

УДК 615.849.19.03:616-022.7

Механизмы действия лазерного излучения на прокариотические клетки

**ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. акад.
Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия
(614000, Пермь, ул. Петропавловская, 26), e-mail: rector@psma.ru**

**Мальцев А.П. (Maltcev A.P.) – студент лечебного факультета ФГБОУ ВО
Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера
Минздрава России**

**Для корреспонденции: Мальцев А.П., 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская 26,
e-mail: andrewm1@list.ru тел: 89223496342**

Специальность 03.00.07 – Микробиология

Реферат

В настоящее время в большинстве стран мира наблюдается интенсивное внедрение лазерного излучения в биологических исследованиях и в практической медицине. В России лазерные установки применяются в различных отраслях биологии, терапии, хирургии и диагностики на протяжении 30 лет. В медицине используется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ), которое относится к красному и инфракрасному диапазонам. Действие лазера вызывает у микроорганизмов в зависимости от дозы облучения изменения морфологических и биохимических свойств, вплоть до утраты жизнеспособности. Применение лазерных устройств позволяет избирательно воздействовать на субклеточные структуры, достичь высокой монохроматичности и большой плотности излучения. Фотобиологические эффекты зависят от параметров лазерного излучения: длины волны, интенсивности потока световой энергии, времени воздействия на биоткани.

Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ), прокариотическая клетка, лазер.

Mechanisms of action of laser radiation on prokaryotic cells

Maltcev A. P.

Acad. E.A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Abstract

Currently, in most countries there is an intense application of laser radiation in biological research and in medicine. In Russia, the laser systems are used in various fields of biology, medicine, surgery and diagnostics for over 30 years. In medicine, used low-intensity laser irradiation (LLLT), which refers to the red and infrared ranges. Depending on the irradiation dose the laser action causing various changes in the morphological and biochemical properties of the microorganisms, from activation of different functions to loss of viability. The uses of laser devices allow selectively influence the subcellular structures, to achieve high monochromaticity and high radiation density. Photobiological effects depend on the parameters of laser radiation: wavelength, beam intensity of light energy, time of exposure to biological tissue.

Keywords: low-intensity laser irradiation (LLLT), prokaryotic cell, laser.

Лазеры генерируют электромагнитное излучение в одночастотных и многочастотных режимах во всех участках спектрального диапазона от ультрафиолетового

до инфракрасного. Мощность лазерных установок колеблется от долей милливатт до сотен мегаватт. При этом можно получить как луч направленного действия, так и расфокусированное излучение [1-2]. В медицине используется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ), которое относится к красному и инфракрасному диапазонам. Воздействие НИЛИ на биологические ткани зависит от активизации биохимических реакций и физических параметров излучения [3]. Под влиянием НИЛИ атомы и молекулы биологических тканей переходят в возбужденное состояние, активнее участвуют в физических и физико-химических взаимодействиях [7]. Известно, что биологические объекты, в том числе бактериальные клетки, способны поглощать кванты лазерного излучения. Согласно закону Эйнштейна-Старка о фотохимическом эквиваленте, на каждый поглощенный фотон при фотохимической реакции образуется активированная частица (атом, молекула, свободный радикал). Эффект лазерного излучения определяют физические свойства излучения и свойства биологического объекта воздействия.

