

ФІЗІКА

УДК 639.303.45:535.21:577.3

*В. Ю. ПЛАВСКИЙ¹, Г. Р. МОСТОВНИКОВА¹, Н. В. БАРУЛИН², Л. Г. ПЛАВСКАЯ¹,
А. И. ТРЕТЬЯКОВА¹, А. В. МИКУЛИЧ¹, И. А. ЛЕУСЕНКО¹, А. В. МОСТОВНИКОВ¹*

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ
ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ**

¹*Институт физики имени Б. И. Степанова НАН Беларуси*

²*Белорусская государственная сельскохозяйственная академия*

(Поступила в редакцию 25.03.2013)

Лазерный эффект зависит не только от общего количества падающей световой энергии и длины волны радиации, но и от длительности импульса, степени монохроматичности, от поляризации света и его когерентности. Все эти зависимости пока еще плохо изучены. Не изучен также и механизм воздействия лазерного излучения на живую клетку...

Б. И. Степанов [1]

Введение. Первые сведения о биологическом и терапевтическом действии низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) появились в мировой литературе уже через 5–6 лет (1966–1967 гг.) после создания гелий-неонового лазера (длина волны $\lambda = 632,8$ нм). Поскольку фотобиологическая наука к этому времени не располагала общепризнанными данными о влиянии некогерентного света видимой области спектра на функциональные характеристики соматических клеток человека и животных, то представлялось естественным обосновать биологическую активность лазерного излучения такими его специфическими характеристиками, как когерентность и поляризация. Однако механизмы фотофизических процессов, предполагающих возможную роль когерентности и поляризации в реализации биологического действия излучения низкой интенсивности, не были очевидны. Не предлагались даже какие-либо гипотезы, способные объяснить такую взаимосвязь. По этой причине было распространено мнение, что биологическое действие НИЛИ, вероятнее всего, отсутствует, а положительные результаты использования указанного фактора в медицине можно объяснить самовнушением (эффект плацебо). Следовательно, на первом этапе были необходимы объективные данные о наличии биологического действия лазерного излучения и зависимости эффекта от параметров воздействующего фактора, а также достоверные результаты об эффективности лазерной терапии заболеваний различного генеза. С этой целью в Институте физики в 1975 г. по инициативе и под руководством В. А. Мостовникова была сформирована научная группа (позднее – лаборатория), включавшая физиков и биологов и тесно сотрудничавшая с ведущими медицинскими учреждениями республики. Работы в указанном направлении были активно поддержаны Б. И. Степановым, проявившим неподдельный интерес к результатам исследований. Уже в 1977 г. были получены данные, с высокой степенью достоверности свидетельствовавшие о влиянии лазерного излучения на функциональную активность клеток человека в культуре и о радиозащитном эффекте указанного физического фактора в отношении клеток, предварительно облученных потоком нейтронов. По предложению Б. И. Степанова результаты были опубликованы в Докладах АН СССР [2] и имели высокий индекс цитирования. По сути, работой [2], благодаря активной поддержке Б. И. Степановым инициатив В. А. Мостовникова, в республике было положено начало новому направлению: изучению фотофизических механизмов, определяющих биологическую активность НИЛИ, разработке аппаратуры, ее серийному выпуску и использованию для лечения широкого круга заболеваний [3–15]. В настоящее время работы по данной тематике продолжают нами в лаборатории гетерогенных органических сред Института физики имени Б. И. Степанова НАН Беларуси.

Ниже сделана попытка дать ответы на вопросы, поставленные Б. И. Степановым в 1977 г. в работе [1], и кратко проанализированы результаты, полученные в последние годы.

Объекты и методы исследований. В качестве объектов для исследования регуляторного действия лазерного излучения использовались биологические системы различного уровня организации: клетки почки обезьяны МА в культуре, эмбрионы и сперма рыб, зоопланктон. Выбор гидробионтов для исследования механизмов биологической активности оптического излучения обусловлен следующими обстоятельствами.

Общепринято исследования закономерностей биологического действия физических факторов на организменном уровне проводить на экспериментальных животных (крысы, кролики), сравнивая действие физических полей при 3–4 его параметрах, важных, на взгляд экспериментатора, для обоснованного заключения. Однако вследствие сложности проведения множественных экспериментов на лабораторных животных, исследователю при выполнении сравнительных экспериментов приходится ограничиваться каким-либо одним фиксированным значением дозовой нагрузки, вызывающей изменение контролируемого биологического показателя. Это не позволяет выявить общие закономерности в действии того или иного физического фактора, и даже может привести к ложным заключениям. Кроме того, по причине неоднородности особей, полученных от различных производителей, достоверность результатов зачастую недостаточна для обоснованного заключения. Поэтому, учитывая сложность проведения экспериментов на животных (требующих к тому же 3–5 повторностей на каждую экспериментальную точку), количественные исследования на организменном уровне при варьировании в широком диапазоне параметров воздействующих факторов в литературе практически отсутствуют. Неслучайно основные выводы о механизме биологического действия лазерного излучения сделаны в опытах с культивируемыми клетками или с клетками крови.

В этой связи нами было предложено использовать в качестве модели для исследования механизмов и закономерностей действия физических полей на организменном уровне эмбрионы (оплодотворенную икру) рыб [10, 13, 14]. На наш взгляд, привлекательность использования эмбрионов обусловлена, с одной стороны, возможностью выбора большого количества однотипных особей (полученных от одних производителей), а с другой – хорошей чувствительностью эмбрионов к действию физических полей, воспроизводимостью результатов, их высокой достоверностью, а также соответствием данным, получаемым при воздействии излучения на экспериментальных животных. Перспективным также представляется использование в качестве объектов исследования спермы рыб и зоопланктона [15, 16].

О наличии фотобиологического эффекта судили по изменению митотического индекса и плотности монослоя клеток [4, 5]; размерно-весовых показателей и устойчивости молоди осетровых рыб, полученной из эмбрионов, которые подвергались влиянию лазерного излучения, к действию экстремальных температур, дефициту кислорода, повышенному содержанию токсикантов в среде обитания [10, 13, 14]; по активности сперматозоидов – времени поступательного движения облученных клеток спермы рыб после их активации водой [15]; по проценту выклева науплий жаброногого рачка *Artemia salina* L при облучении его цист [16]. Указанные параметры биологических объектов нормировались на соответствующие характеристики для необлученных (интактных) групп; результаты подвергались статистической обработке.

Результаты исследований. Полученные результаты свидетельствуют о выраженном биологическом действии низкоинтенсивного лазерного излучения синей, красной и ближней инфракрасной областей спектра, заключающемся в способности света при определенной интенсивности и дозовой нагрузке влиять на такие биологически важные параметры, как а) скорость клеточной пролиферации в культуре; б) постэмбриональное развитие рыб при кратковременном однократном воздействии на эмбрионы на стадии органогенеза; в) активность сперматозоидов рыб; г) физиологические процессы, контролирующие выклев науплий зоопланктона.

Зависимость биологического действия (η) излучения от энергетической дозы. Отличительная особенность регуляторного действия НИЛИ состоит в том, что его стимулирующее влияние наблюдается в достаточно узком интервале дозовых нагрузок и интенсивностей. Как правило, зависимость биологического эффекта от времени облучения (t) при постоянной интенсивности света (или от плотности мощности при постоянной экспозиции) характеризуется наличием ярко

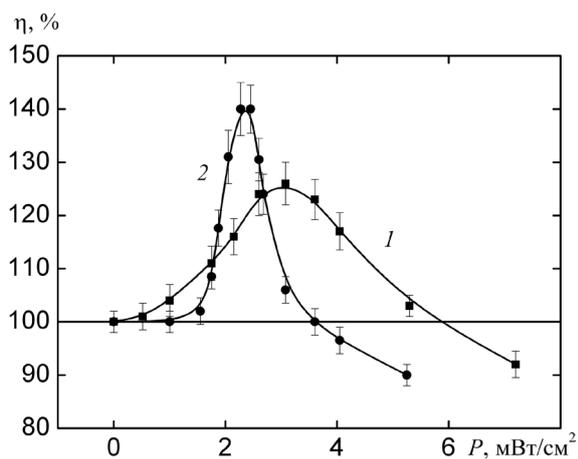


Рис. 1. Зависимость митотической активности клеток (в процентах к контролю) от плотности мощности линейно поляризованного излучения ($\lambda = 632,8$ нм, $t = 300$ с) в отсутствие внешнего магнитного поля (1) и при одновременном действии лазерного излучения и постоянного магнитного поля $B = 50$ мТл (2)

выраженного экстремума, соответствующего максимальному стимулирующему или ингибирующему действию (в зависимости от длины волны излучения). Причем величина фотобиологического эффекта зависит не только от дозы воздействующего излучения, но и от значений плотности мощности и экспозиции, при которой данная доза набиралась. Вышесказанное подтверждается данными рис. 1, кривая 1 и табл. 1, из которых следует, что максимальное стимулирующее действие на клетки в культуре наблюдается при $P = 3$ мВт/см², $t = 300$ с ($E = 0,9$ Дж/см²). Дальнейшее увеличение дозы приводит к снижению эффекта, а при $P \geq 6$ мВт/см² – к эффекту угнетения пролиферативной активности клеток. Похожие закономерности наблюдаются и при действии НИЛИ красного и ближнего ИК-диапазонов на эмбрионы и сперму рыб, а также на зоопланктон.

