

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ЛАЗЕРОВ И СВЕТОДИОДОВ МЕТОДОМ АКТИВИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ

Владимиров Ю.А., Жидкова Т.В., Проскурнина Е.В., Измайлов Д.Ю.

Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова,
Ломоносовский пр., д. 31, корп. 5, г. Москва, 119192 Россия,
тел.: +7(499)147-55-08, e-mail: yuvlad@mail.ru

Существуют три основных механизма действия излучения лазеров и светодиодов на клетки, ткани и организм человека и животных: фотодинамический, основанный на реакциях, вызванных действием эндогенных порфиринов; NO-зависимый, основанный на фотолизе комплексов монооксида азота с гемовыми белками, и супероксиддисмутазный, связанный с увеличением активности супероксиддисмутазы в крови и твердых тканях облученного организма.

Фотодинамическая активация липидной пероксидации в лейкоцитах крови служит основным механизмом биостимулирующего действия лазерного и светодиодного излучения красного диапазона спектра. Главным методом, позволившим собрать данные, доказывающие фотодинамическую теорию действия излучения лазеров и светодиодов, был метод активированной хемилюминесценции лейкоцитов крови.

Ключевые слова: лазерное излучение, светодиодное излучение, лейкоциты, хемилюминесценция, хемилюминометр.

Введение

Гелиотерапия была известна тысячи лет назад во многих странах, включая Египет, Грецию, цивилизации майя и ацтеков. Искусственный источник УФ излучения был впервые использован в терапевтических целях в Дании: в конце XIX в. доктор Н.Р.Финсен применял ультрафиолетовое излучение для терапии туберкулезной волчанки; лечение пациентов, страдающих от оспы, он проводил красным светом [21]. Во второй половине XX в. были созданы принципиально новые источники света – лазеры различной мощности, которые нашли применение в хирургии и терапии; позже появились светодиоды. Одним из первых (1960 г.) был изобретен рубиновый лазер (длина волны излучения 694,3 нм) [36], который был использован в офтальмологии и дерматологии. Но настоящий бум в терапевтическом применении лазеров начался после изобретения в 1961 г. He-Ne лазера (632,8 нм) [25], который вскоре стал самым востребованным источником света в физиотерапии. В настоящее время низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) и излучение светодиодов широко используется физиотерапевтами, кардиологами, пульмонологами, стоматологами,

дерматологами, ревматологами и врачами других специальностей. Круг применения лазеров и светодиодов в медицине непрерывно расширяется.

Биостимулирующее действие НИЛИ

Для понимания механизма благотворного действия НИЛИ большую роль сыграли опыты на биохимических системах, суспензиях клеток, живых тканях и на лабораторных животных. Первые работы были посвящены влиянию видимого и ближнего инфракрасного излучения на скорость потребления кислорода и фосфорилирования митохондриями [24, 40, 41, 44]. Появились первые гипотезы о механизме фотохимических реакций, ответственных за действие лазерного излучения на эти структуры.

Согласно одной из них - гипотезе *синглетного кислорода*, поглощающие свет молекулы (порфирины и флавопротеины дыхательной цепи митохондрий) способствуют образованию синглетного кислорода, который обладает высокой реакционной активностью и может стимулировать синтез ДНК и РНК [29]. Как именно это происходит, остается пока неясным.

Согласно второй гипотезе, НИЛИ оказывает влияние на *окислительно-восстановительные свойства переносчиков* электрона и, тем самым, на скорость потока электронов в молекуле [28]. Также и в этой гипотезе молекулярный механизм влияния света на скорость переноса электронов остался необъясненным.

С этой точки зрения особенно большой интерес, как нам представляется, имеют ставшие классическими работы Т.Кару на HeLa клетках [30, 31, 32], в которых были получены спектры действия и был сделан вывод о том, что в красной и инфракрасной областях спектра первичным акцептором света служит цитохром с-оксидаза.

Три гипотезы о механизме биостимулирующего действия лазерного излучения

В 1994 г. на основании литературных и собственных экспериментальных данных нами были сформулированы три гипотезы о механизме действия НИЛИ на клетки и организм человека [1].

Согласно первой гипотезе о *фотодинамическом действии* лазерного излучения, после поглощения фотона молекулой эндогенного порфирина инициируется цепная реакция перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах клеток и митохондрий. Процесс ПОЛ приводит к увеличению проницаемости мембран клеток и митохондрий, росту концентрации ионов кальция в клетках и последующей активации внутриклеточных процессов.