Одной из главных характеристик лазерного излучения является его интенсивность. Лазерное излучение высокой интенсивности вызывает обезвоживание, испарение жидкой части клеток, облучение средней интенсивности – коагуляцию белковой фракции клетки. Низкоинтенсивное лазерное излучение (не более 100 мВт/см²) влияет на энергетический потенциал молекул, что отражается на кинетике биохимических процессов. Степень соответствия длины волны излучения максимуму поглощения определяет проницаемость тканей для лазерного излучения. Биологические объекты весьма чувствительны к излучению лазеров низкой интенсивности. Существует несколько гипотез, отражающих предполагаемый первичный эффект взаимодействия НИЛИ с биологическими системами. Лазерное излучение активизирует некоторые ферменты-акцепторы, спектр поглощения которых совпадает с его энергетическим спектром. Считают, что такими акцепторами для гелий-неоновых лазеров являются каталаза, церрулоплазмин, супероксиддисмутаза [7], НАДФН-дисмутаза, протопорфирин и его производные. Ведущая роль в абсорбции излучения гелий-кадмиевого лазера принадлежит рибофлавину и цитохромоксидазе [4]. Поглощая энергию лазерного излучения, акцепторы (ферменты, биологически активные вещества) запускают регулируемые ими биохимические процессы. Вторая концепция предполагает неспецифическое действие излучения на биополимеры (белки, липиды, мембраны, ферменты). При этом меняется их конформационное строение и функциональное состояние. Энергия, необходимая для конформационных переходов биополимеров, невелика, поэтому слабые энергетические факторы (низкоинтенсивное лазерное излучение) могут влиять на электронно-конформационные взаимодействия. Согласно третьей концепции, в результате действия НИЛИ образуются активные формы

кислорода (синглетный кислород), которые индуцируют окислительные процессы. Одним из механизмов действия НИЛИ является изменение физико-химических характеристик воды [10]. Четвертая гипотетическая модель основана на влиянии энергии лазерного излучения на скорость переходов реакции ассоциации-диссоциации структурных элементов воды с сохранением или с изменением количества ассоциаций и диссоциаций молекул. Преобладание диссоциации в системе ассоциированных компонентов ускоряет деструкцию элементов и наоборот. Лазерная энергия может накапливаться, создавая эффект пружины [6]. В.Е. Кузьмичев предлагают концепцию, базирующуюся на нелинейности поглощения энергии [13]. Квант света увеличивает колебательную энергию многоатомных биомолекул или становится источником энергии, используемой в биохимических процессах. Отклик системы на физический фактор определяется выраженностью изменений колебательной энергии молекул. Максимальный положительный биологический эффект достигается определенной оптимальной дозой лазерного излучения, создающей максимальную вероятность возбуждения большого количества молекул и дальнейшего их перехода на другой энергетический уровень.

Согласно биофотонной концепции F. Ropp при возбуждении биополимеров (например, ДНК), возбужденный электрон делокализуется в электронном облаке молекулы, образуя нелинейные устойчивые вихревые сгустки энергии (поляритоны) [19]. Поляритоны способны накапливать энергию, а затем терять ее в виде излучения с большей длиной волны. Этот процесс описывается явлением возврата Ферми-Паста-Улама. НИЛИ стимулирует изменения, которые реализуются на всех уровнях организации живой материи: субклеточном, клеточном, тканевом, органном, организменном [11]. Экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют об изменении энергетической активности и конформационного состояния мембран, основных ферментных систем, биосинтетических и окислительно-восстановительных процессов, структурно-функциональных преобразованиях межклеточного пространства, увеличении продукции макроэргических соединений, повышении митотической активности клеток.

Следует подчеркнуть, что НИЛИ способствует улучшению жизнедеятельности только при адекватной дозировке, в других случаях его действие является или неэффективным, или угнетает функции биологического объекта [15]. Возможность передозировки лазерного излучения установлена И.М. Байбековым с соавт. [3] на основании изучения морфологических эффектов различных видов НИЛИ, вызывающих обратимые и необратимые альтерации клеточных структур. Одним из эффектов лазерного поражения клетки является вакуолизация цитоплазмы, связанная с нарушением проницаемости клеточной оболочки за счет инактивации преимущественно а-каналов, внутриклеточных

мембран [8]. Степень выраженности повреждающего действия зависит от типа клетки, длины волны, мощности излучения.