Таблица 1. Зависимость величины стимулирующего эффекта лазерного излучения $\lambda = 632,8$ нм на митотическую активность клеток в культуре от его плотности мощности при постоянной дозе воздействия ($E = 0,9$ Дж/см²)

| Плотность мощности воздействующего излучения, мВт/см ² | Время облучения, t, с | Величина фотобиологического эффекта, η, % | Достоверность отличий от контроля |
|---|-----------------------|---|-----------------------------------|
| 6,00 | 150 | 108 ± 3 | $P < 0,05$ |
| 3,00 | 300 | 126 ± 4 | $P < 0,05$ |
| 1,50 | 600 | 119 ± 4 | $P < 0,05$ |
| 0,75 | 1200 | 106 ± 3 | – |

Для сравнения отметим, что дозовая зависимость при деструктивном действии ультрафиолетового излучения или при фотодинамических процессах, сенсibilизированных красителями, как правило, описывается экспоненциальной (полиэкспоненциальной) функцией с взаимозаменяемостью в широком диапазоне значений времени и плотности мощности, при которых набирается необходимая доза.

Обратимость функциональных изменений в клетках, индуцированных НИЛИ. Для понимания механизма стимулирующего действия НИЛИ и с практической точки зрения (для определения оптимального временного интервала между процедурами лазерной терапии) важно знать, как долго сохраняется эффект стимуляции после прекращения облучения [4]. Результаты, отражающие зависимость митотической активности клеток (в процентах к контролю) от длительности временного интервала между облучением и их фиксацией, представлены на рис. 2. Как видим, в первое время (через 0,5 и 1 ч) после прекращения облучения митотическая активность клеток незначительно превышает данный параметр для контрольной группы. С увеличением времени инкубации эффект стимуляции нарастает, достигая максимума $\eta = 180 \pm 5$ % через 7,5 ч. Дальнейшее увеличение времени инкубации приводит к снижению стимулирующего действия. Через 24 ч после прекращения облучения пролиферативная активность облученных и контрольных монослоев клеток практически не отличается.

На основании полученных данных можно сделать три вывода: 1) изменение темпа клеточной пролиферации, вызванное воздействием НИЛИ, носит обратимый характер; 2) необходимо определенное время, чтобы изменения, индуцированные лазерным излучением в момент воздействия, нашли отражение в скорости клеточной пролиферации; 3) при проведении процедур лазерной терапии желательно, чтобы время между сеансами не превышало 24 ч.

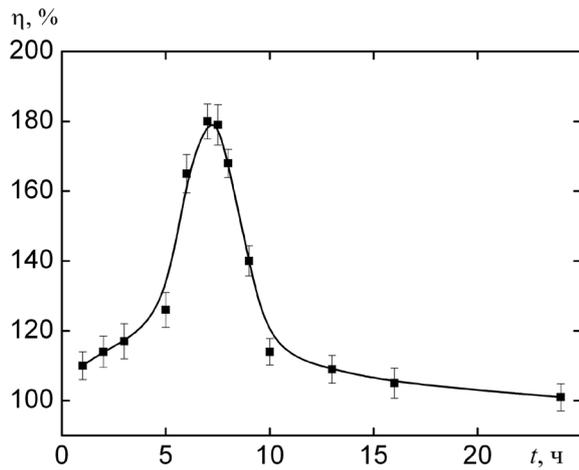


Рис. 2. Зависимость митотической активности клеток (в процентах к контролю) от времени после прекращения воздействия излучения гелий-неонового лазера ($P = 3 \text{ мВт/см}^2$, $t = 300 \text{ с}$)

Представленные данные свидетельствуют об обратимости эффекта стимуляции клеточной пролиферации, что подтверждает «мягкий» регуляторный характер изменений, индуцируемых лазерным воздействием. Общеизвестно, что факторы, вызывающие обратимые изменения, можно охарактеризовать как физиологические, а факторы, индуцирующие необратимые сдвиги, – как патологические, усугубляющие течение заболеваний.

Зависимость биологического действия лазерного излучения от частоты его модуляции.

Исследования, выполненные на эмбрионах и сперме рыб в условиях одинаковой средней плотности мощности воздействующего лазерного излучения, показали, что частота модуляции – важный параметр, определяющий его биологическую активность. В качестве примера на рис. 3 показано влияние времени облучения ($\lambda = 808 \text{ нм}$, $P = 2,9 \pm 0,2 \text{ мВт/см}^2$) оплодотворенной икры на массу 50-дневной молоди осетровых рыб (в процентах к контролю) в зависимости от режимов воздействия лазерным излучением и частоты его модуляции. Видно, что для каждой дозовой кривой наблюдается оптимум (соответствующий максимальному увеличению массы по сравнению с контролем) в зависимости $\gamma_m = f(t)$. Для непрерывного излучения и излучения, модулированного с частотой $F = 50 \text{ Гц}$, максимальное стимулирующее действие наблюдается для $t = 60 \text{ с}$ (энергетическая доза $E = 174 \text{ мДж/см}^2$). Как увеличение, так и уменьшение энергетической нагрузки приводит к снижению стимулирующего действия. Обращает на себя внимание то, что время, соответствующее максимуму стимуляции для различных режимов облучения, зависит от частоты модуляции. Так, при $F = 1 \text{ Гц}$ (кривая 2), оптимальное время облучения составляет $t = 180 \text{ с}$ ($E_{\text{max}} = 522 \text{ мДж/см}^2$), а при $F = 2$ (кривая 3), 5 (кривая 4) и 10 Гц (кривая 5) – $t = 300 \text{ с}$ ($E_{\text{max}} = 870 \text{ мДж/см}^2$). При этом величина максимального эффекта индивидуальна для каждой дозовой

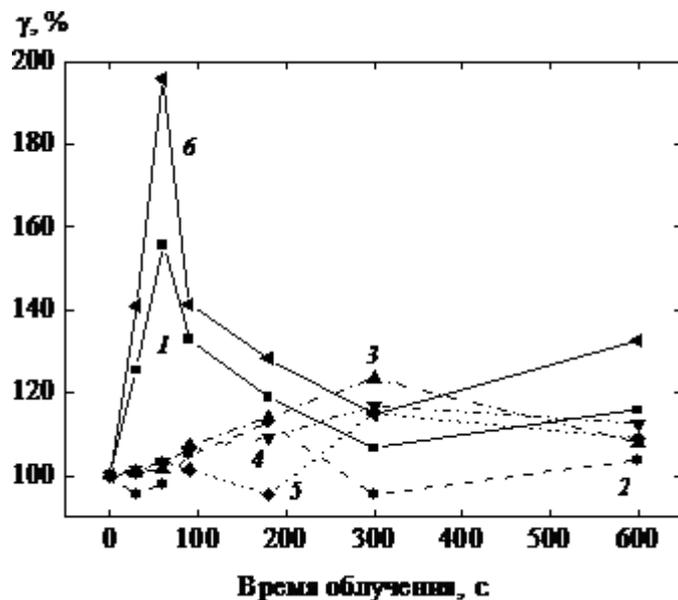


Рис. 3. Влияние времени облучения (длина волны $\lambda = 808 \text{ нм}$, плотность мощности $P = 2,9 \text{ мВт/см}^2$) оплодотворенной икры на массу 50-дневной молоди осетровых рыб (в процентах к контролю) в зависимости от режимов воздействия лазерным излучением и частоты его модуляции: 1 – непрерывный режим; 2–6 – излучение модулировано с частотой $F = 1, 2, 5, 10, 50 \text{ Гц}$ соответственно

кривой. Оптимальным по критерию увеличения размерно-весовых показателей молоди является использование модулированного с $F = 50$ Гц излучения: при $t = 60$ с показатели массы особей, полученных из облученной икры, увеличиваются в 2 раза по сравнению с молодью контрольной группы. Напротив, при воздействии излучения с $F = 1$ Гц стимулирующее действие наименее выражено: в оптимуме ($t = 180$ с) величина эффекта не превышает $\gamma_m = 110,7\%$, а при $t = 30, 60$ и 300 с фотобиологическое действие практически отсутствует. Для сравнения отметим, что при оптимальном ($P = 2,9$ мВт/см², $t = 60$ с) воздействии на икру непрерывного излучения $\gamma_m = 155,6 \pm 2,4\%$. Таким образом, использование модулированного воздействия с частотой модуляции $F = 50$ Гц позволяет значительно повысить биологическую активность лазерного излучения.

