

НЕИОНИЗИРУЮЩИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ

УДК 611.018.46:599.323.4:57.084.1:537.86

**СТИМУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ БЕДРЕННОЙ КОСТИ КРЫС W1STAR
НАНОСЕКУНДНЫМ МИКРОВОЛНОВЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ:
ЗАВИСИМОСТЬ ОТ КОЛИЧЕСТВА ИМПУЛЬСОВ**

© 2023 г. А. А. Гостюхина^{1,2,3}, М. А. Большаков^{1,3}, А. В. Самойлова^{1,3,4,*}, О. С. Дорошенко^{2,3},
М. В. Светлик^{3,4}, О. П. Кутенков¹, К. В. Зайцев², В. В. Ростов¹

¹ Институт сильноточной электроники СО РАН, Томск, Россия

² Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

⁴ Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

*e-mail: kereya21@mail.ru

Поступила в редакцию 19.05.2022 г.

После доработки 01.11.2022 г.

Принята к публикации 09.11.2022 г.

Исследовано влияние наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения (ИПМИ, 50–4000 импульсов, частота повторения импульсов 13 Гц, пППМ 140 Вт/см², несущая частота 10 ГГц) на стимуляцию пролиферации мезенхимальных стволовых клеток. Эффект воздействия оценивался по изменению количества клеток в культуре после однократного облучения с разным количеством импульсов. Наиболее выраженное влияние оказывает воздействие со 100 и 50 импульсами и при этом эффект с максимальной скоростью реализуется через 24 ч.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, стимуляция пролиферации, наносекундные микроволновые импульсы, количество импульсов, крысы Wistar

DOI: 10.31857/S0869803123010083, **EDN:** JXRSGA

Одним из наиболее актуальных аспектов работы в области клеточной биологии являются исследование и использование стволовых клеток в практических целях. Работа над данной проблемой придает ей характер междисциплинарной и объединяет усилия специалистов в области биологии, физики, математики и медицины.

Известно, что важнейшей популяцией стволовых клеток взрослого организма являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Они обладают высоким потенциалом дифференцирования и определенной степенью пластичности [1, 2]. Помимо этого, МСК сохраняют свои свойства даже после замораживания, что обеспечивает их многократное применение [3]. Среди МСК, полученных из таких тканей, как жировая, кровь пуповины, особое место занимают мезенхимальные стволовые клетки, которые получены из красного костного мозга. Известно, что костный мозг может генерировать не только гемопоэтические и мезенхимальные клетки, но и фибробластоподобные клетки [4–6], что актуально для использования в медицинской практике.

Биологические эффекты наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения (ИПМИ) достаточно активно исследовались последние 10 лет [7–9]. Среди прочего в этом плане было экспериментально показано, что облучение культуры клеток костного мозга крыс *in vitro* ИПМИ изменяет скорость их пролиферации [10]. При этом обнаруженный эффект зависел от частоты повторения наносекундных микроволновых импульсов. Воздействие с частотой повторения 13 Гц обеспечивало стимуляцию (на 51% относительно ложнооблученных клеток), а после облучения с частотой повторения импульсов 8 Гц имел место противоположный эффект, выраженный в ингибировании пролиферации клеток на 40% [10]. Переменный характер изменения скорости пролиферации допускает принципиальную возможность управления клеточным ростом посредством воздействия на культуру клеток ИПМИ с определенными параметрами, о чем свидетельствуют результаты, показывающие, что облучение гемопоэтических клеток костного мозга крыс с частотой повторения импульсов

13 Гц при пиковой плотности потока мощности (пППМ) 140 Вт/см^2 эффективно стимулирует пролиферацию [11]. В то же время воздействие при той же интенсивности, но с частотой повторения импульсов 8 Гц, ингибирует деление клеток. Такое реагирование, по мнению авторов, отражает прямое действие ИПМИ на баланс двух или более разнонаправленных клеточных процессов, обеспечивающих в итоге либо стимуляцию, либо ингибирование пролиферации. Изложенные результаты были получены в экспериментах с использованием фиксированного количества импульсов – 4000. Помимо этого, к настоящему времени имеются убедительные данные, полученные при изучении дыхания митохондрий после воздействия различными импульсными излучениями, такими как наносекундные импульсно-периодическое микроволновое, импульсно-периодическое рентгеновское и широкополосное радиочастотное электромагнитное излучение, где эффекты статистически значимо зависели от количества используемых импульсов [12–14].

