniu ze zdrowym, a tym samym zmienia się stosunek natężenia fluorescencji dla tych dwu długości fal.

Analiza spektralna może więc służyć do oceny aktywności limfocytów. Mając na uwadze stosunek natężenia fluorescencji I650 przy długości fali 650 nm i natężenia I540 przy 540 nm u osoby zdrowej i chorej, a także zmiany tego stosunku po zadziałaniu plazmy, do oceny aktywności można wykorzystać parametr zdefiniowany poniżej:

$$\alpha = I_{650} / I_{540}$$

Parametr α może być wskaźnikiem biosyntetycznej aktywności limfocytów i podlegać ocenie ilościowej.

Analiza wyników przedstawionych na rys. 2 wskazuje, że u osób zdrowych wysokoenergetyczne pasmo fluorescencji przy maksymalnej długości fali 540 nm (żółta luminescencja) jest relatywnie intensywniejsze niż pasmo o maksymalnej długości równej 650 nm (czerwona luminescencja). Odwrotna sytuacja ma miejsce u osób

chorych. Po poddaniu limfocytów obróbce NC plazmą zachodzi odwrócenie intensywności obu pasm fluorescencji, ponieważ następuje silny wzrost intensywności pasma żółtego kosztem intensywności pasma czerwonego. Nie zaobserwowano znaczących zmian rozkładu intensywności fluorescencji limfocytów u osoby zdrowej. Oznacza to, że efekt obróbki limfocytów NC plazmą przejawia się intensywniej u osób chorych.

Podsumowanie

System immunologiczny odpowiada za odporność i regeneracyjne procesy organizmu. Badanie aktywności limfocytów, nawet *in vitro*, może być pomocne w diagnostyce stanu układu immunologicznego człowieka.

Z drugiej strony poszukuje się metod, które mogłyby być pomocne przy naprawie uszkodzonych lub nie w pełni sprawnych mechanizmów obronnych. Niniejsza praca pokazuje, że oddziaływanie zimnej plazmy zmienia stan funkcjonalny limfocytów człowieka. ■

Autor dziękuje pracownikom Uniwersytetu w Mohylewie (Białoruś) dr I. Tereshko i V. Abidzinie za pomoc w przeprowadzeniu doświadczeń i dyskusji wyników.

Literatura

1. V. Abidzina, I. Deliloglu-Gurhan, F. Ozdal-Kurt, B.H. Sen, I. Tereshko, I. Elkin, S. Budak, C. Muntele, D. Ila: *Cell adhesion study of the titanium alloys exposed to glow discharge*, Nuclear instruments and methods in physics research, vol. B262, 2007, s. 624-626.
2. I.V. Tereshko, V. Abidzina, I.E. Elkin, A.M. Tereshko, V.V. Glushchenko, S. Stoye: *Formation of nanostructures in metals by low-energy ion irradiation*, Surface & coatings technology, vol. 201, 2007, s. 8552-8556.
3. I.V. Tereshko, V.I. Khodyrev, E.A. Lipsky, A.V. Gonchareva, A.M. Tereshko: *Materials modification by low-energy irradiation*, Nuclear instruments and methods in physics research, vol. B127/128, 1997, s. 861-864.
4. A.A. Vostrikov, D.Yu. Dubov, M.R. Predteschensky: *Ionization of water cluster by surface collision*, Chem. Phys. Lett., vol. 139, 1987, s. 124-128.
5. V. Abidzina, I.V. Tereshko, I. Elkin, S. Budak, C. Muntele, D. Ila: *Plasma ion induced Au nanocluster formation on silica*, Nuclear instruments and methods in physics research, vol. B261, 2007, s. 674-677.

otrzymano / received: 12.10.2009 r.
 zaakceptowano / accepted: 13.11.2009 r.