По нашему мнению, критическим параметром, определяющим зависимость фотобиологического эффекта от частоты модуляции, является длительность темного периода (паузы) между импульсами. При низкой частоте следования импульсов ($F = 1-2$ Гц), когда длительность паузы (τ_n) между ними составляет значительный временной интервал ($\tau_n = 250-500$ мс), структурные перестройки, индуцируемые в клетках эмбриона предшествующим импульсом, к моменту воздействия следующего импульса релаксируют в состояние, близкое к исходному. В этом случае величина фотобиологического эффекта незначительна и практически не зависит от длительности паузы (см. рис. 3). По мере сокращения временного интервала между импульсами структурные перестройки, индуцируемые предшествующим импульсом, не успевая релаксировать в исходное состояние, усиливаются воздействием следующего светового импульса, что находит свое выражение в более высоком фотобиологическом эффекте при $\tau_n = 50$ мс, $F = 10$ Гц (см. рис. 3). При дальнейшем увеличении частоты ($F = 50$ Гц, $\tau_n = 10$ мс) следования импульсов (т. е. сокращении длительности паузы между ними) величина фотобиологического эффекта превышает таковую для непрерывного воздействия. Среди возможных причин повышенной биологической активности лазерного излучения, модулированного с частотой $F = 50$ Гц, – неспособность живых систем адаптироваться к быстро меняющемуся внешнему физическому фактору, что приводит к более высокому фотобиологическому действию по сравнению с непрерывным режимом.

Зависимость фотобиологического эффекта от частоты модуляции регистрируется также и при исследовании времени подвижности сперматозоидов рыб. Установлено, что облучение спермы ($\lambda = 670$ нм, $P = 3$ мВт/см², $t = 30-60$ с) приводит к увеличению (в 1,5–2,0 раза по сравнению с контролем) времени подвижности сперматозоидов, что в свою очередь сопровождается достоверным увеличением процента оплодотворения икры осетровых рыб при использовании облученной спермы. Стимулирующий эффект наиболее выражен при частоте модуляции $F = 50$ Гц: доля оплодотворенной икры достигает $\gamma_{опл} = 82,1 \pm 1,8\%$, тогда как в случае использования интактной спермы (контрольный вариант) $\gamma_{опл} = 72,2 \pm 2,5\%$, а при оплодотворении икры спермой, предварительно подвергнутой воздействию непрерывного излучения, $\gamma_{опл} = 76,4 \pm 2,1\%$.

Примечательно, что наши результаты находятся в хорошем соответствии с некоторыми данными других авторов по влиянию лазерного излучения на активность ферментов в тканях животных ($\lambda = 632,8$ нм, $E = 67,5$ Дж/см²), метаболизм суспензии клеток селезенки ($\lambda = 632,8$ нм, $E = 500$ мДж/см²), рост бактерий в условиях *in vitro* ($\lambda = 810$ нм, $E = 1,0$ Дж/см²) и молодых клеток (остеобластов) костной ткани ($\lambda = 830$ нм, $E = 3,84$ Дж/см²) (подробнее об этом см. [13]).

Близость указанных результатов (несмотря на различие спектральных диапазонов воздействующего излучения, дозовые нагрузки, отличающиеся более чем на два порядка, а также различные объекты исследования) свидетельствует, с одной стороны, об общебиологическом характере указанной закономерности, а с другой – открывает возможность усиления терапевтического действия НИЛИ за счет реализации в аппаратуре (фототерапевтические аппараты «Айболит», «Снаг», «Сенс» нашего производства) опции, предусматривающей такую возможность [7].

При этом следует отметить, что полученные результаты влияния модуляции оптического излучения на его биологическую активность не распространяются на зависимость биологического и терапевтического эффекта от частоты следования импульсов наносекундного диапазона. Для лазерных терапевтических аппаратов импульсного режима генерации (длительность импульса $\tau = 100 \pm 50$ нс) увеличение частоты следования импульсов сопровождается соответствующим ростом средней плотности мощности воздействующего излучения, что и является определяющей причиной изменения биологического и терапевтического эффектов.

Зависимость биологического действия лазерного излучения от его длины волны. Исследования, выполненные в последние годы на различных биологических системах, а также результаты клинических наблюдений свидетельствуют [7], что при правильном выборе параметров (плотность мощности, экспозиция, режим облучения) биологический и терапевтический эффекты отмечаются при использовании излучения любой из длин волн, расположенной в диапазоне от длинноволновой ультрафиолетовой до ближней инфракрасной областей спектра. При этом интерес к исследованию зависимости биологического действия от длины волны обусловлен не только поиском оптимального источника для фототерапевтического аппарата, но и выявлением молекул-акцепторов, ответственных за реализацию исследуемого феномена.

В качестве критерия для изучения зависимости биологического действия от длины волны были выбраны следующие показатели: выживаемость предличинок осетровых рыб на стадии выклева; количество нарушений в развитии обонятельных органов предличинок; средняя масса 50-дневной молоди рыб; процент выклева науплий жаброногого рачка *Artemia salina* L при облучении его цист. Для воздействия на эмбрионы использовались светодиодные (синяя область спектра, $\lambda = 450$ нм, полуширина спектра $\Delta\lambda = 30$ нм; красная область спектра $\lambda = 630$ нм, $\Delta\lambda = 20$ нм) и лазерные (ИК-область спектра, $\lambda = 808$ нм) источники излучения. Воздействие на науплии осуществляли излучением с длиной волны 632,8 нм (гелий-неоновый лазер); 808 нм; 976 нм (полупроводниковые лазеры); 1064 нм; 1342 нм (лазеры на кристаллах Nd: YVO₄ с диодной накачкой); 1176 нм (лазер с диодной накачкой и с последующим ВКР-преобразованием излучения 1064 нм) при плотности мощности $P = 3$ мВт/см² [16].

Результаты исследований влияния поляризованного излучения светодиодных источников синей ($\lambda = 450$ нм) и красной ($\lambda = 630$ нм) областей спектра, а также поляризованного лазерного излучения инфракрасного диапазона ($\lambda = 808$ нм) на развитие эмбрионов и рыб при облучении на эмбриональной стадии представлены на рис. 4. Из него следует, что фотобиологический эффект достаточно сильно зависит от спектрального диапазона излучения. Максимальное стимулирующее действие оказывает излучение ближней инфракрасной области спектра $\lambda = 808$ нм,