Исходя из изложенного, целью настоящего исследования было изучить эффект стимуляции пролиферации мезенхимальных стволовых клеток крыс наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением в зависимости от количества воздействующих импульсов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Выделение и культивирование гемопоэтических стволовых клеток. Экспериментальное исследование выполнено на 18 культурах клеток, выделенных из бедренной кости лабораторных крыс “Wistar” общепринятым стандартным методом [15]. Все процедуры с животными выполнялись в соответствии с международными правилами и нормами [16].

Выделенные из костного мозга крыс мононуклеарные клетки культивировались в атмосфере 5%-ного углекислого газа при температуре 37°C и 100%-ной влажности. В процессе культивирования на дне флакона формировались колонии адгезированных мононуклеарных клеток костного мозга. Смена культуральной среды проводилась каждые трое суток для элиминации не прикрепившихся клеток. В результате на 6–7-е сутки образовывалось до 60–70% монослоя, а на 12–14-е сутки культивирования окончательно формировался монослой клеток (95–100%). После завершения культивирования питательную среду сливали. Адгезированные клетки монослоя снимали с поверхности культуральных флаконов и проводили инкубацию в течение 7–10 мин при 37°C в присутствии 5–7 мл 0.25%-ного раствора трипсина (“ПанЭко”, РФ). Полученную клеточную суспензию отмывали чистой питательной средой, после чего оценивали жизнеспособность

клеток и подсчитывали клеточность культуры. Просмотр клеток проводили на микроскопе Optika XDS-2SFL (Италия) при 20-кратном увеличении. Жизнеспособность гемопоэтических стволовых клеток красного костного мозга после культивирования составляла $91.5 \pm 2\%$. В работе было получено 18 культур для проведения эксперимента в трех повторностях. Однократное облучение опытных культур проводилось на 14-е сутки культивирования при достижении клетками 80% степени покрытия культуральной поверхности.

Облучение клеточных культур. Полученные культуры разделяли на группы: контрольная группа – культуры клеток, которые не подвергались никаким воздействиям и располагались в CO_2 инкубаторе; опытные (пять групп) – культуры клеток, которые подвергались однократному воздействию 50, 100, 500, 1000 и 4000 наносекундных импульсов ИПМИ соответственно с пППМ 140 Вт/см^2 и с частотой повторения импульсов 13 Гц. Используемая пиковая плотность потока мощности 140 Вт/см^2 и частота повторения импульсов 13 Гц были выбраны на основе результатов предыдущих экспериментов как наиболее эффективно обеспечивавших стимулирование пролиферации [11]. Пиковая плотность потока мощности определялась и фиксировалась по стандартной методике на основе антенных измерений и калориметрических калибровок [17]. В качестве источника ИПМИ использовали лабораторный импульсный генератор на основе магнетрона МИ-505 (изделие серийного производства ОАО “Тантал”, Россия). Несущая частота генератора составляла 10 ГГц, выходная пиковая мощность 180 кВт, длительность импульсов на половинном уровне мощности 100 нс. В ходе воздействий клеточную культуру помещали на расстоянии 20 см от рупора антенны генератора, в зоне сформировавшейся волны ИПМИ. Во время радиочастотного электромагнитного воздействия возможен нагрев тканей и, соответственно, повышение температуры облучаемой ткани. Для учета этого в процессе воздействия с помощью волоконно-оптического термометра МТ-4МО-1 (Россия) осуществляли температурный контроль, и на основе данных по скорости роста температуры рассчитывали значение УПМ [18]. Для изучения последствий облучения наносекундными импульсными микроволнами культуры стволовых клеток подвергались воздействию ИПМИ через сутки после съема монослоя и его подсчета. Просмотр клеток проводили на микроскопе Optika XDS-2SFL (Италия) при 20-кратном увеличении. Каждая культура до начала эксперимента содержала в себе от 28.8×10^5 до 42.5×10^5 клеток.