Одним из важнейших вопросов в проблеме взаимодействия НИЛИ с биологическим объектом является вопрос об акцепторе фотонов лазерного луча. Поиски фотоакцепторов (фоторецепторов) лазера были начаты на культурах прокариотических клеток, в том числе на клетках *E.coli* и кокков [5], паразитических простейших *Leishmania spp.* [2]. Результаты этих исследований неоднозначны. Одними авторами показано, что лазерное излучение с длиной волны 0,63 мкм и мощностью от 30 до 80 мВт не оказывает влияния на бактериальные клетки. В частности – на биологические и культуральные свойства *E. Coli* [5]. Другие авторы показали, что в результате воздействия лазерного излучения в ранах отмечается снижение микробных ассоциаций: в 3 раза реже обнаруживается грамотрицательная флора, в 2 раза реже – гемолитический стрептококк и грамположительные палочки [9]. Большое число работ по изучению влияния лазерного излучения выполнено не только на клеточном и молекулярном уровнях, но и на организме экспериментальных животных и человека.

Летальные эффекты лазерного излучения на некоторые виды кокков и кишечной палочки наблюдали С. Файн и Э. Клейн [16]. Были получены обнадеживающие экспериментальные данные по стерилизации молока путем облучения лазером. Гибнут бактерии при воздействии лазера длиной волны около 700 нм с энергией 200 Дж. При этом происходит денатурация белка и повреждение нуклеиновых кислот.

При исследовании влияния когерентных лучей ультрафиолетового лазера на содержание *Streptococcus lactis* в молоке, в зависимости от частоты дозы и времени облучения, было обнаружено, что лазерное облучение *Streptococcus lactis* с частотой 50 имп/с и суммарными дозами 31, 62 и 750 мВт • с/см² практически не влияет на количественный состав микроорганизмов. Облучение *Streptococcus lactis* импульсным лазером, действующим в ультрафиолетовой области спектра с длиной волны (337 ± 1,5) нм и частотой 50 имп/с в течение 20 мин вызывает летальный исход бактерий на 41,3%. Облучение с частотой 100 имп/с в течение 10 и 20 мин вызывает гибель их соответственно на 30,8 и 63,7% [17]. Установлено, что лазерное излучение с длиной волны 805 нм и интенсивностью 46 мВт/см² подавляет рост клеток *S. Aureus* на 5%– 21% по сравнению с контрольными данными [12].

Использование красного излучения (625 нм) при фотовоздействии на *P. asnes* было достаточно эффективным. Снижение числа КОЕ происходило после 5 мин облучения на 33%, после 10 мин – на 20%, после 15 мин – на 34%, после 30 мин – на 51% [14]. Лазерная и световая терапия с длинами волн 400–700 нм находит терапевтическое обоснование ввиду

фотохимических особенностей молекул порфиринов – эндогенных красителей в клетках *P. aeruginosa*. Наиболее эффективно порфирины поглощают свет с длинами волн 400–420 нм, что соответствует так называемой полосе Soret. Но существуют и Q-полосы менее эффективно поглощающие излучение с длинами волн 500–700 нм. Подобное воздействие приводит к образованию порфиринами активных радикалов, которые незамедлительно вызывают разрушение бактериальной клетки [18].

Таким образом, действие лазера, в зависимости от мощности, интенсивности, частоты излучения, времени экспозиции, позволяя избирательно воздействовать на субклеточные структуры, вызывает у прокариотических клеток изменения морфологических и биохимических свойств на различных уровнях, от адаптации и активации физиологических процессов до утраты жизнеспособности.