В качестве второго механизма была предложена *фотореактивация фермента супероксиддисмутазы (СОД)*, объясняющая большое число наблюдаемых эффектов воздействия НИЛИ восстановлением активности СОД, инактивированной при снижении рН [5, 6, 45]. Как известно, низкие значения рН характерны для очагов ишемии и воспаления [19, 20, 39]. В недавних исследованиях, проведенных в нашей лаборатории Т.В.Жидковой, факт инактивации СОД при рН 5,9-6,0 подтвержден не был, и таким образом, можно предположить, что наблюдаемое во многих случаях возрастание активности СОД после лазерного облучения обусловлено не фотореактивацией фермента, а активацией его биосинтеза [11, 15, 16].

Третья гипотеза о возможности *фотолиза NO-содержащих комплексов* лазерным излучением была предложена на основании аналогии таких комплексов с комплексами гемопротеинов с окси-

дом углерода, чувствительность которых к свету общеизвестна.

Молекулярные основы фотодинамической гипотезы

Гипотеза о фотодинамическом действии лазерного излучения была сформулирована в 1994 году [1] в качестве первой гипотезы действия НИЛИ на клетки и организм в целом. Она основывалась на четырех известных к тому времени фактах: 1) при действии НИЛИ на лимфоциты животных наблюдается увеличение концентрации кальция в цитоплазме [27]; 2) при облучении изолированных мембран в присутствии гемато-порфирина происходит липидная перекисидация [17]; 3) липидная перекисидация приводит к подавлению активного транспорта ионов кальция в мембранах эндоплазматического ретикулума [7, 8] и митохондрий [46], а также к увеличению проницаемости мембран для этих ионов; 4) при действии на лейкоциты крови продуктов липид-

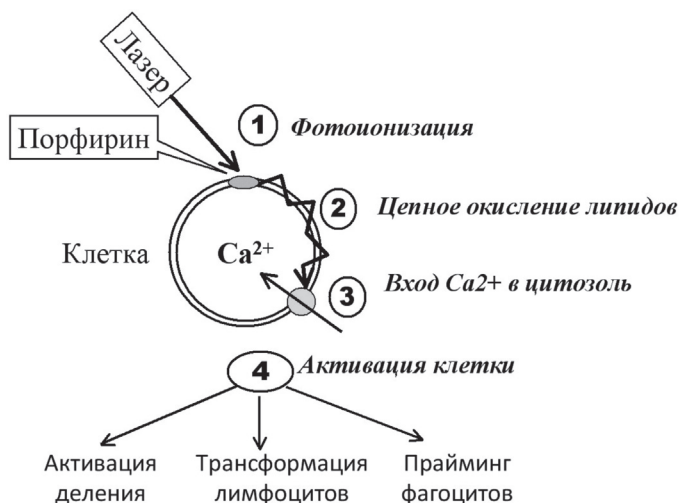


Рис. 1. Последовательность событий при действии НИЛИ на клетки согласно фотодинамической гипотезе [1]

ной перекисидации наблюдается прайминг этих клеток [35], что проявляется в более мощном «респираторном взрыве» (см. ниже) в ответ на действие стимула.

Согласно данной гипотезе, последовательность событий при действии НИЛИ на клетки может быть представлена в следующем виде (рис. 1): поглощение фотона фотосенсибилизатором (ФС) → усиление процесса ПОЛ в мембранах клеток и митохондриях → увеличение концентрации ионов кальция в клетках → активация внутриклеточных процессов (предстимуляция фагоцитов и усиление их бактерицидной способности, стимуляция клеточного деления и другие эффекты). Предполага-

лось, что первичным акцептором являются порфирины, образующиеся в очень малых количествах в тканях человека и животных.

Хотя высокая фотодинамическая активность порфиринов хорошо известна [47], впервые их способность вызывать пероксидацию липидов и накопление продуктов ПОЛ в модельной системе была показана в работе Г.И.Клебанова и соавт. [12]. Было обнаружено, что при воздействии НИЛИ с длиной волны 632,8 нм на многослойные липосомы в присутствии производных гематопорфирина происходит накопление продуктов ПОЛ в зависимости от дозы облучения. При этом азид натрия (тушитель синглетного кислорода) вызывал снижение уровня ПОЛ при облучении. А в отсутствии гематопорфирина накопления продуктов ПОЛ не происходило. Таким образом, одними из первичных акцепторов НИЛИ в красной области спектра являются эндогенные порфирины, которые, во-первых, способны поглощать свет в этой области спектра и, во-вторых, инициировать образование активных форм кислорода, главным образом синглетного, в результате чего происходит пероксидация липидов.