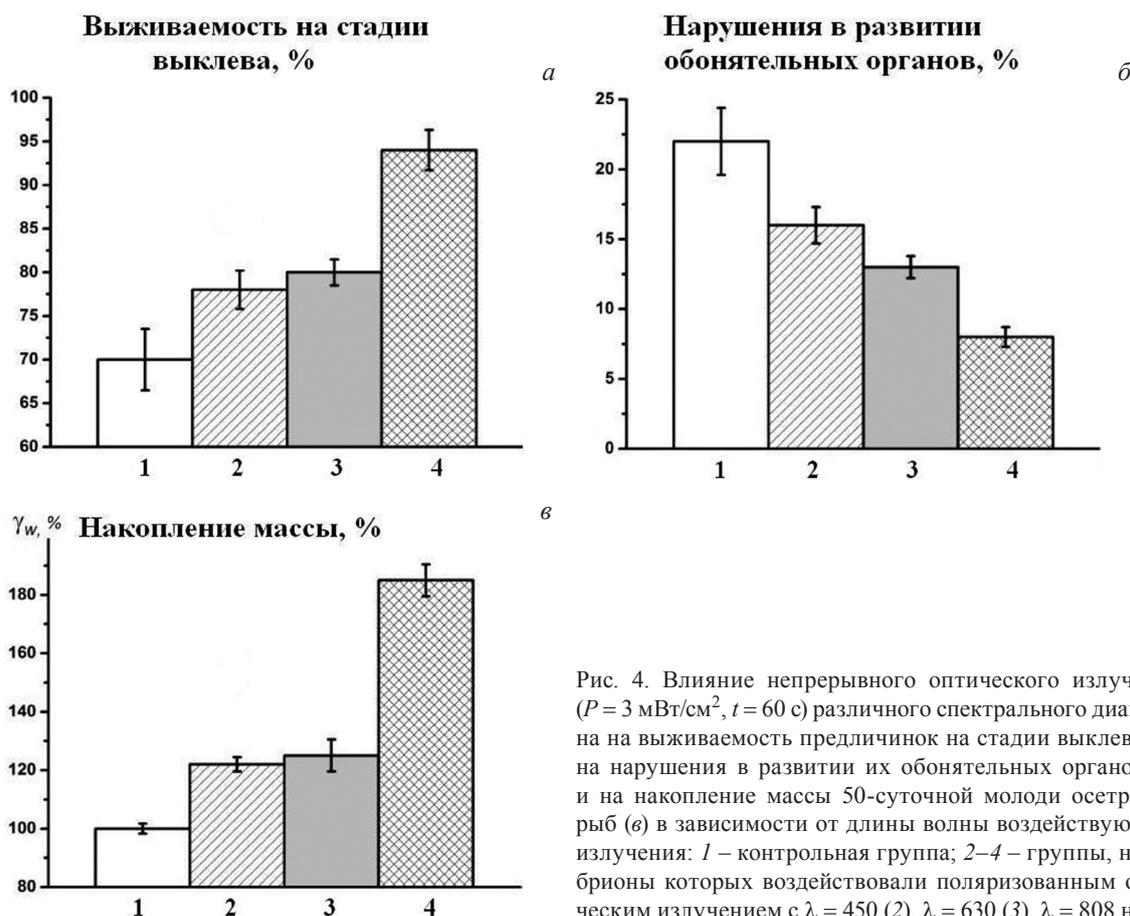


Рис. 4. Влияние непрерывного оптического излучения ($P = 3$ мВт/см², $t = 60$ с) различного спектрального диапазона на выживаемость предличинок на стадии выклева (а); на нарушения в развитии их обонятельных органов (б) и на накопление массы 50-суточной молоди осетровых рыб (в) в зависимости от длины волны воздействующего излучения: 1 – контрольная группа; 2–4 – группы, на эмбрионы которых воздействовали поляризованным оптическим излучением с $\lambda = 450$ (2), $\lambda = 630$ (3), $\lambda = 808$ нм (4)

$P = 2,9 \pm 0,2$ мВт/см², $t = 60$ с. Так, если в контрольной группе выживаемость предличинок на стадии выклева составляла $\gamma_B = 70 \pm 3,5$ %, то при воздействии излучения $\lambda = 450$ нм – $\gamma_B = 78 \pm 2,2$ %; $\lambda = 630$ нм – $\gamma_B = 80 \pm 1,5$ %; $\lambda = 808$ нм – $\gamma_B = 94 \pm 2,3$ %. Аналогичная закономерность прослеживается и при контроле количества нарушений в развитии обонятельных органов предличинок и при измерении массы 50-дневной молоди. Например, если в контрольной группе аномалии в развитии наблюдались в $\gamma_n = 22 \pm 2,4$ % от ее численности, то для личинок, полученных из облученных эмбрионов, данные показатели составляют: для $\lambda = 450$ нм – $\gamma_n = 16 \pm 1,3$ %; для $\lambda = 630$ нм – $\gamma_n = 13 \pm 0,8$ %; для $\lambda = 808$ нм – $\gamma_n = 8 \pm 0,7$ %. Средняя масса 50-дневной молоди, полученной из эмбрионов, облученных синим светом, составляла $\gamma_w = 122 \pm 2,5$ % по отношению к контролю; облученных красным светом – $\gamma_w = 125 \pm 5,5$ %; инфракрасным – $\gamma_w = 185 \pm 5,5$ %. Следовательно, развитие осетровых рыб на эмбриональном и постэмбриональном уровне существенно зависит от длины волны излучения, воздействовавшего на эмбрионы.

Важная роль длины волны прослеживается также в экспериментах с изучением влияния лазерного излучения на выклев зоопланктона (науплий жаброногого рачка *Artemia salina* L) при облучении его цист (рис. 5). Исследования показали [16], что если воздействие на цисты излучением с длиной волны 808, 1176 и 1342 нм сопровождается стимуляцией выклева науплий, то облучение цист светом с $\lambda = 632,8, 976$ и 1064 нм приводит к ингибированию процесса выклева науплий. Эффект сильно зависит от дозы при ее изменении в диапазоне 0,15–1,8 Дж/см².

Представленные данные свидетельствуют о том, что эмбрионы рыб, а также зоопланктон являются удобной моделью для исследования закономерностей биологического действия лазерного излучения, включая зависимость эффекта от длины волны. Однако для ответа на вопрос о возможных акцепторах оптического излучения, ответственных за реализацию биологического дей-

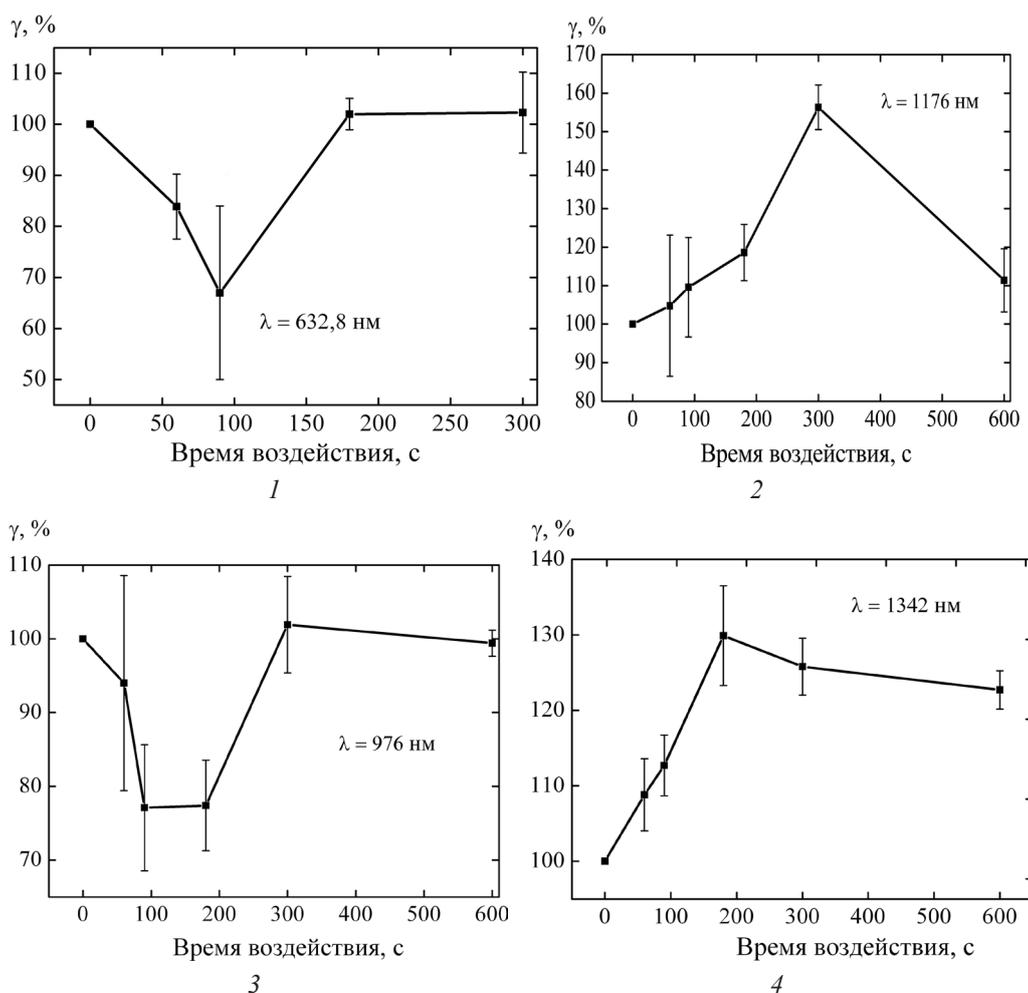


Рис. 5. Влияние лазерного излучения ($P = 3,0$ мВт/см²) с длиной волны 632,8 (1), 1176 (2), 976 (3) и 1342 нм (4) на выклев науплий при облучении их цист в зависимости от экспозиции

ствия, предстоит провести исследования с плавной (шаг 5–10 нм) перестройкой длины волны. В видимой области для этих целей наиболее подходят лазеры на красителях с распределенной обратной связью (РОС-лазеры).

Методы комбинированного (последовательного) воздействия излучением различных длин волн с целью усиления фотобиологического эффекта. Актуальность изучения комбинированного воздействия излучением различных длин волн обусловлена литературными данными о возможности значительного усиления биологического действия света за счет последовательного облучения. Пионерскими работами в данном направлении были исследования [2, 3], в которых показано, что наиболее выраженное влияние на функциональную активность клеток человека в культуре, а также на эффективность заживления трофических язв и ран, сращивание костей после переломов оказывает последовательное действие излучения синей ($\lambda = 441,6$ нм) и красной ($\lambda = 632,8$ нм) областей спектра. Указанные результаты легли в основу метода комбинированной лазерной терапии [3] и в последующие годы реализованы в серийно выпускаемых лазерных терапевтических аппаратах [7, 9]. Независимый экономический расчет, проведенный исследователями Белорусского государственного экономического университета на основании двухлетней выборки больничных листов травматологических отделений одной из городских клинических больниц г. Минска, показал [7], что если при оперативном лечении больных с закрытыми переломами костей голени сроки временной нетрудоспособности в контрольной группе (где лазерное излучение не использовалось) составляли 173 ± 5 дней, а в группе, где в комплексное лечение включалось воздействие только гелий-неоновым лазером красной области спектра – 156 ± 3 дней, то при комбинированном (последовательном) воздействии лазерным излучением синей и красной областей спектра, осуществляемом с использованием разработанной нами аппаратуры, сроки временной нетрудоспособности не превышали 141 ± 4 дней.

