

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ**Осипов А.Н.¹, Мачнева Т.В.¹, Владимиров Ю.А.^{1,2}¹Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ РФ
ул. Островитянова, 1, г. Москва, 117991, РФ
e-mail: anosipov@yahoo.com²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
ул. Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ

Аннотация. Рассмотрены основные механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения на клетки, митохондрии, мембраны и белки. Показано, что основными механизмами действия низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические объекты являются – фотолиз нитрозильных комплексов гемопротеинов и фотодинамическое действие лазерного излучения с участием фотосенсибилизаторов, к которым в первую очередь относятся порфирины. В результате воздействия лазерного излучения можно наблюдать активацию образования активных форм кислорода лейкоцитами, усиление дыхания митохондрий и увеличение пероксидазной активности цитохрома С. Эти явления играют важную роль в таких физиологических процессах как апоптоз, воспаление и эндотоксический шок.

Ключевые слова. лазерное излучение, оксид азота, гемопротеины, фотодинамическое действие.

Molecular and cellular mechanisms of low power laser radiationOsipov A.N.¹, Machneva T.V.¹, Vladimirov Yu.A.^{1,2}¹N.I. Pirogov Russian national research medical university, Ministry of healthcare, Russian Federation
Ostrovityanov str., 1, Moscow, 117991, Russia
e-mail: anosipov@yahoo.com²M.V. Lomonosov Moscow state university
Leninskie gory str., 1, bld. 2, Moscow, 119991, Russia

Abstract. Major mechanisms of low power laser radiation effects on cells, mitochondria, membranes and proteins are considered. It is demonstrated that the main reactions of low power laser effects on biological systems are heme protein nitrosyl complex photolysis and laser radiation photodynamic effects, mediated by photosensitizers, primarily, porphyrins. Effects of low power laser radiation can be realized as activation of active oxygen species generation by leukocytes, enhancement of mitochondrial respiration and increase of cytochrome C peroxidase activity. These effects are crucial steps of such physiological processes as apoptosis, inflammation and endotoxic shock.

Keywords. Laser radiation, nitric oxide, hemeproteins, photodynamic effect.

На сегодняшний день наиболее доказанными механизмами действия низкоинтенсивного (обычно не превышающего 100 мВт) лазерного излучения на ткани, клетки, мембраны и белки являются следующие: 1) фотолиз нитрозильных комплексов гемопротеинов, 2) фотодинамическое действие лазерного излучения, опосредованное фотосенсибилизаторами (например, порфиринами) и 3) фотоактивация супероксиддисмутазы [1]. Исследования последних лет показали, что указанные выше механизмы, реализуясь в клетках и тканях, могут участвовать в запрограммированной клеточной гибели, заживлении кожных ран, активации дыхания митохондрий, регуляции кровотока в тканях.

Одним из важнейших результатов исследований механизмов действия низкоинтенсивного лазерного излучения явилось обнаружение фоточувствительности нитрозильных комплексов гемопротеинов. Было показано, что гемоглобин и цитохром С могут легко образовывать нитрозильные комплексы, которые под действием лазерного излучения могут распадаться с выделением свободного оксида азота, который, в свою очередь, может в дальнейшем демонстрировать свое физиологическое действие [2]. Исследование этого явления облегчается тем обстоятельством, что нитрозильные комплексы гемоглобина и цитохрома С обладают парамагнетизмом и дают сигнал электронного парамагнитного резонанса, а свободный оксид азота может быть обнаружен методом спиновых ловушек.

Другим важным результатом, объясняющим закономерности воздействия лазерного излучения на клетки и ткани было обнаружение возможности регуляции пероксидазной активности цитохрома С с помощью лазерного излучения. Пероксидазная активность цитохрома С является важной характеристикой этого белка, т.к. появляется в результате взаимодействия цитохрома С с отрицательно заряженными фосфолипидами (например, кардиолипином или фосфатидилсерином) и последующем образовании липид-белкового комплекса, обладающего способностью к окислению различных субстратов в присутствии пероксида водорода. Это явление имеет очень важные последствия, т.к. именно благодаря пероксидазной активности цитохром С может индуцировать образование пор в митохондриальной мембране. Нами было показано, что пероксидазная активность цитохрома С, приобретаемая им в результате образования липид-белкового комплекса с кардиолипином, может существенно уменьшаться в присутствии оксида азота за счет образования нитрозильных комплексов цитохрома С. Низкоинтенсивное лазерное излучение может разрушать нитрозильные комплексы цитохрома С и восстанавливать его пероксидазную активность, необходимую для реализации программы апоптоза [3].

