

**ПЕРВИЧНЫЕ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ,
ИНИЦИИРОВАННЫЕ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ
ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ НА ЦЕЛЬНУЮ КРОВЬ
ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ IN VITRO**

*И.А. Бобцова, Л.П. Максе, Н.В. Акулич
Могилев, УО «МГУ имени А.А. Кулешова»*

Низкоинтенсивное лазерное излучение является одним из видов электромагнитного излучения оптического диапазона, которое при воздействии на биологические структуры вызывает запуск реакций (специфичность которых обсуждается), которые и обеспечивают первичные фотобиологические эффекты. Воздействие НИЛИ на цельную кровь обусловлено процессом взаимодействия пары фотон-акцептор. Фотохимические изменения происходят в соответствии с первым законом фотохимии (закон Гротгуса-Дрепера), т.е. только под действием света, поглощаемого системой.

Для каждого фотона с определенной длиной волны есть свой акцептор, поглотитель излучения. Несмотря на имеющееся к настоящему времени большое количество публикаций, содержащих теоретические, экспериментальные и клинические данные, первичный фотоакцептор лазерного излучения не установлен. Согласно предложенным в литературе теориям, первичными фотоакцепторами могут быть молекулы эндогенного порфирина, молекулярного кислорода, гемоглобина, каталазы, гуанилатциклазы, супероксиддисмутазы, цитохромоксидазы и др. Однако, неспецифическое

действие НИЛИ обеспечивает единый универсальный пусковой механизм – поглощение фотона акцептором, в результате происходит изменение в геометрии, конфигурации и строении молекул и атомов [3].

В качестве метода, позволяющего фиксировать первичные фотобиологические эффекты, происходящие на молекулярном уровне, был выбран метод ИК спектроскопического экспресс анализа биомолекул цельной крови.

Цель работы – изучение первичных фотобиологических процессов, инициированных низкоинтенсивным лазерным излучением в условиях *in vitro* методом ИК спектроскопического экспресс анализа цельной крови здоровых доноров.

Материал и методы. Было проведено 15 серий экспериментов с образцами периферической цельной крови здоровых доноров. Образцы полученной донорской крови в равных объемах в виде пленок помещались в оптически прозрачные кюветы, изготовленные из кристаллов KRS. Одна кювета являлась контрольной и находилась при комнатной температуре ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) в течение всего эксперимента. Вторую кювету облучали излучением полупроводникового лазера ($\lambda=670$ нм, 5 мВт). Экспозицию облучения варьировали от 5 до 10 минут. Спектры пропускания регистрировали на Фурье-спектрометре ИнфраЛЮМ ФТ-02 при спектральной ширине щели 4 см^{-1} и усреднении 5 сканирований. Обработку ИК спектров осуществляли в графическом редакторе «Excel». Визуальные изменения форменных элементов крови определяли в результате микроскопических исследований (микроскоп AXIO IMAGER, разрешение – 150 нм).

Результаты и их обсуждение. Разработанная методика подготовки проб позволила зарегистрировать ИК спектры цельной крови. В отличие от широко используемых методик ИК-спектроскопии, которые предполагают предварительное исключение из исследуемого объекта водной составляющей, была использована методика формирования тонких пленок, которая не требует предварительного высушивания крови. На начальном этапе были получены несколько ИК спектров исследуемого объекта – крови в диапазоне $6000 - 400\text{ см}^{-1}$. Анализ показал, что область $6000 - 2000\text{ см}^{-1}$ менее информативна при анализе цельной крови. Поэтому для регистрации спектров исследуемых проб был выбран интервал между 2000 и 900 см^{-1} , в котором сосредоточены характеристические колебания функциональных групп и связей органических веществ. Отнесение характеристических полос пропускания в спектре цельной крови осуществляли с использованием таблиц характеристических частот и литературных данных [2, 4, 6].