В наших исследованиях с использованием эмбрионов рыб проанализированы следующие варианты последовательностей воздействия поляризованным излучением различных областей спектра: синий и красный; красный и синий; синий и ИК; ИК и синий. Источниками излучения служили светодиоды ($\lambda = 450$ и $\lambda = 630$ нм), а также полупроводниковый лазер ($\lambda = 808$ нм). Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2. Влияние последовательного (комбинированного) воздействия на эмбрионы осетровых рыб оптическим излучением различного спектрального диапазона ($P = 3$ мВт/см², $t = 60$ с) на показатели, характеризующие развитие осетровых рыб на эмбриональной и постэмбриональной стадиях

| Контролируемый параметр | Показатели (% к контролю) при последовательном воздействии на эмбрионы излучением нижеследующих спектральных диапазонов | | | | Показатели для контрольной группы, % |
|---|---|-----------------|---------------|---------------|--------------------------------------|
| | синий и красный | красный и синий | синий и ИК | ИК и синий | |
| Выживаемость предличинок на стадии выклева | $86 \pm 2,3$ | $82 \pm 1,9$ | $87 \pm 2,1$ | $89 \pm 1,9$ | $70 \pm 3,5$ |
| Нарушения в развитии обонятельных органов | $13 \pm 1,3$ | $12 \pm 1,0$ | $11 \pm 0,9$ | $10 \pm 0,8$ | $22 \pm 2,4$ |
| Накопление массы 50-суточной молоди осетровых рыб | $140 \pm 3,5$ | $128 \pm 6,5$ | $155 \pm 4,2$ | $149 \pm 4,7$ | $100 \pm 1,7$ |

Из приведенных данных следует, что максимальные отличия от контрольных групп наблюдаются при последовательном воздействии на эмбрионы излучением синей и инфракрасной, а также инфракрасной и синей областей спектра. Однако обращает на себя внимание отсутствие в этом случае синергизма в действии указанных физических факторов: при облучении эмбрионов светом только с $\lambda = 808$ нм (см. рис. 3) фотобиологический эффект оказывается выше по всем исследованным показателям. Четко выраженный синергизм отмечается при последовательном действии излучения синей и красной областей спектра. Так, если при воздействии на эмбрионы излучением синей области спектра средняя масса 50-дневной молоди составляла $\gamma_w = 122 \pm 2,5$ % по отношению к контролю, при воздействии красным светом – $\gamma_w = 125 \pm 5,5$ %, то при последовательном воздействии (синим и красным) – $\gamma_w = 140 \pm 3,5$ %. Обратная последовательность (воздействие красным и синим излучением) практически не приводит к эффекту синергизма: $\gamma_w = 128 \pm 6,5$ %. Отметим, что приведенные данные о синергизме действия излучения синей и красной областей спектра, полученные на эмбрионах рыб, находятся в хорошем соответствии

с результатами исследования влияния комбинированного лазерного воздействия на митотическую активность клеток в культуре [2], синтез в них ДНК и РНК, а также на заживление трофических язв и ран после оперативных вмешательств [3].

Методы сочетанного (одновременного) действия лазерного излучения и постоянного магнитного поля для усиления биологической активности указанных физических факторов. Синергетический эффект при сочетанном (одновременном) действии лазерного излучения и постоянного магнитного поля был установлен экспериментально-клиническими исследованиями [17]. Однако молекулярно-физические механизмы указанного феномена долгое время оставались невыясненными. Полученные нами данные [5] по сочетанному действию лазерного излучения и постоянного магнитного поля на скорость клеточной пролиферации в культуре явились первым экспериментальным подтверждением в условиях *in vitro* возможности усиления регуляторного влияния указанных физических факторов за счет эффекта синергизма. С этой целью поставлена серия экспериментов, в которых монослой клеток почки обезьяны подвергались действию: а) излучения гелий-неонового лазера; б) постоянного магнитного поля; в) лазерного излучения и постоянного магнитного поля одновременно. Естественно, что все указанные эксперименты проводились на фоне магнитного поля Земли ($B = 0,05$ мТл). Многократно повторенные эксперименты по воздействию поля кольцевого магнита на монослой клеток показали, что магнитное поле с индукцией $B = 50$ мТл (экспозиция $t = 300$ с) вызывает достоверную стимуляцию ($p < 0,01$) митотической активности клеток ($\eta = (112 \pm 5) \%$). В отсутствие внешнего магнитного поля зависимость митотической активности клеток (в процентах к контролю) от плотности мощности линейно поляризованного излучения представляет собой колоколообразную кривую (см. рис. 1, кривая 1) с максимальным эффектом $\eta = (126 \pm 4) \%$, регистрируемым при $P = 3,0$ мВт/см². При одновременном действии на монослой клеток низкоинтенсивного лазерного излучения и магнитного поля (см. рис. 1, кривая 2, $t = 300$ с) колоколообразная форма кривой, характерная для зависимости $\eta = f(P)$ в отсутствие магнитного поля сохраняется. Однако наложение магнитного поля приводит к существенному повышению чувствительности клеток к действию лазерного излучения. Прежде всего, достигается более высокая стимуляция митотической активности ($\eta = (140 \pm 4) \%$) при более низкой плотности мощности $P = 2,3$ мВт/см². Контур зависимости $\eta = f(P)$ существенно уже, при более низких плотностях мощности действующего излучения достигается угнетение митотической активности клеток. Примечательно также, что при сочетанном действии постоянного магнитного поля и лазерного излучения при интенсивности последнего $P = 3,0$ мВт/см² (т. е. в условиях максимального фотобиологического эффекта $\eta = (126 \pm 4) \%$ от гелий-неонового лазера в отсутствие магнитного поля) наблюдается практически полное отсутствие биологического эффекта. Этот факт может служить доказательством неаддитивности в действии низкоинтенсивного лазерного излучения и постоянного магнитного поля. Важно подчеркнуть, что вышеуказанная закономерность отмечается лишь при одновременном применении указанных физических факторов. Последовательное воздействие на культуру клеток лазерным излучением, а затем магнитным полем, или в обратной последовательности не приводят к деформации зависимости $\eta = f(P)$, как это наблюдается в случае их сочетанного применения.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что постоянное магнитное поле, как и низкоинтенсивное лазерное излучение, являются эффективными биостимуляторами. При этом наблюдается повышение чувствительности клеток к действию лазерного излучения в присутствии постоянного магнитного поля, что может свидетельствовать об эквивалентности в биологическом действии указанных физических факторов.

Следует отметить, что полученные данные о синергетическом эффекте при одновременном воздействии оптического излучения и магнитного поля нашли применение в наших разработках терапевтической аппаратуры на основе лазерных и светодиодных источников (аппараты «Родник-1», «Люзар-МП», «Снаг», «Сенс», «Айболит»), которыми широко оснащены клинические учреждения республики [7]. Исследования в данном направлении были нацелены на создание аппарата, в котором область приложения магнитного поля соответствовала зоне действия лазерного излучения на патологический очаг. Обычно в аппаратах для магнитолазерной терапии лазерный луч 1 (рис. 6) проходит через полость в кольцевом магните 2, плоскость которого перпендикулярна направлению распространения излучения [7, 8]. Однако при таком конструктив-

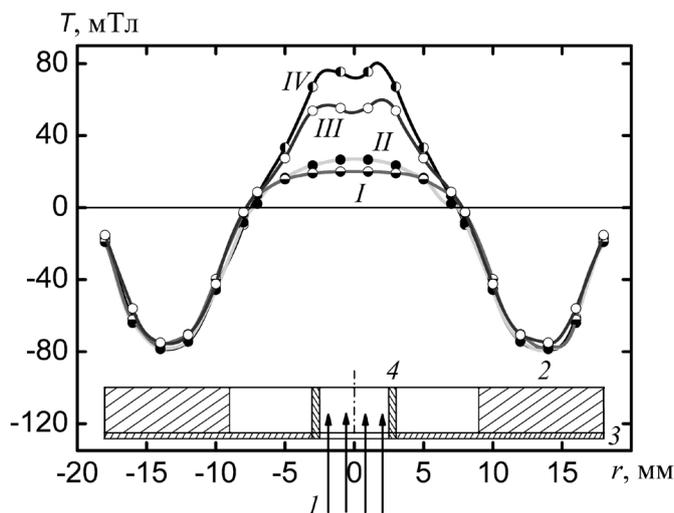


Рис. 6. Распределение (в зоне действия лазерного излучения 1) магнитной индукции на поверхности магнитной насадки по отношению к проекциям тела магнита 2 и сердечников 3 и 4 для различных вариантов конструктивных решений насадки: I – без сердечника; II – с сердечником 3 в виде пластины с отверстием, расположенной на поверхности магнита со стороны, обращенной к лазерному диоду; III – с сердечником 4 в виде трубки, расположенной вдоль оси магнита; IV – с сердечником в виде пластины 3 с отверстием, расположенной на поверхности магнита со стороны, обращенной к лазерному диоду, и трубки 4, расположенной вдоль оси магнита