Дальнейшие исследования подтвердили вывод о том, что основное действие НИЛИ в клеточных структурах обусловлено его влиянием на образование свободных радикалов. Было показано, что красное НИЛИ в присутствии экзогенных ФС инициирует ПОЛ мембран липосом [12], липопротеидов плазмы крови [43], мембран эритроцитов [14, 17].

Предстимуляция (priming) лейкоцитов при действии НИЛИ

Гемоглобин крови хорошо поглощает свет во всем видимом диапазоне длин волн вплоть до примерно 620 нм, но красный свет с длиной волны 632,8 нм проникает в ткани достаточно глубоко. При этой длине волны гематопорфирины обладают значительным поглощением и могут sensibilizировать липопероксидацию в мембранах клеток крови. Это приводит к накоплению продуктов перекисного окисления мембранных липидов в клетках крови, в том числе в мембранах лейкоцитов. Следствием этого является увеличение концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток под действием лазерного облучения [13].

Выход большого количества ионов кальция в цитоплазму приводит к включению механизма самосборки ферментативного комплекса NADPH-оксидазы на цитоплазматической мембране [10] и запуску реакции образования пары супероксидных радикалов в результате одноэлектронного восстановления двух молекул O₂ за счет окисления NADPH до NADP⁺ [9, 10, 22, 38, 42]. Бурное выделение супероксидных радикалов с одновременным поглощением кислорода называют в литературе «дыхательным (респираторным) взрывом». Это явление может быть вызвано действием физических факторов (например, электрического импульса) или химических веществ - переносчиков ионов кальция, опсонизированного зимозана, ФМА, фМЛФ.

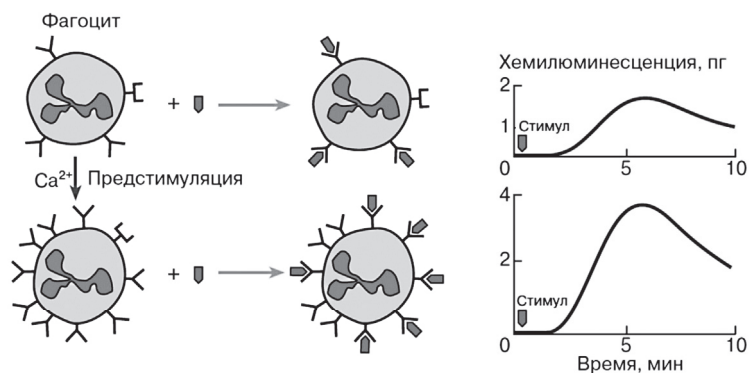


Рис. 2. Предстимуляция (прайминг), регистрируемая по усилению ответа клеток на стимул (опсонизированный зимозан) после воздействия НИЛИ [2]. Прайминг вызван фотосенсибилизированным процессом ПОЛ, которое приводит к входу кальция в клетку и увеличению числа рецепторов для стимула на поверхности клетки и, как следствие, к более мощному выбросу активных форм кислорода

Однако при действии даже довольно высоких доз облучения до этого дело обычно не доходит. Само по себе излучение лазеров и светодиодов при его неповреждающей мощности стимуляции клеток не вызывает, но и не проходит бесследно. Г.И.Клебановым и сотрудниками [34] было показано, что лазерное облучение при плотности дозы до 5 Дж/см² приводит к «предстимуляции» или *праймингу* лейкоцитов [37]. Предстимулированные клетки дают в 2-3 и более раз более сильный «дыхательный взрыв» (выброс свободных радикалов), чем исходные, необлученные лейкоциты (рис. 2).