Список литературы

1. Агапов В.С., Смирнов С.Н., Шулаков В.В., Царев В.Н. Комплексная озонотерапия вялотекущего гнойного воспаления мягких тканей челюстно-лицевой области // стоматология.-2001, №3, с.23-27.
2. Архангельский А.В., Астафьева О.Г. Влияние инфракрасного лазера на морфоэнзимологию и кислородный баланс раны в эксперименте // Архив патологии. 1982. Т. 42. – С. 19-23.
3. Байбеков И.М., Байбекова М.И. Клеточные основы лазерных воздействий на биоткани // Лазер и здоровье – 99: материалы Междунар. Конгр., – М., 1999. – С. 422-423.
4. Борисова А.М., Хорошилова Н.В., Булганова Г.И. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения на иммунную систему // Терапевт. арх. 1992. № 5. – С. 111-115.
5. Бородулин В.Б., Шебалдова А.Д., Корниенко Г.К. и др. Действие лазерного излучения на бактериальные клетки *E. coli* // Лазер и здоровье – 99: материалы Междунар. Конгр., – М., 1999. – с. 427-428. 83.
6. Бриль Г.Е., Петросян В.И., Житнева Э.А. и др. Новые данные об изменении структуры биожидкостей под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения // Физическая медицина. 1996. Т. 5. № 1-2. – С. 39-40.
7. Гринштейн Ю.И., Осетров И.В. Восстановление обмена липидов между сывороткой и мембраной лимфоцитов при облучении цельной крови светом гелий-неонового лазера // Клиническое и экспериментальное применение новых лазерных технологий: материалы Междунар. конф. – М.-Казань, 1997. – С. 297-298.
8. Доровских В.А., Бородин Е.А., Бородин Г.П. и др. Влияние низкоэнергетических лазеров на свободнорадикальное окисление липидов в микросомах печени и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и каталазы эритроцитов // Лазер и здоровье – 99: материалы Междунар. Конгр. – М., 1999. – С. 435.
9. Задорина И.И., Мозговая Л.А., Быкова Л.П., Годовалов А.П., Ситникова А.С., Старикова Н.Н. Сочетанное использование стоматологических пломбировочных материалов и магнито-лазерного излучения при лечении осложненного кариеса // Материалы Международной научной конференции "Новые задачи современной медицины". - 2012. - С. 67-69.
10. Инюшин В.М. Лазерный свет и живой организм. –Алма-Ата, 1970. –168 с.
11. Козлов В.И., Буйлин В.А., Самойлов Н.Г., Макаров И.И. Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. –Самара-Киев: Здоровья-Самарский университет, 1993. – 216 с.
12. Колущинский В.Э., Гуляева А.И., Быкова Л.П., Годовалов А.П. изучение действия инфракрасного лазерного излучения на чувствительность *Staphylococcus aureus* к

- антибиотикам // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. - 2014. - № 5-2. - С. 46-49.
13. Кузьмичев В.Е., Каплан М.А., Чернова Г.В. Биологические эффекты низкоэнергетического лазерного излучения и нелинейное возбуждение биомолекул // Физическая медицина. 1996. Т.5. № 1-2. – С. 65-69.
 14. Плескановская С. А., Бабаев Х., Оразбаев Ш. Современное состояние проблемы использования низкоинтенсивного монохроматического гелий-неонового лазера в гнойной хирургии // Молодой ученый. — 2011. — №9. — С. 244-250.
 15. Полонский А.К. О некоторых проблемах лазерной терапии // Проблемы лазерной медицины: материалы IV Междунар. конгр. – М.-Видное, 1997. – С. 151.
 16. Файн С., Клейн Э. Биологическое действие излучения лазера.— М.: Атомиздат, 1968,— 350 с.
 17. Чейда А.А., Вялов С.Л., Колпаков В.А. и др. Морфологический анализ изменений в жизненно важных органах после воздействия НИЛИ // Низкоинтенсивные лазеры в медицине: материалы Всесоюзного симпоз. –Обнинск, 1991. – С. 115-116.
 18. Mester E., Naguluskay S., Doklen A. Laser stimulation of wound healing II Immunological tests //Acta chirurgial Acad. Sci. Hung. 1976. V.17. №1. P.49-55.
 19. Popp F. Hypothetical physical model laser biostimulation // Electromagnetic Bio Information. Munchen, 1979. P. 123-150.