Статистическая обработка результатов исследования. При обработке полученных данных

Таблица 1. Пролиферативная активность мезенхимальных стволовых клеток после облучения наносекундным ИПМИ с разным количеством импульсов (пППМ 140 Вт/см², частота повторения импульсов 13 Гц)
Table 1. Proliferative activity of mesenchymal stem cells after irradiation with nanosecond RPMs with different number of pulses (pPFD 140 W/cm², pulse repetition rate 13 Hz)

Группы клеток	Количество клеток (абс. ед.), <i>Me</i> (<i>Q</i> ₁ ; <i>Q</i> ₃)		
	до облучения	через 24 ч	через 72 ч
Контроль	32.5 × 10 ⁵ (25 × 10 ⁵ ; 40 × 10 ⁵)	35 × 10 ⁵ (27.5 × 10 ⁵ ; 42.5 × 10 ⁵)	40 × 10 ⁵ (32.5 × 10 ⁵ ; 47.5 × 10 ⁵)
4000 импульсов	35 × 10 ⁵ (35 × 10 ⁵ ; 35 × 10 ⁵)	41.3 × 10 ⁵ (37.5 × 10 ⁵ ; 45 × 10 ⁵)	47.5 × 10 ⁵ (45 × 10 ⁵ ; 50 × 10 ⁵) <i>p</i> ₁ = 0.007
1000 импульсов	33.8 × 10 ⁵ (25 × 10 ⁵ ; 42.5 × 10 ⁵)	32.5 × 10 ⁵ (30 × 10 ⁵ ; 35 × 10 ⁵)	37.5 × 10 ⁵ (32.5 × 10 ⁵ ; 42,5 × 10 ⁵)
500 импульсов	28.8 × 10 ⁵ (27.5 × 10 ⁵ ; 30 × 10 ⁵)	30 × 10 ⁵ (25 × 10 ⁵ ; 37.5 × 10 ⁵)	33.8 × 10 ⁵ (32.5 × 10 ⁵ ; 35 × 10 ⁵)
100 импульсов	42.5 × 10 ⁵ (30 × 10 ⁵ ; 55 × 10 ⁵)	61.3 × 10 ⁵ (47.5 × 10 ⁵ ; 75 × 10 ⁵) <i>p</i> ₀ = 0.005 <i>p</i> ₁ = 0.0002	66.3 × 10 ⁵ (52.5 × 10 ⁵ ; 80 × 10 ⁵) <i>p</i> ₀ = 0.005 <i>p</i> ₁ = 0.0001
50 импульсов	34.7 × 10 ⁵ (32.5 × 10 ⁵ ; 37 × 10 ⁵)	58.7 × 10 ⁵ (37.5 × 10 ⁵ ; 80 × 10 ⁵) <i>p</i> ₀ = 0.01 <i>p</i> ₁ = 0.0001	63.8 × 10 ⁵ (40 × 10 ⁵ ; 87.5 × 10 ⁵) <i>p</i> ₀ = 0.01 <i>p</i> ₁ = 0.000001

Примечание. Полученные результаты представлены в виде медианы (*Me*) и квартилей (*Q*₁ – 25%; *Q*₃ – 75%), *p*₀ – уровень статистической значимости по отношению к контролю; *p*₁ – уровень статистической значимости до облучения внутри соответствующей группы.

рассчитывали: среднее значение полученных величин (*X*), ошибка среднего (*m*), медиана (*Me*), верхний и нижний квартили (*Q*₁, *Q*₃), использовались критерии сравнения, включающие тест Фридмана и Краскела–Уолиса. Для оценки нормальности распределения применялся тест Шапиро–Уилка. При принятии гипотез о различии уровень статистической значимости составил менее 5% (*p* < 0.05) [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные эксперименты позволили установить некоторые закономерности в изменении пролиферативной активности МСК после их облучения наносекундным ИПМИ (13 Гц, пППМ 140 Вт/см²) с разным количеством импульсов (табл. 1).

В контроле за счет пролиферации количество МСК естественным образом увеличивалось на 1.7% через 24 ч после начала и на 23.1% через 72 ч (табл. 1).