Системное действие излучения лазеров и светодиодов

Вызванное облучением клеток крови усиление выброса радикалов в ответ на стимул – важный эффект воздействия излучением лазеров и светодиодов, поскольку антимикробная защита осуществляется именно активными формами кислорода,

т. е. совокупностью активных частиц, образующихся из супероксидных радикалов (пероксид водорода, гидроксильные радикалы, гипохлорит). Но это - не единственное благоприятное последствие облучения. Предстимулированные лейкоциты вы-

числения лазеров и светодиодов на человека и животных. Самый распространенный метод анализа функциональной активности лейкоцитов (гранулоцитов и моноцитов) – это измерение хемилюминесценции (ХЛ), активированной люминолом или люцигенином [3, 4]. Использование измерения клеточной хемилюминесценции в практике фототерапии позволило бы решить целый ряд важных задач.

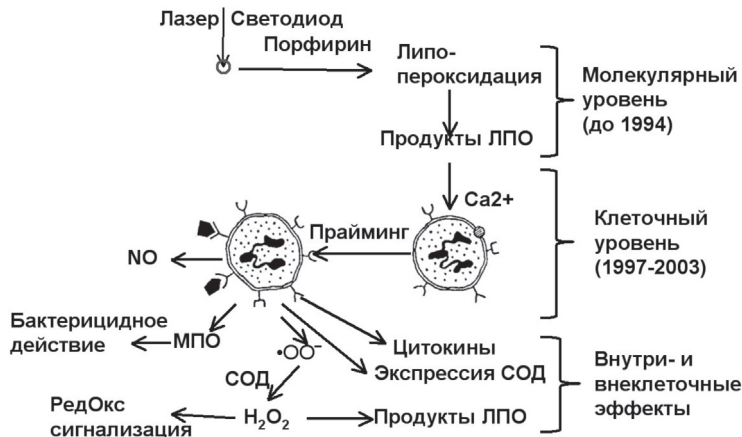


Рис. 3. Эволюция фотодинамической гипотезы (в схеме использованы фрагменты рис. 3 из работы [34])

брасывают в кровь много других важных соединений, включая монооксид азота и цитокины. Это вызывает системный ответ всего организма, поскольку облученные в одном месте лейкоциты разносятся по всему организму с током крови (рис. 3).

Таким образом, НИЛИ, действуя на лейкоциты в месте облучения, вызывает системный ответ (рис. 4). Одним из важных эффектов при этом является влияние облучения на микроциркуляцию крови [33]. Хорошо известна ведущая роль монооксида азота в улучшении микроциркуляции [23] крови, а пероксинитрита (ONOO^-) [18, 26] - в ее нарушении. Облученные нейтрофилы выделяют больше монооксида азота за счет усиления биосинтеза NO-синтетазы [11]. С другой стороны, усиленная продукция супероксида может вызывать образование пероксинитрита в его реакции с NO [26]. А это окажет негативное действие как на микроциркуляцию, так и на другие функции окружающих клеток и тканей [18, 26].

Активированная хемилюминесценция – эффективный метод изучения действия НИЛИ на клетки

Изменение функции лейкоцитов – ключевое звено в локальном и системном действии излу-

определения тактики дальнейшего лечения или выбора профилактических мероприятий.

Изменение ХЛ ответа в результате облучения пробы крови светом лазера или светодиода позволяет оценить восприимчивость фагоцитов крови данного пациента к облучению. Эта характеристика зависит, прежде всего, от содержания в крови гемато-порфирина, но также и от других факторов. Она крайне важна для определения дозы облучения, оптимальной для данного пациента. Эти дозы различаются у разных людей и должны быть подобраны индивидуально.

При проведении сеансов фототерапии необходимо контролировать результат по ряду показателей, в том числе по показателю функциональной активности фагоцитов крови

до и после облучения пробы крови. Это позволит вносить коррективы в дальнейшие процедуры.

Однако метод измерения клеточной ХЛ пока не нашел должного распространения в работе лечебных и профилактических учреждений.

С одной стороны, это вызвано отсутствием стандартизованных методов ХЛ анализа функциональной активности клеток крови. Хотя в литературе много работ по изучению активности клеток крови с помощью ХЛ, все они существенно различаются по способу подготовки пробы; способу и длитель-

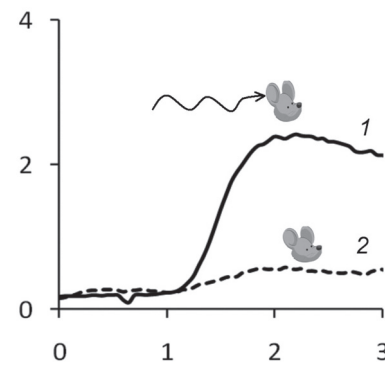


Рис. 4. Влияние облучения уха животного гелий-неоновым лазером на активность лейкоцитов, выделенных из периферической крови: 1 – облученные животные, 2 – без облучения

ности хранения образца крови между ее забором и проведением анализа; способу стимулирования клеток; условиям регистрации, включающим температуру, состав среды, способ перемешивания и длительность измерений; последовательности ввода реагентов и по другим критериям.