Установлено, что спектры образцов необлученной крови разных доноров имели отличия в соотношениях пиков в диапазоне от 2000 до 900 см^{-1} . В ИК спектрах биомолекул клеток крови доминируют полосы пропускания, характерные для полипептидов с большим количеством аминокислотных остатков. В инфракрасных спектрах крови наиболее интенсивные полосы пропускания характерны для колебаний CH_2 , O-P (1170 см^{-1}) – фосфолипидов, CN , NH (1311 см^{-1}) – полипептидов, COO ($1430 - 1380\text{ см}^{-1}$) – аминокислот, CH , CH_2 , CH_3 ($1480 - 1430\text{ см}^{-1}$) – жирных кислот, фосфолипидов и триглицеридов, NH ($1600 - 1480\text{ см}^{-1}$), C=O ($1720 - 1600\text{ см}^{-1}$) – спиралей

белковых молекул [2, 4, 6].

Сравнительный анализ ИК спектров облученной лазером и необлученной крови здоровых доноров показал, что низкоинтенсивное лазерное излучение не производит повреждающее воздействие на биомолекулы клеток крови. Отсутствие повреждающего действия низкоинтенсивного лазерного излучения на клетки крови было подтверждено микроскопическим исследованием не менее 200 клеток цельной крови здоровых доноров. С помощью микроскопии светлого поля и дифференциально-интерференционного контраста статистически значимых отличий в форме, размерах между облученными и контрольными клетками крови не выявлено. Также в обоих образцах отсутствовали аномальные эритроциты; активация тромбоцитов не наблюдалась.

Заключение. Используемое для терапевтических целей НИЛИ с длиной волны ($\lambda=670$ нм, 5 мВт) и экспозицией до 10 мин в условиях *in vitro* практически не вызывает изменений конформационных состояний биомолекул крови здоровых доноров.

Считается, что энергия квантов красного излучения недостаточна для разрушения (ионизации) биомолекул: при поглощении энергии этих излучений они способны лишь переходить в возбужденное состояние [1]. Поглощенная энергия передается молекулам, которые в ней нуждаются для осуществления нормального клеточного метаболизма. Клетки крови здоровых доноров получают нужное количество энергии естественным путем и лазерная энергия им не требуется, поэтому избыточная энергия просто рассеивается [5].

Сделано предположение, что низкоинтенсивное лазерное излучение приводит к нормализации клеточного метаболизма лишь в случаях, когда в результате заболевания клетки крови не получают необходимого количества энергии естественным путём. Для подтверждения данного предположения необходимо провести серию аналогичных экспериментов с кровью пациентов, перенесших заболевания, связанных с нарушением клеточного метаболизма.

Список литературы

1. Бриль Г.Е., Беспалова Т.А., Мартынов Л.А. и др. Влияние излучения гелий-неонового лазера на стрессорные изменения гомеостаза // Лазерная и магнитная терапия в экспериментальных и клинических исследованиях: тез. докл. Всерос. симпозиум. – Обнинск, 1993. – С. 12-14.
2. Залеская Г.А., Улащик В.С. Спектральные проявления фотопроекции, инициированных световым воздействием различных длин волн на кровь *in vivo*// Докл. НАН Беларуси. – 2009. – Т.53. № 3. С. 60-63.
3. Москвин С.В., Буйлин В.А. Основы лазерной терапии. – Тверь: «Триада», 2006. – 256 с.
4. Наканиси, К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений – М.: Мир, 1965. – 361 с.
5. Овсянников В.А. О возможности канцерогенного и мутагенного эффектов от лазерного излучения различных длин волн. - Международная конференция «Новое в лазерной медицине»: сб. тезисов – Санкт-Петербург –1993 – 573 с.
6. C. Petibois and G. Deleris. Chemical mapping of tumor progression by FT-IR imaging: towards molecular histopathology // Trends in Biotechnology. – 2006 – №24 – С. 455-462.