После облучения культуры клеток 4000 импульсов ИПМИ пролиферация усиливалась: через сутки на 18% и через трое суток на 36%. Воз-

действие на культуру 1000 импульсов ИПМИ инициировало слабую, статистически не значимую фазную реакцию: торможение пролиферации на 4% через 24 ч и стимуляцию на 12% через 72 ч после проведенного облучения. Данная тенденция к слабому торможению пролиферации через сутки после облучения может иметь принципиально важное значение (табл. 1).

Наиболее выраженное влияние на пролиферацию МСК оказывало воздействие с наименьшим количеством импульсов. Через 24 ч после использования 100 импульсов пролиферация усилилась на 44%, а через 72 ч эффект стимуляции достиг 56%. Самая кратковременная экспозиция 50 импульсами обеспечила самое сильное стимулирующее влияние на пролиферацию МСК, что увеличило количество клеток через 24 ч на 69% и после трех суток – на 84%. Подобная динамика реагирования на кратковременные воздействия иллюстрирует однозначное стимулирующее влияние наносекундного ИПМИ при малом количестве импульсов, в то время как воздействие 4000 импульсов было существенно менее выражено, а облучение 1000 и 500 импульсами по динамике мало

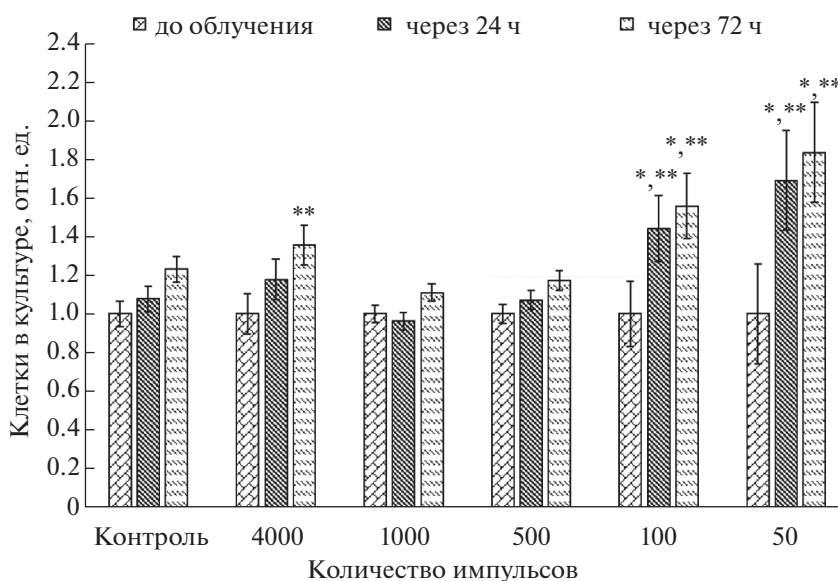


Рис. 1. Изменение пролиферации мезенхимальных стволовых клеток после воздействия наносекундным ИПМИ (пППМ 140 Вт/см², частота повторения импульсов 13 Гц).

Примечание. Представлены среднеарифметические значения относительного показателя количества клеток в культуре ± ошибка среднего. * Различия статистически значимы по отношению к показателям контрольных культур ($p \leq 0.05$); ** различия статистически значимы по отношению к показателю облученных культур до облучения внутри соответствующей группы ($p \leq 0.05$).

Fig. 1. Changes in the proliferation of mesenchymal stem cells after exposure by nanosecond RPM (pPFD 140 W/cm², pulse repetition rate 13 Hz).

Note. Arithmetic mean values of the relative index of the number of cells in culture ± error of the mean presented.

* Differences are statistically significant in relation to the indicators of control cultures ($p \leq 0.05$); ** differences are statistically significant in relation to the indicator of irradiated crops before irradiation within the corresponding group ($p \leq 0.05$).

отличались от показателей пролиферации в контроле (табл. 1).

Облучение клеток наносекундным ИПМИ индуцировало изменение их пролиферации, но динамика изменений полностью определялась количеством использованных импульсов (рис. 1).

Статистическое оценивание эффектов влияния ИПМИ на пролиферацию МСК выявило высокий уровень значимости различий реагирования клеток на воздействие в зависимости от количества импульсов (табл. 1). При этом статистически наиболее значимые различия выявились после облучения культур малым количеством импульсов в сравнении с более продолжительными воздействиями и контролем.