ном решении магнитная индукция на уровне поверхности кольцевого магнита в зоне действия оптического излучения минимальна $|B| = 20$ мТл, а ее максимальное значение ($|B| = 74\text{--}78$ мТл) регистрируется на поверхности тела магнита (см. рис. 6, кривая I). Для коррекции напряженности магнитного поля нами предложено использовать полые сердечники из магнитомягких материалов, один из которых представляет собой пластину 4 с отверстием, расположенную на поверхности магнита со стороны, обращенной к источнику излучения, а другой – трубку 4, расположенную вдоль оси магнита. Как следует из рис. 6 (кривые II и III), использование каждого сердечника приводит к повышению напряженности магнитного поля в зоне действия оптического излучения. Однако наиболее выраженное повышение (в $\approx 3,5$ раза по сравнению с аналогами без сердечников) напряженности отмечается при одновременном использовании сердечников 3 и 4 (кривая IV): в этом случае магнитная индукция в зоне действия оптического излучения составляет $|B| = 73$ мТл.

Таким образом, предложенные нами конструктивные решения магнитных насадок с комбинированными сердечниками из магнитомягких материалов обеспечивают создание в зоне действия лазерного излучения аппаратов для магнитолазерной терапии магнитного поля с индукцией, практически не отличающейся от ее значения над проекцией тела магнита. Указанные магнитные насадки могут использоваться также в аппаратах для магнитосветотерапии на основе светодиодных источников.

Зависимость биологического действия оптического излучения от его поляризации. Как уже отмечалось, для понимания механизма биологической активности лазерного излучения принципиальным является выяснение взаимосвязи между его биологическим действием и поляризацией. Данные, полученные нами с использованием различных биологических систем (клетки в культуре, эмбрионы и сперма рыб), свидетельствуют о зависимости биологического эффекта от поляризации излучения [4, 5, 10, 14, 15]. Одним из оснований для такого вывода послужили сравнительные исследования по влиянию на скорость клеточной пролиферации однослойной культуры многомодового излучения гелий-неоновых лазеров ($\lambda = 632,8$ нм), один из которых генерировал линейно поляризованное излучение, а другой – неполяризованное [4, 5]. Результаты исследований представлены на рис. 7, из которого следует, что если воздействие линейно поляризованного излучения ($P = 3$ мВт/см²) вызывает в диапазоне экспозиций $t = 1\text{--}7$ мин выраженные изменения темпа клеточной пролиферации, то при облучении клеток неполяризованным излучением в том же энергетическом диапазоне фотобиологический эффект практически отсутствует.

Учитывая принципиальный характер данного заключения для устранения возможных артефактов, которые обусловлены неодинаковым распределением интенсивности света по сечению луча для лазеров, генерирующих в многомодовом режиме поляризованное и неполяризованное излучение, были поставлены дополнительные эксперименты. С этой целью луч лазера, генерирующего неполяризованное излучение, пропускаться в одном случае через поляризатор (на выходе которого получали линейно поляризованное излучение), а в другом – через нейтральный светофильтр с пропусканием $\tau = 40\%$ (на выходе которого получали неполяризованное излучение

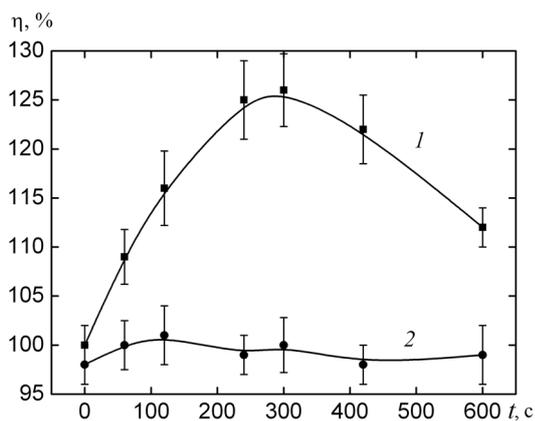


Рис. 7. Зависимость митотической активности клеток от времени воздействия излучения $\lambda = 632,8$ нм, $P = 3,0$ мВт/см² с линейной (1) и естественной (2) поляризациями

с той же мощностью светового потока). Исследования показали наличие фотобиологического эффекта в исследованном энергетическом диапазоне лишь при воздействии линейно поляризованного излучения. К такому же выводу привели результаты исследований, основанные на использовании поляризованного и реполяризованного излучения. В данном варианте эксперимента деполаризация излучения лазера вызывалась его пропусканием через длинный ($l \sim 20$ м) моноволоконный световод типа кварц-полимер диаметром светопроводящего сердечника $d = 0,4$ мм. Установлено, что при воздействии на клетки деполаризованного излучения фотобиологический эффект практически отсутствует в диапазоне интенсивностей $P = 1-7$ мВт/см² ($t = 300$ с). Для появления фотобиологического действия необходимо деполаризованное излучение, прошедшее световод, реполяризовать путем пропускания через поляризатор.

Следует сказать, что выраженная зависимость действия лазерного излучения от его поляризации отмечается и другими авторами [18, 19], которые фиксируют наличие достоверного эффекта на клетки крови лишь при воздействии поляризованного излучения. Вместе с тем имеются работы, авторы которых не обнаруживают зависимости биологической активности излучения на клеточном уровне от поляризации [20]. Все это свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения роли указанного параметра оптического излучения в реализации его биологического и терапевтического действия для различных длин волн и интенсивностей. В этой связи изучение роли поляризации во взаимодействии излучения с эмбрионами рыб, обеспечивающими высокий уровень достоверности данных, представляет безусловный интерес. Дозовые кривые, отражающие влияние облучения эмбрионов линейно-поляризованным (1) и неполяризованным (2) светом квазимонохроматического красного светодиода ($\lambda = 631$ нм, $\Delta\lambda = 15$ нм, $P = 2,9$ мВт/см²) на массу и длину 50-дневной молоди осетровых рыб (в процентах к контролю), представлены на рис. 8, а, б. Из графиков следует, что величина фотобиологического эффекта, индуцируемого поляризованным излучением, значительно выше, чем при воздействии неполяризованным излучением. Вместе с тем при оптимальных условиях облучения ($t = 60$ с, $E = 0,17$ Дж/см²) достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$) наблюдается и при воздействии неполяризованного света.

Наши исследования [15] по влиянию оптического излучения на сперму рыб показали, что изменение активности сперматозоидов вызывает как поляризованное, так и неполяризованное излучение светодиодного источника. Различие в их действии уменьшается по мере увеличения толщины слоя облучаемой спермы. По всей видимости, это обусловлено сильной деполаризацией излучения по мере его прохождения в глубь ткани и снижением доли клеток, подвергнутой облучению поляризованным светом. Отметим также, что согласно нашим данным [16], выполненным при действии на цисты зоопланктона *Artemia salina* L излучения ближней инфракрасной области спектра (805 ... 1340 нм), выраженное влияние на выклев науплий оказывает неполяризованное лазерное излучение.

Таким образом, совокупность представленных данных свидетельствует о том, что в зависимости от условий облучения и параметров воздействующих факторов (длина волны, интенсивность) могут наблюдаться существенные различия в биологической активности линейно-поляризованного и неполяризованного света в отношении клеток в культуре, эмбрионов и спермы осетровых рыб. Вместе с тем и неполяризованное излучение способно оказывать выраженное действие на клеточном и организменном уровнях.