Рис. 5. Хемилюминометр Lum-100

С другой стороны, отсутствует и специализированная аппаратура для ХЛ анализа функциональной активности клеток. Выпускаемые промышленностью приборы ориентированы, главным образом, на биохимические и иммуноферментные анализы и, как правило, не обладают техническими возможностями для проведения анализа клеточной ХЛ. Такая аппаратура недостаточно чувствительна для измерения сверхслабой ХЛ клеток; в ней не обеспечиваются условия для поддержания нормального функционального состояния клеток (термостатирование, аэрация) и для ввода стимулирующих реагентов. К тому же она предназначена для измерения единичных значений интенсивности свечения каждого образца, в то время как для анализа функциональной активности клеток требуется измерение кинетики ХЛ, т. е. регистрация изменения клеточного ответа с течением времени.

Для решения этих проблем нашим коллективом разработаны хемилюминесцентная методика

анализа активности фагоцитарных клеток крови и специализированный прибор – хемилюминометр, предназначенный для проведения анализов по этой методике (www.chemilum.ru). Принципиальной особенностью разработанной хемилюминесцентной методики является предварительная стимуляция (предстимуляция) клеток, приводящая к максимальному клеточному ответу на основной стимул и, соответственно, к повышению воспроизводимости и точности результатов анализов.

Разработанный хемилюминометр Lum-100 (рис. 5) является кюветным измерительным прибором, обеспечивающим все необходимые условия для определения функционального состояния клеток. В нем для измерения интенсивности свечения используется фотоэлектронный умножитель, работающий в режиме счета фотонов, что позволяет получить максимальную чувствительность измерений. Прибор Lum-100 содержит встроенный термостат для поддержания физиологической температуры исследуемого образца, а также обеспечивает возможность аэрации образцов и ввода дополнительных реагентов в процессе измерения.

Управление хемилюминометром Lum-100 осуществляется с помощью персонального компьютера с универсальным программным обеспечением PowerGraph (www.powergraph.ru), обеспечивающим регистрацию и анализ кинетики хемилюминесценции. Кроме того, прибор Lum-100 отличается компактными размерами и низким энергопотреблением (при отключенном термостате), что позволяет использовать его в мобильных измерительных системах.

Разработанные хемилюминесцентная методика анализа активности фагоцитарных клеток крови и хемилюминометр Lum-100 могут быть использованы для подбора оптимальных доз лазерного и светодиодного облучения и для контроля за эффективностью фототерапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ.

Литература

1. Владимиров Ю.А. Три гипотезы о механизме действия красного (лазерного) света // Эфферентная медицина.- М.: НИИ физико-химической медицины, 1994.- С.23-35.
2. Владимиров Ю.А. Лазерная терапия: настоящее и будущее // Соросовский образовательный журнал.- 1999.- №12.- С.2-8.
3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю.А.Владимиров, Е.В.Проскурнина // Успехи биологической химии.- 2009.- Т.49.- С.341-388.
4. Владимиров Ю.А. Хемилюминесценция клеток

- животных / Ю.А.Владимиров, М.П.Шерстнев // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика.- 1989.- Т.24.- 176 с.
5. Горбатенкова Е.А. Реактивация супероксиддисмутазы излучением гелий-неонового лазера / Е.А.Горбатенкова, О.А.Азизова, Ю.А.Владимиров // Биофизика.- 1988.- Т.33.- С.717-718.
6. Горбатенкова Е.А. Красный свет гелий-неонового лазера реактивирует супероксиддисмутазу / Е.А.Горбатенкова, Ю.А.Владимиров, Н.В.Парамонов, О.А.Азизова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 1989.- Т.57, №3.- С.302-305.
7. Каган В.Е. Зависимость структурно-функциональ-

ных перестроек мембран саркоплазматического ретикула от перекисного окисления / В.Е.Каган, О.А.Азизова, Ю.В.Архипенко // Биофизика.- 1983.- Т.28.- С.629-631.