Анализ полученных результатов выявил еще одну особенность реагирования МСК на воздействия именно малым количеством импульсов. Увеличение количества пролиферирующих клеток через 24 ч после воздействия оказалось не пропорционально большим по времени (72 ч) после облучения (рис. 1).

Таким образом, потенциал стимулирующего пролиферацию МСК влияния реализуется сразу же после воздействия малым количеством импульсов и не выявляется при больших экспозици-

ях. Итоговая реакция как баланс двух процессов, по-видимому, имеет сложную, многостадийную схему формирования эффекта.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные, во-первых, подтвердили ранее сделанное заключение о возможности влияния однократного воздействия низкоинтенсивного ИПМИ на пролиферацию стволовых клеток [10, 11]. Представляется, что первичный физический механизм влияния имеет нетепловую природу, особенно в условиях воздействия малым количеством экспозиций, когда полностью отсутствовали признаки повышения температуры. При использованной частоте повторения импульсов 13 Гц и интенсивности ИПМИ 140 Вт/см² нагрев в клеточной культуре после воздействия 4000 импульсов не превышал 0.1°C. На линейном участке роста температуры продолжительностью 40–50 с скорость нагрева была оценена приблизительно как 0.002 градуса за секунду. На основе полученной скорости роста температуры было рассчитано значение удельной поглощенной мощности (УПМ), которая составила около 1.0 Вт/кг. Естественно, что при более кратковременных воздей-

ствиях на объект (100 и 50 импульсов) измеряемое повышение температуры отсутствовало. Была проведена оценка расчетного прироста температуры на основе скорости нагрева, и при экспозициях 100 импульсов (8 с) и 50 импульсов (4 с) перегрев клеток не превышал 0.016 и 0.008 градуса. Полученные оценки определено указывали на нетепловой механизм формирования эффекта, физическая природа которого пока не определена.

Во-вторых, была экспериментально подтверждена зависимость формируемого эффекта от количества воздействующих импульсов, что может способствовать оптимизации дизайна экспериментов для достижения определенных результатов исследования. При этом остается понять и объяснить, почему большая стимуляция пролиферации МСК обеспечивается воздействиями с меньшим количеством электромагнитных импульсов.

Увеличение количества МСК в контроле на 1.7% через 1 сут и на 23% через 3 сут после начала эксперимента естественным образом происходило за счет пролиферации. Однако наличие тенденции к развитию фазной реакции воздействием на культуру 1000 импульсов ИПМИ: торможение пролиферации на 4% через сутки и стимуляцию на 12% через 3 сут, может иметь принципиально важное значение при рассмотрении предполагаемого механизма влияния. Физиологический механизм формирования эффекта ИПМИ на МСК можно рассматривать как результат баланса контроля скорости пролиферации двумя противоположно регулирующими молекулярно-клеточными системами, запускаемыми воздействием ИПМИ. При этом система, ответственная за активацию пролиферации, является менее инерционной, с более быстрой кинетикой срабатывания, и по этой причине основной прирост скорости пролиферации после воздействия 100 и 50 импульсов ИПМИ происходит через 1 сут после воздействия. Однако система ингибирования пролиферации запускается с некоторой задержкой и при 1000-импульсном воздействии она срабатывает и препятствует усилению пролиферации. После воздействия 500 импульсами ИПМИ система торможения срабатывает в меньшей степени и поэтому скорость пролиферации оказывается близка к значениям контроля.

К сожалению, пока нет возможности четко идентифицировать конкретные мишени стимуляции или ингибирования. Из общих соображений, согласно постулатам системной биологии, на поведение клеток сильно влияет их локальное окружение или ниша (niches) [20, 21]. Поэтому окружение стволовых клеток влияет на их самообновление, адгезию к белкам внеклеточного матрикса, контакт с соседними клетками, существенным является также воздействие секретиро-

ванных или физических факторов [20, 21]. Следовательно, важно идентифицировать сигналы окружения, которые и управляют дифференцированием стволовых клеток.

В управлении дифференцированием клеток необходимо рассматривать не только пути передачи сигналов, но и время их проведения, уровень и длительность конкретного сигнала, поскольку эти переменные влияют на сам физиологический клеточный ответ [22], в реализации чего ключевую роль могут играть ионы кальция [23].