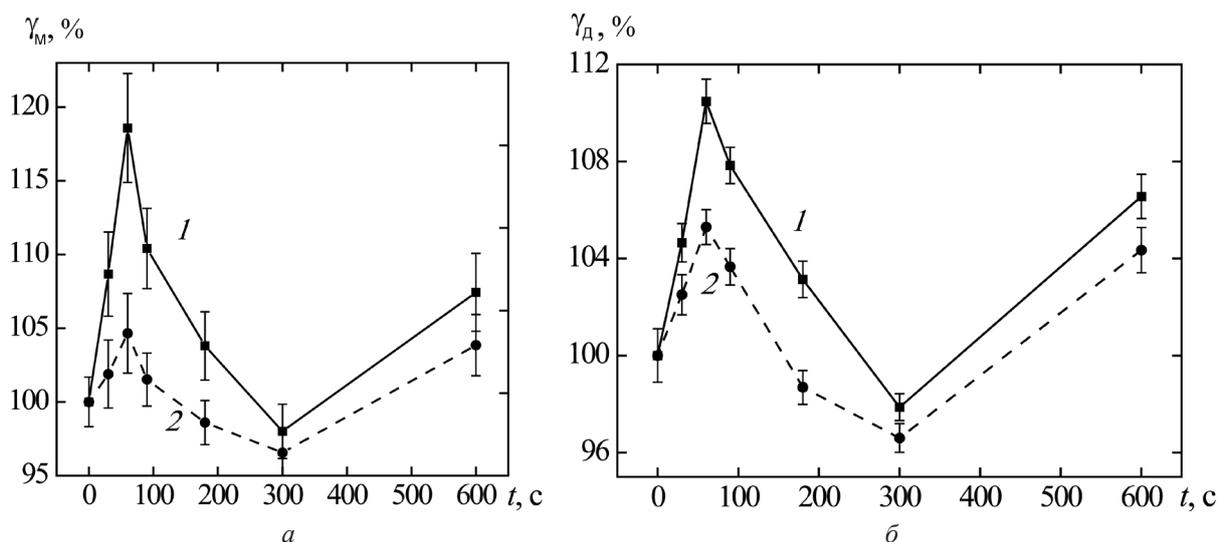


Рис. 8. Влияние времени облучения оплодотворенной икры на массу (а) и длину (б) 50-дневной молоди осетровых рыб (в процентах к контролю) для линейно-поляризованного (1) и неполяризованного (2) излучения квазимонохроматического красного светодиода ($\lambda = 631$ нм, $\Delta\lambda = 15$ нм, $P = 2,9$ мВт/см²)

Роль временной когерентности в реализации биологического действия лазерного излучения. Влияние степени когерентности поляризованного оптического излучения на его биологическую активность иллюстрируют данные, представленные на рис. 9. На диаграмме приведены результаты сравнительных экспериментов (основанных на контроле массы 50-дневной молоди рыб) при воздействии на эмбрионы монохроматического лазерного излучения ($\lambda = 632,8$ нм, $\Delta\lambda = 0,02$ нм, длина когерентности $L_{\text{ког}} \sim 2000$ мкм), квазимонохроматического излучения красного светодиода ($\lambda = 631$ нм, $\Delta\lambda = 15$ нм, $L_{\text{ког}} \sim 26$ мкм) и полихроматического излучения белого светодиода ($\lambda = 420\text{--}800$ нм, с максимумами при $\lambda = 453$ и 567 нм, $\Delta\lambda = 130$ нм, $L_{\text{ког}} < 2,5$ мкм). Для всех вариантов облучения $P = 2,9$ мВт/см², $t = 60$ с. Из представленных данных видно, что биологические эффекты, индуцированные излучением монохроматического лазерного ($\gamma_m = 120,4 \pm 2,9$ %, $p < 0,001$) и квазимонохроматического светодиодного ($\gamma_m = 118,6 \pm 3,7$ %, $p < 0,001$) источников, практически не отличаются. Однако переход к широкополосному излучению (белый светодиод) сопровождается заметным снижением биологического действия: $\gamma_m = 111,1 \pm 1,8$ %, $p < 0,001$. При этом следует отметить, что максимум спектра испускания белого светодиода ($\lambda = 567$ нм) сдвинут в коротковолновую область по сравнению с красным светодиодом ($\lambda = 631$ нм), что может

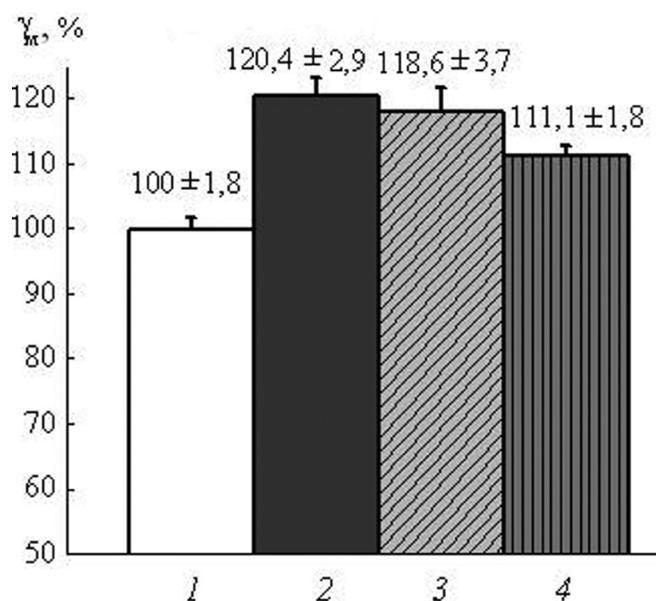


Рис. 9. Влияние степени когерентности поляризованного оптического излучения ($P = 2,9$ мВт/см², $t = 60$ с), воздействующего на оплодотворенную икру, на массу 50-дневной молоди осетровых рыб: 1 – контроль; 2 – лазерное излучение ($\lambda = 632,8$ нм, $\Delta\lambda = 0,02$ нм, $L_{\text{ког}} \sim 2000$ мкм); 3 – квазимонохроматическое излучение красного светодиода ($\lambda = 631$ нм, $\Delta\lambda = 15$ нм, $L_{\text{ког}} \sim 26$ мкм); 4 – полихроматическое излучение белого светодиода ($\lambda = 420\text{--}800$ нм, $\Delta\lambda = 130$ нм, $L_{\text{ког}} < 2,5$ мкм)

быть одной из причин наблюдаемых различий в действии излучения полихроматического и квази-монохроматического источников. Нам не удалось также выявить различий в действии на эмбрионы рыб излучения гелий-неонового лазера ($\lambda = 632,8$ нм, $\Delta\lambda = 0,02$ нм, длина когерентности $L_{\text{ког}} \sim 2000$ мкм) и излучения полупроводникового лазера с близкой длиной волны ($\lambda = 635$ нм), но значительно меньшим показателем когерентности ($\Delta\lambda = 2,0$ нм, $L_{\text{ког}} \sim 200$ мкм).

Таким образом, биологической активностью обладает не только монохроматическое лазерное, но и квази- и полихроматическое излучение светодиодных источников. По нашим данным [10, 14, 15], имеется лишь несколько работ, в которых отмечается специфика действия когерентного излучения по сравнению с некогерентным [21–25]. В частности, в работе [21] обнаружено влияние лазерного излучения с периодической модуляцией интенсивности (вследствие интерференции двух световых пучков) на ансамбль (столбик) эритроцитов. Показана возможность перемещения и/или разрушения такого агрегационного образования за счет действия градиентных сил. Указанное явление может иметь место лишь при освещении объектов когерентным светом, когда на поверхности и в глубине объекта образуются спекл-структуры с выраженным градиентом интенсивности.

В работе [22] обнаружено существенное различие в действии на бактерии лазерного излучения, однородно распределенного по облучаемой поверхности, и лазерного излучения, пространственно модулированного по интенсивности, при их одинаковой средней плотности мощности. Причем эффект наиболее выражен, когда период чередования светлых и темных участков соизмерим с размером клеток или их органелл. Отмечается, что при воздействии когерентного лазерного излучения световой градиент на несколько порядков выше, чем при применении света той же мощности и длины волны, но с низкой когерентностью [22].

Согласно [25], при лечении периодонтита эффект более выражен при использовании гелий-неонового лазера ($\lambda = 632,8$ нм), характеризующегося высокой монохроматичностью $\Delta\lambda = 0,02$ нм (и связанному с ней параметру – временной когерентностью), чем при воздействии на патологический очаг излучением полупроводникового лазера с $\lambda = 650$ нм, $\Delta\lambda = 2$ нм.

Вместе с тем в литературе превалирует точка зрения, что не существует никаких биофизических предпосылок, теоретических и экспериментальных исследований для утверждения, что когерентность света могла бы оказывать влияние на живые системы различного уровня, а действие лазерного излучения могло бы являться специфическим [26–28].

Механизмы фотофизических процессов, определяющих биологическое действие оптического излучения низкой интенсивности. Совокупность имеющихся гипотез о механизме биологической активности НИЛИ можно подразделить на две группы: *фотохимическую* и *нефотохимическую (нерезонансную)*. Сторонники первой из них полагают, что влияние лазерного излучения на метаболические процессы в организме обусловлено за счет фотохимических реакций, протекающих при поглощении света эндогенными фотоакцепторами: а) белковыми макромолекулами, содержащими простетические группы (гемоглобин, цитохром-с-оксидаза, супероксиддисмутаза, каталаза и др.); б) эндогенными фотосенсибилизаторами (прежде всего порфириновой природы). Считается, что воздействие излучения приводит к изменению кислородтранспортной функции гемоглобина и повышению локальной концентрации кислорода за счет его фотодиссоциации от оксигемоглобина, а также к изменению активности ферментных систем (цитохром-с-оксидазы, супероксиддисмутазы, каталазы). В случае определяющей роли сенсибилизированных реакций в механизме биологической активности лазерного излучения приоритетное значение отводят процессам изменения проницаемости клеточных мембран за счет реакций перекисного окисления липидов.