8. Каган В.Е. Взаимосвязь структурных и функциональных перестроек в мембранах саркоплазматического ретикула при перекисном окислении липидов / В.Е.Каган, О.А.Азизова, Ю.В.Архипенко // Биофизика.- 1977.- Т.22, №4.- С.625-630.

9. Кару Т.И. Фотосенсибилизирующая инактивация опухолевых клеток фталоцианинами / Т.И.Кару, Т.П.Рябых, Г.Е.Федосеева // Радиобиология.- 1989.- Т.29, №2.- С.230-234.

10. Клебанов Г.И. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов / Г.И.Клебанов, Ю.А.Владимиров // Успехи современной биологии.- 1999.- Т.119, №5.- С.462-475.

11. Клебанов Г.И. Изменение активности супероксиддисмутазы и содержания пероксинитрита в перитонеальных макрофагах, подвергнутых облучению He-Ne лазером / Г.И.Клебанов, Е.А.Полтанов, Т.В.Чичук // Биохимия.- 2005.- Т.70, №12.- С.1335-1340.

12. Клебанов Г.И. Влияние липофильных антиоксидантов на фотосенсиблированную производными гематопорфирина пероксидацию липосомальных мембран при облучении гелий-неоновым лазером / Г.И.Клебанов, Е.Ф.Странадко // Биологические мембраны.- 1996.- Т.13, №2.- С.133-137.

13. Клебанов Г.И. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на пероксидацию мембранных липидов и концентрацию ионов кальция в цитозоле фагоцитов / Г.И.Клебанов, Т.В.Чичук, Ю.А.Владимиров // Биологические мембраны.- 2001.- Т.18, №1.- С.42-50.

14. Клебанов Г.И. Фотосенсиблированный производными гематопорфирина или фталоцианином гемолиз эритроцитов при лазерном облучении / Г.И.Клебанов, Т.В.Чичук, Л.И.Шутова // Биологические мембраны.- 1997.- Т.14, №5.- С.486-494.

15. Клебанов Г.И. Сравнительное исследование действия излучения лазера и светодиодов на перекисное окисление липидов в раневом экссудате крыс / Г.И.Клебанов, Н.Ю.Шураева, Т.В.Чичук // Биофизика.- 2006.- Т.51, №2.- С.332-339.

16. Клебанов Г.И. Сравнительное исследование действия лазерного и светодиодного излучения на активность супероксиддисмутазы и продукцию оксида азота в раневом экссудате крыс / Г.И. Клебанов, Н.Ю. Шураева, Т.В. Чичук // Биофизика - 2006. - Т.51, №1. - С. 116-122.

17. Bachowski G.J. Porphyrin-sensitized photoreactions in the presence of ascorbate: oxidation of cell membrane lipids and hydroxyl radical traps / G.J.Bachowski, K.M.Morehouse, A.W.Girotti // Photochem. Photobiol.- 1988.- Vol.47, №5.- P.635-645.

18. Ducrocq C. Peroxynitrite: an endogenous oxidizing and nitrating agent / C.Ducrocq, B.Blanchard, B.Pignatelli, H.Ohshima // Cell Mol. Life Sci.- 1999.- Vol.55, №8-9.- P.1068-1077.

19. Dunbar J.C. Kinetics of metal dissociation in the yeast Cu₂Zn₂-superoxide dismutase. Apparent asymmetry in the metal binding sites / J.C.Dunbar, T.Uchida // Carlsberg Res. Commun.- 1982.- Vol.47, №3.- P.163-171.

20. Fee J.A. Superoxide dismutase. Examination of the metal binding sites by electron spin echo spectroscopy

/ J.A.Fee, J.Peisach, W.B.Mims // J. Biol. Chem.- 1981.- Vol.256, №4.- P.1910-1914.

21. Finsen N.R. The red light treatment of small-pox // Brit. Med. J.- 1895.- Vol.2, №1823.- P.1412-1414.

22. Funk J.O. Cytokine production after helium-neon laser irradiation in cultures of human peripheral blood mononuclear cells / J.O.Funk, A.Kruse, H.Kirchner // J. Photochem. Photobiol. B.- 1992.- Vol.16, №3-4.- P.347-355.

23. Furchgott R.F. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine / R.F.Furchgott, J.V.Zawadzki // Nature.- 1980.- Vol.288, №5789.- P.373-376.