Можно предположить, что использованное в исследовании ИПМИ с малым количеством импульсов (100 и 50) активировало сигнальные системы окружения клеток костного мозга, и это стимулировало активацию пролиферации. Последнее обстоятельство весьма интересно с той точки зрения, что по модели Эйди эффекты модулированных электромагнитных излучений во многом обусловлены Ca^{2+} зависимыми процессами [24]. Возможно, наблюдаемые различные физиологические проявления клеточной активности связаны с наличием эндогенных волн Ca^{2+} , регулирующих самые разнообразные внутриклеточные процессы, в том числе и пролиферацию, а также участвующих во внеклеточных взаимодействиях МСК [23, 25, 26].

Исходя из задач разработки и управления технологиями получения стволовых клеток посредством импульсно-периодического микроволнового излучения, необходимо, помимо установления оптимальных значений интенсивности и частоты повторения импульсов, определять также оптимальное количество импульсов ИПМИ применительно к различным ситуациям [27]. Одной из практически важных задач клеточной терапии является быстрое, оперативное получение значительного количества замещающих поврежденную ткань клеток, репродуцируемых из стволовых, и это может быть успешно реализовано посредством наносекундной импульсной технологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Burdon T.J., Paul A., Noiseux N. et al.* Bone marrow stem cell derived paracrine factors for regenerative medicine: current perspectives and therapeutic potential // *Bone Marrow Res.* 2011. V. 2011. P. 207326. <https://doi.org/10.1155/2011/207326>
2. *Marfia G., Navone S.E., Di Vito C. et al.* Mesenchymal stem cells: potential for therapy and treatment of chronic non-healing skin wounds // *Organogenesis.* 2015. V. 11. № 4. P. 183–206. <https://doi.org/10.1080/15476278.2015.1126018>
3. *Foubert P., Gonzalez A.D., Teodosescu S. et al.* Adipose-derived regenerative cell therapy for burn wound healing: a comparison of two delivery methods // *Adv*