Еще одним важным результатом, иллюстрирующим механизмы реализации физиологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения на митохондрии было обнаружение возможности регуляции потребления

кислорода митохондриями с помощью низкоинтенсивного лазерного излучения при эндотоксическом шоке. Было обнаружено, что если внутрибрюшинно ввести липополисахарид крысам, то у них развивается экспериментальный эндотоксический шок, основным компонентом которого является избыточный синтез оксида азота в организме за счет активации эндогенных NO-синтаз. В этом случае в митохондриях происходит образование нитрозильных комплексов гемопротенинов и белковых комплексов негемового железа, что в конечном итоге приводит к торможению или прекращению потребления кислорода митохондриями. Если на такие митохондрии воздействовать низкоинтенсивным лазерным излучением, то можно увидеть снижение концентрации нитрозильных комплексов в митохондриях и параллельно этому – усиление дыхания митохондрий [4]. Обнаруженный эффект лазерного излучения может быть использован в клинике для лечения шоковых состояний, связанных с гиперпродукцией оксида азота.

На особом месте стоят исследования в которых были изучены механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения при пересадке кожного лоскута у крыс. Хорошо известно, что приживаемость кожного лоскута при аутологичной пересадке кожи очень сильно зависит от величины кровоснабжения этого кожного лоскута. Нами были проведены исследования, в которых величину кровотока в передней брюшной артерии (a. epigastrica) пересаживаемого лоскута после сшивания самих сосудов регулировали с помощью лазерного излучения, которое вызывало фотолиз нитрозильных комплексов гемоглобина и последующего освобождения оксида азота. Величину кровотока определяли с помощью доплерографии. Было обнаружено, что освободившийся за счет фотолиза нитрозильных комплексов гемоглобина оксид азота вызывал расслабление сосудов и увеличение перфузии крови через сосуды кожного лоскута примерно на 25-30% [5]. Использование этого наблюдения в клинике, может позволить существенно улучшить эффективность пересадки кожи при термических или химических ожогах.

Не менее важными чем вышеупомянутые исследования является и серия исследований, направленных на ускорение заживления кожных ран. Хорошо известно, что гнойные раны трудно поддаются лекарственной терапии и склонны к переходу воспалительного процесса в хроническую стадию. Использование низкоинтенсивного лазерного излучения позволяет увеличить эффективность лечения и скорость заживления ран. Нами было обнаружено, что при низкоинтенсивном лазерном облучении экспериментальных кожных ран у крыс происходит более быстрое заживление кожных ран. В основе такого эффекта лежит увеличение продукции активных форм кислорода лейкоцитами при лазерном облучении за счет увеличения проникновения ионов кальция в клетку и усиленной активации кислородного взрыва у лейкоцитов. Повышение проницаемости клеточных мембран для кальция в свою очередь связано с фотохимическими реакциями в плазматических мембранах лейкоцитов, существенно усиливающимися в присутствии фотосенсибилизаторов, к которым в первую очередь можно отнести порфирины [6].

Обнаруженные биологические эффекты низкоинтенсивного лазерного излучения подтверждают основные механизмы действия излучения и говорят о широком спектре процессов, для регуляции которых может быть использовано низкоинтенсивное лазерное излучение.

Список литературы / References:

1. Владимиров Ю.А. Три гипотезы о механизмах действия лазерного излучения на клетки и организм человека. *Эфферентная медицина*, М., 1994, с. 66. [Vladimirov Yu.A. Three hypothesis on the mechanisms of laser radiation effects on cells and human body. *Efferent medicine*, M., 1994, p. 66 (In Russ.)]
2. Vladimirov Yu.A., Borisenko G.G., Kazarinov K.D., Osipov A.N. J. Photochem. Photobiol., 2000, vol. 59, no. 1-3, pp. 115-122.
3. Осипов А.Н., Степанов Г.О., Владимиров Ю.А., Козлов А.В., Каган В.Е. Регуляция пероксидазной активности цитохрома с с помощью оксида азота и лазерного излучения. *Биохимия*, 2006, т. 71, с. 1128-1132. [Osipov A.N., Stepanov G.O., Vladimirov Yu.A., Kozlov A.V., Kagan V.E. Regulation of cytochrome C peroxidase activity by nitric oxide and laser irradiation. *Biochemistry*, 2006, vol. 71, pp. 1128-1132 (In Russ.)]
4. Buravlev E.A., Zhidkova T.V., Vladimirov Yu.A., Osipov A.N. Effects of low level laser therapy on mitochondrial respiration and nitrosyl complex content. *Lasers Med. Sci.*, 2014, vol. 29, iss. 6, pp. 1861-1866.
5. Mittermayr R., Osipov A., Piskernik C., Haindl S., Dungal P., Weber C., Vladimirov Yu.A. Redl H., Kozlov A.V. Blue laser light increases perfusion of a skin flap via release of nitric oxide from hemoglobin. *Mol. Med.*, 2007, vol. 13, pp. 22-29;
6. Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чичук Т.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. Сравнительные эффекты лазерного и светодиодного излучения на перекисное окисление липидов в раневом экссудате у крыс. *Биофизика*, 2006, т. 51, вып. 2, с. 332-339. [Klebanov G.I., Shuraeva N.Iu., Chichuk T.V., Osipov A.N., Vladimirov Iu.A. Comparison of the effects of laser and light-emitting diodes on lipid peroxidation in rat wound exudate. *Biofizika*, 2006, vol. 51, iss. 2, pp. 332-339 (In Russ.)]