24. Gordon S.A. Red and far-red action on oxidative phosphorylation / S.A.Gordon, K.Surrey // Radiat. Res.- 1960.- Vol.12.- P.325-339.

25. Javan A. Population inversion and continuous optical maser oscillation in a gas discharge containing a He-Ne mixture / A.Javan, W.R.Bennett, D.R.Herriott // Phys. Rev. Lett.- 1961.- Vol.63.- P.106-110.

26. Jourdeuil D. Reaction of superoxide and nitric oxide with peroxynitrite. Implications for peroxynitrite-mediated oxidation reactions in vivo / D.Jourdeuil, F.L.Jourdeuil, P.S.Kutchukian // J. Biol. Chem.- 2001.- Vol.276, №31.- P.799-805.

27. Karu T.I. Derepression of the genome after irradiation of human lymphocytes with He Ne laser // Laser Therapy.- 1992.- Vol.4.- С.5-24.

28. Karu T.I. Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation // Laser Life Sci.- 1988.- Vol.2.- P.53.

29. Karu T.I. Effect of ultrashort UV laser pulses on HeLa tumor cells / T.I.Karu, G.S.Kalendo, V.S.Letokhov // Lettere Nuovo Cimento.- 1981.- Vol.32, №2.- P.55-59.

30. Karu T.I. Biostimulation of HeLa cells by low intensity visible light / T.I.Karu, G.S.Kalendo, V.S.Letokhov, V.V.Lobko // Nuov. Cim. D.- 1982.- Vol.1.- P.828-840.

31. Karu T.I. Biostimulation of HeLa cells by low intensity visible light. III. Stimulation of nucleic acid synthesis in plateau phase cells / T.I.Karu, G.S.Kalendo, V.S.Letokhov, V.V.Lobko // Nuov. Cim. D.- 1984.- Vol.3.- P.319-325.

32. Karu T.I. Biostimulation of HeLa cells by low intensity visible light. II. Stimulation of DNA and RNA synthesis in a wide spectral range / T.I.Karu, G.S.Kalendo, V.S.Letokhov, V.V.Lobko // Nuov. Cim. D.- 1984.- Vol.3.- P.309-318.

33. Klebanov G.I. Mechanism of therapeutic effect of low-intensity infrared laser radiation / G.I.Klebanov, M.V.Kreinina, E.A.Poltanov // Bull. Exp. Biol. Med.- 2001.- Vol.131, №3.- P.239-241.

34. Klebanov G.I. Low-power laser irradiation induces leukocyte priming / G.I.Klebanov, Yu.O.Teselkin, I.V.Babenkova // Gen. Physiol. Biophys.- 1998.- Vol.17, №4.- P.365-376.

35. Koval'chuk L.V. Priming of phagocytes by cytokines and water-soluble products of lipid peroxidation / L.V.Koval'chuk, G.I.Klebanov, S.R.Ribarov // Biomed. Sci.- 1991.- Vol.2, №3.- P.221-231.

36. Maiman T.H. Stimulated optical radiation in ruby // Nature.- 1960.- Vol.187, №4736.- P.493-494.

37. McPhail L.C. The NADPH oxidase of human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for regulation by multiple signals / L.C.McPhail, C.C.Clayton,

R.Snyderman // J. Biol. Chem.- 1984.- Vol.259, №9.- P.5768-5775.

38. Morel F. The superoxide-generating oxidase of phagocytic cells. Physiological, molecular and pathological aspects / F.Morel, J.Doussiere, P.V.Vignais // Eur. J. Biochem.- 1991.- Vol.201, №3.- P.523-546.

39. Pantoliano M.W. Reversible loss of metal ions from the zinc binding site of copper-zinc superoxide dismutase. The low pH transition / M.W.Pantoliano, P.J.McDonnell, J.S.Valentine // J. Amer. Chem. Soc.- 1979.- Vol.101, №21.- P.6454-6456.

40. Passarella S. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser / S.Passarella, E.Casamassima, S.Molinari // FEBS Lett.- 1984.- Vol.175, №1.- P.95-99.

41. Passarella S. Evidence of changes induced by He-Ne laser irradiation in the biochemical properties of rat liver mitochondria / S.Passarella, E.Perlino, E.Quagliariello // Bioelectrochem. Bioenerg.- 1983.- Vol.10.- P.185-198.