- Wound. Care. 2016. V. 5. № 7. P. 288–298.
<https://doi.org/10.1089/wound.2015.0672>
4. *Fathke C., Wilson L., Hutter J. et al.* Contribution of bone marrow-derived cells to skin: collagen deposition and wound repair // *Stem. Cells.* 2004. V. 22. № 5. P. 812–822.
<https://doi.org/10.1634/stemcells.22-5-812>
 5. *Chino T., Tamai K., Yamazaki T. et al.* Bone marrow cell transfer into fetal circulation can ameliorate genetic skin diseases by providing fibroblasts to the skin and inducing immune tolerance // *Am. J. Pathol.* 2008. V. 173. № 3. P. 803–814.
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070977>
 6. *Sasaki M., Abe R., Fujita Y. et al.* Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type // *J. Immunol.* 2008. V. 180. № 4. P. 2581–2587.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.4.2581>
 7. *Керяя А.В., Большаков М.А., Ходанович М.Ю. и др.* Оценка реакции мозга мышей на воздействие наносекундных микроволновых импульсов по экспрессии белка c-fos // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2017. Т. 57. № 2. С. 179–184. [*Kereya A.V., Bolshakov M.A., Khodanovich M.Yu. et al.* Evaluation of mice brain reactions after nanosecond microwave pulses using c-fos expression // *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya.* 2017. V. 57. № 2. P. 179–184. (In Russ.)].
<https://doi.org/10.7868/S0869803117020072>
 8. *Керяя А.В., Большаков М.А., Жаркова Л.П. и др.* Поведенческая активность и уровень кортикостерона в сыворотке крови мышей в динамике семидневного воздействия наносекундным импульсным микроволновым излучением // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2021. Т. 61. № 2. С. 168–174. [*Samoilova A.V., Bolshakov M.A., Zharkova L.P. et al.* Behavioral activity and corticosterone level in the mice blood serum during the 7-day exposure to nanosecond microwave pulses // *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya.* 2021. V. 61. № 2. P. 168–174. (In Russ.)].
<https://doi.org/10.31857/S0869803121020107>
 9. *Керяя А.В., Большаков М.А., Жаркова Л.П. и др.* Эффект воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения на эпидидимальную жировую ткань мышей // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014. Т. 54. № 6. С. 606–612. [*Kereya A.V., Bolshakov M.A., Zharkova L.P. et al.* Effekt vozdeystviya nanosekundnogo impul'sno-periodicheskogo mikrovolnovogo izlucheniya na epididimal'nyu zhirovuyu tkan' myshej // *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya.* 2014. V. 54. № 6. P. 606–612. (In Russ.)].
<https://doi.org/10.7868/S0869803114060071>
 10. *Керяя А.В., Гостюхина А.А., Межеричицкий С.А. и др.* Пролиферативная активность клеток костного мозга крыс после облучения наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением // *Совр. вопр. биомедицины.* 2019. Т. 3. № 2 (7). С. 6–22. [*Kereya A.V., Gostyukhina A.A., Mezheritskiy S.A. et al.* Proliferative activity of bone marrow mononuclear cells of rats after irradiation by nanosecond microwave pulses // *Sovremennye voprosy biomeditsiny.* 2019. V. 3. № 2 (7). P. 6–22. (In Russ.)].
 11. *Самойлова А.В., Гостюхина А.А., Большаков М.А. и др.* Возможности управления пролиферацией гемопоэтических стволовых клеток посредством наносекундных импульсных микроволн // *Совр. Вопр. биомедицины.* 2021. Т. 5. № 1 (14). С. 15. [*Samoilova A.V., Gostyukhina A.A., Bolshakov M.A. et al.* Possibilities to control the proliferation of hematopoietic stem cells after irradiation by nanosecond microwave pulses // *Sovremennye voprosy biomeditsiny.* 2021. V. 5. № 1 (14). P. 15. (In Russ.)].
https://doi.org/10.51871/2588-0500_2021_05_01_15
 12. *Князева И.Р., Большаков М.А., Кутенков О.П. и др.* Mitochondrial respiration after exposure to nanosecond microwave pulses: dependence on the number of pulses // *Изв. высш. учеб. заведений. Физика.* 2016. Т. 59. № 9–2. С. 70–73. [*Knyazeva I.R., Bolshakov M.A., Kutenkov O.P.* Mitochondrial respiration after exposure to nanosecond microwave pulses: dependence on the number of pulses // *Russian Physics Journal.* 2016. V. 59. № 9–2. P. 70–73 (In Russ.)]
 13. *Жаркова Л.П., Князева И.Р., Большаков М.А. и др.* Ингибирование дыхания митохондрий после воздействия наносекундным рентгеновским излучением с разным количеством импульсов // *Международ. науч.-практ. конф. “Современные парадигмы научных воззрений”.* Санкт-Петербург, 2016. С. 6–8. [*Zharkova L.P., Knyazeva I.R., Bolshakov M.A. et al.* Ingibirovanie dyhaniya mitohondriy posle vozdeystviya nanosekundnym rentgenovskim izlucheniem s raznym kolichestvom impul'sov // *Mezhdunar. nauchno-prakt. konf. “Sovremennye paradigmy nauchnyh vozrenij”.* (Conf. proc.) Sankt-Peterburg, 2016. P. 6–8. (In Russ.)]
 14. *Zharkova L.P., Romanchenko I.V., Bolshakov M.A., Rostov V.V.* Effect of nanosecond RF pulses on mitochondrial membranes // *Russian Physics Journal.* 2017. V. 60. № 8. P. 1314–1318.
<https://doi.org/10.1007/s11182-017-1214-4>
 15. *Шахов В.П. и др.* Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей. Томск: STT, 2004. 386 с. [*Shahov V.P. i dr.* Vvedenie v metody kultury kletok, bioinzhenerii organov i tkanej. Tomsk: STT, 2004. 386 s. (In Russ.)]
 16. *РФ ГОСТ Р-53434-2009* Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ, 2010. (In Russ.)]
 17. *Klimov A.I., Eltchaninov A.A., Konobeeva E.Yu.* Measurements of Parameters of X-Band High-Power Microwave Pulses // *Russian Physics Journal.* 2006. V. 49. № 11. P. 431–434.
 18. *Bolshakov M.A., Alekseev S.I.* Bursting Responses of Lymnaea Neurons to Microwave Radiation // *Bioelectromagnetics.* 1992. V. 13. № 3. P. 119–129.
<https://doi.org/10.1002/bem.2250130206>
 19. *Медик В.А.* Статистика в медицине и биологии. М.: Медицина, 2000. 412 с. [*Medic V.A.* Statistics in medicine and biology. M.: Medicine, 2000. 412 p. (In Russ.)]
 20. *Watt F.M., Hogan B.L.M.* Out of Eden: Stem Cells and Their Niches // *Stem. Cell Res. Ethics.* 2000. V. 287.

- P. 1427–1430.
<https://doi.org/10.1126/science.287.5457.1427>
21. Morrison S.J., Spradling A.C. Stem cells and niches: Mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life // *Cell*. 2008. V. 132. P. 598–611.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.038>
 22. Silva-Vargas V., Lo Celso C., Giangreco A. et al. Beta-catenin and Hedgehog signal strength can specify number and location of hair follicles in adult epidermis without recruitment of bulge stem cells // *Dev Cell*. 2005. V. 9. № 1. P. 121–31.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2005.04.013>
 23. Москвин С.В., Ключников Д.Ю., Антипов Е.В и др. Воздействие непрерывного низкоинтенсивного лазерного излучения красного (635 нм) и зеленого (525 нм) спектров на мезенхимальные стволовые клетки человека in vitro: обзор литературы и собственные исследования // *Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2016. № 2. С. 32–42. [Moskvin S.V., Klyuchnikov D. Yu., Antipov E.V. et al. The influence of continuous low-intensity laser radiation of the red (635 nm) and red (525 nm) spectra on the human mesenchymal stem cells in vitro: a review of the literature and the results of original investigations // *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoy kul'tury*. 2016. № 2. P. 32–42. (In Russ.)]
<https://doi.org/10.17116/kurort2016232-42>
 24. Adey W.R. Biological effects of electromagnetic fields // *J. Cell. Biochem*. 1993. V. 51. № 4. P. 410–416.
 25. Chen Y., Bai B., Zhang S. et al. Effects of parathyroid hormone on calcium ions in rat bone marrow mesenchymal stem cells // *BioMed. Res. Int*. 2014.
<https://doi.org/10.1155/2014/258409>
 26. Kim T.J., Joo C., Seong J. et al. Distinct mechanisms regulating mechanical force-induced Ca(2+) signals at the plasma membrane and the ER in human MSCs // *eLife*. 2015.
<https://doi.org/10.7554/eLife.04876>
 27. Samoylova A., Gostyukhina A., Rostov V. et al. Dynamics of burn wound healing in rats irradiated by nanosecond microwave pulses // *Biomed. J. Sci. Techn. Res*. 2020. V. 32. № 2. P. 24791–24792.
<https://doi.org/10.26717/BJSTR.2020.32.005216>

Stimulation of Mesenchymal Stem Cells Proliferation from the Femur of Wistar Rats by Nanosecond Microwave Radiation: Dependence on the Number of Pulses

A. A. Gostyuhina^{a,b,c}, M. A. Bolshakov^{a,c}, A. V. Samoylova^{a,c,d,#}, O. S. Doroshenko^{b,c}, M. V. Svetlik^{c,d}, O. P. Kutenkov^a, K. V. Zaitsev^b, and V. V. Rostov^a

^aInstitute of High Current Electronics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

^bFederal Scientific and Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

^cNational Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

^dSiberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia

#e-mail: kereya21@mail.ru

The effect of nanosecond repetitively pulsed microwave radiation (RPM, 50–4000 pulses, pulse repetition rate of 13 Hz, peak power flux density of 140 W/cm², carrier frequency of 10 GHz) on the stimulation of mesenchymal stem cells (MSC) proliferation was studied. The effect of exposure was assessed by the change in the number of cells in the culture after a single irradiation with a different number of pulses. The most pronounced effect exerted by the impact with 100 and 50 pulses, and the effect is realized with a maximum speed after 24 hours.

Keywords: mesenchymal stem cells, stimulation of proliferation, nanosecond microwave pulses, number of pulses, rats