42. Ricevuti G. In vivo and in vitro HeNe laser effects on phagocyte functions. / G.Ricevuti, A.Mazzone, C.Monaia // Inflammation.- 1989.- Vol.13, №5.- P.507-527.

43. Santos A.E. Sulfonated chloroaluminum phthalocyanine incorporates into human plasma lipoproteins: photooxidation of low-density lipoproteins / A.E.Santos, J.A.Laranjinha, L.M.Almeida // Photochem. Photobiol.- 1998.- Vol.67, №4.- P.378-385.

44. Vekshin N.L. Flavin-dependent oxygen uptake in mitochondria under illumination / N.L.Vekshin, G.P.Mironov // Biofizika.- 1982.- Vol.27, №3.- P.537-539.

45. Vladimirov Y.A. Photoreactivation of superoxide dismutase by intensive red (laser) light / Y.A.Vladimirov, E.A.Gorbatenkova, N.V.Paramonov, O.A.Azizova // Free Radic. Biol. Med.- 1988.- Vol.5, №5-6.- P.281-286.

46. Vladimirov Y.A. Lipid peroxidation in mitochondrial membrane / Y.A.Vladimirov, V.I.Olenev, T.B.Suslova, Z.P.Cheremisina // Advances in Lipid Research.- 1980.- Vol.17.- P.173-249.

47. Wagner W.D. Resonance Raman spectra of nitridoiron (V) porphyrin intermediates produced by laser photolysis / W.D.Wagner, K.Nakamoto // J. Amer. Chem. Soc.- 1989.- Vol.111, №5.- P.1590-1598.

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОСТІМУЮЧОЇ ДІЇ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ЛАЗЕРІВ І СВІТЛОДІОДІВ МЕТОДОМ АКТИВОВАНОЇ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ ЛЕЙКОЦИТІВ КРОВІ

*Владимиров Ю.А., Жидкова Т.В., Проскурнін Є.В., Ізмайлов Д.Ю.
Факультет фундаментальної медицини МДУ імені М.В.Ломоносова,
Ломоносовський пр., д. 31, корп. 5, м. Москва, 119192 Росія,
тел.: +7(499)147-55-08, e-mail: yuvlad@mail.ru*

Існують три основних механізми дії випромінювання лазерів і світлодіодів на клітини, тканини і організм: фотодинамічний, заснований на реакціях, викликаних дією ендogenous порфіринів; NO-залежний, заснований на фотолізі комплексів монооксиду азоту з гемовими білками, і супероксиддисмутазний, пов'язаний зі збільшенням активності супероксиддисмутази в крові і твердих тканинах опроміненого організму. Фотодинамічна активація ліпідної пероксидації в лейкоцитах крові служить основним механізмом біостимулюючої дії червоного лазерного і світлодіодного випромінювання. Головним методом, що дозволив зібрати дані, які доводять фотодинамічну теорію дії випромінювання лазерів і світлодіодів, був метод активованої хемілюмінесценції лейкоцитів крові.

Ключові слова: лазерне випромінювання, світлодіодне випромінювання, лейкоцити, хемілюмінесценція, хемілюмінометр.

STUDY OF LOW LEVEL RADIATION BIOSTIMULATION LASERS AND LED'S CHEMILUMINESCENCE THE ACTIVATED WHITE BLOOD CELLS

*Vladimirov Yu.A., Zhidkova T.V., Proskurnina E.V., Izmailov D.Yu.
Faculty of Fundamental Medicine, Moscow State University,
Lomonosov Prospect, 31, Bldg. 5, Moscow, 119192 Russia,
tel.: +7 (499) 147-55-08, e-mail: yuvlad@mail.ru*

There are three main mechanisms of action of laser radiation and the LEDs on the cells, tissues and body: PDD, based on the reactions caused by the action of endogenous porphyrins; NO-dependent, based on the photolysis of complexes of nitrogen monoxide with heme proteins, and superoxide dismutase associated with an increase in the activity of superoxide dismutase blood and solid tissues irradiated organism. Photodynamic activation of lipid peroxidation in blood leukocytes is the primary mechanism of action biostimulating red laser and LED light. The main method that allowed to collect data to prove the theory of photodynamic action of lasers and LEDs, was the method of chemiluminescence activated white blood cells.

Keywords: laser light, LED light, white blood cells, chemiluminescence, chemiluminometer.