Результаты, полученные нами при исследовании действия оптического излучения на клетки в культуре, эмбрионы и сперму рыб, а также зоопланктон, в совокупности с литературными данными позволяют заключить, что в зависимости от спектрального диапазона и мощности излучения, его поляризации и когерентности биологическое действие может реализовываться по разным фотофизическим механизмам. Так, согласно нашим данным [16], акцепторами лазерного излучения в ближней инфракрасной области спектра (800–1350 нм), ответственными за реализацию биологического (и как следствие – терапевтического) действия, являются молекулярный кислород и вода, имеющие выраженные полосы поглощения в данном спектральном диапазоне. Регуляторное биологическое действие излучения в этом случае объясняется прямым возбужде-

нием синглетного кислорода (и его последующим влиянием, как сигнальной (триггерной) молекулы, на протекание физиологических процессов в живом организме), а также структурной альтерацией воды, играющей важную роль в поддержании и регуляции гомеостаза [16]. Отметим, что возможная роль прямого возбуждения растворенного кислорода в реализации биологического действия света обосновывалась в работе [29]. В основе высокой чувствительности воды к внешним воздействиям лежит кластерный характер ее строения, заключающийся в кооперативном образовании короткоживущих ассоциатов за счет формирования сетки водородных связей между молекулами («мерцающие кластеры»). Имеются также данные, свидетельствующие о способности молекул воды к формированию параметрических модульных структур типа спиралей, фракталов, кольцевых и иных образований, комплементарных к биологическим структурам. По этой причине воду рассматривают как коллективную неравновесную динамическую систему, способную к самоорганизации и чувствительную к внешним воздействиям, включая лазерное излучение.

По нашему мнению, фотобиологические эффекты, влияющие на скорость клеточной пролиферации в культуре, постэмбриональное развитие осетровых рыб, а также на активность сперматозоидов, индуцированные воздействием оптического излучения видимого диапазона спектра, могут быть интерпретированы с позиций нерезонансного нефотохимического механизма действия излучения. В пользу данной концепции свидетельствует: а) зависимость эффекта от поляризации излучения [4, 5, 10, 14, 15]; б) обратимость функциональных изменений в клетках, индуцированных НИЛИ [4]; в) влияние постоянного магнитного поля на эффекты, вызываемые линейно-поляризованным светом [5]; г) зависимость эффекта от амплитудного значения интенсивности излучения (при воздействии на эмбрионы импульсного излучения наносекундной длительности средняя эффективная плотность мощности $P = 0,06-0,24$ мВт/см² ниже, по крайней мере, на порядок соответствующего значения для непрерывного излучения) [10, 14]; д) нарушение правила о взаимозаменяемости времени и плотности мощности [4, 5, 10, 14]; е) влияние частоты модуляции на регистрируемый фотобиологический эффект [10, 14].

Отмеченные закономерности свидетельствуют о «мягком», регуляторном характере изменений, индуцируемых в биологических системах воздействием оптического излучения низкой интенсивности. При этом в литературе рассмотрены следующие механизмы нефотохимической природы, объясняющие действие оптического излучения на биологические системы: а) ориентационное действие излучения на биологические структуры с жидкокристаллическим характером упорядочения [4, 5, 10, 14]; б) градиентные дипольные взаимодействия, возникающие при воздействии на объект излучения с пространственной модуляцией интенсивности [21, 23, 24]; в) диполь-дипольные взаимодействия, индуцированные световой волной в близко расположенных структурах [21, 23, 24].

Впервые гипотеза об ориентационном действии излучения в отсутствие резонансного поглощения была выдвинута ранее В. А. Мостовниковым и соавторами [4, 5] для интерпретации данных, полученных при действии излучения на культивируемые клетки. Указанный механизм представляет собой оптический эффект Керра и должен наблюдаться для молекул, характеризующихся анизотропией поляризуемости. Фотофизический механизм этих изменений заключается в переориентации отдельных высокоупорядоченных анизотропных участков (доменов) указанных компонентов в результате взаимодействия электрического поля световой волны с индуцированным (этой волной) интегральным электрическим диполем домена. Один из принципиальных моментов, важных для объяснения ориентационного нерезонансного механизма действия излучения (как и диполь-дипольных взаимодействий, а также градиентных сил) состоит в выяснении вопроса: откуда берется энергия на переориентацию жидких кристаллов (ЖК) в отсутствие поглощения. Согласно оценкам, указанная работа осуществляется за счет изменения частоты ($\Delta\nu$) света («покраснения квантов»), характеризующегося ничтожно малой величиной ($\Delta\nu/\nu \sim 10^{-15}$). В последние годы получены данные, свидетельствующие о том, что ориентационное действие света на ЖК (зависимое от типа поляризации излучения) проявляется и в случае наличия у них слабого примесного или собственного поглощения. Физические процессы, ответственные за переориентацию поглощающих ЖК, в полной мере не выяснены и являются предметом многочисленных исследований и дискуссий. Поскольку ориентационная нелинейность для поглощающих ЖК

увеличивается на 2 порядка по сравнению с прозрачными и средняя мощность излучения, необходимая для эффективной переориентации, не превышает 1 мВт, то это делает наиболее вероятным проявление указанного механизма в реализации изучаемого биологического действия оптического излучения.

Впервые возможная роль когерентности в реализации нерезонансного биологического действия лазерного излучения была теоретически рассмотрена в работах А. Н. Рубинова и А. А. Афанасьева [23, 24]. Согласно их гипотезе, биологическое действие излучения обусловлено: а) градиентными эффектами при взаимодействии биологических структур с пространственно неоднородным излучением; б) диполь-дипольным взаимодействием биологических частиц, наведенным световой волной. Влияние градиентных сил на биологические органеллы, клетки и другие образования микронных размеров связано с формированием лазерным излучением спекл-структуры за счет интерференции падающего луча с отраженными и рассеянными (на неоднородностях ткани) лучами. В результате нерезонансного дипольного взаимодействия электрической компоненты света со светоиндуцированным дипольным моментом биологических микрочастиц возникают градиентные силы, способные оказывать биологическое действие, в том числе и за счет избирательного повышения кинетической энергии микрочастиц [23, 24]. В случае доминирующего значения градиентных сил должны наблюдаться существенные различия в действии поляризованного излучения монохроматического лазерного и квазимонохроматического светодиодного источников, поскольку в последнем случае спекл-структуры практически не образуются. В отличие от градиентных сил, взаимодействие светоиндуцированных осциллирующих дипольных моментов соседних частиц друг с другом (диполь-дипольное взаимодействие) нерезонансного характера (в отсутствие поглощения) может реализоваться при воздействии на биологические объекты как когерентного, так и некогерентного излучения [23, 24].

Выраженная зависимость биологического действия оптического излучения видимой области спектра на клетки в культуре, эмбрионы и сперму рыб от его поляризации; равнозначность эффектов при воздействии на указанные системы когерентного излучения гелий-неонового лазера и некогерентного излучения светодиодного источника близкой длины волны; наличие точек экстремумов в спектре биологического действия позволяют сделать вывод о том, что первичные фотофизические механизмы, обеспечивающие влияние излучения на метаболические процессы в организме, обусловлены кооперативными структурными переходами в мембранах и мультиферментных комплексах с жидкокристаллическим характером упорядочения за счет ориентационного действия поляризованного излучения в присутствии слабо поглощающих эндогенных хромофоров. Наличие слабого поглощения значительно усиливает чувствительность указанных систем к структурным переходам, индуцированным ориентационным действием поляризованного излучения. Полученные результаты не исключают также возможный вклад диполь-дипольных взаимодействий в реализацию биологического действия оптического излучения.

Заключение. Результаты, полученные в настоящей работе при использовании в качестве объектов исследования клеток животных в культуре, эмбрионов и спермы рыб, зоопланктона, свидетельствуют о достоверном биологическом действии оптического излучения низкой интенсивности. Стимулирующее действие излучения отмечается в узком диапазоне дозовых нагрузок, причем результат зависит не только от дозы воздействующего излучения, но и от конкретных значений плотности мощности и времени, при которых данная доза набирается.

Разработаны методы усиления биологической активности оптического излучения за счет его модуляции; совместного действия с постоянным магнитным полем; комбинированного последовательного воздействия излучением различного спектрального диапазона.

Показано, что максимальное стимулирующее действие на скорость клеточной пролиферации, размерно-весовые показатели молоди осетровых рыб, активность сперматозоидов вызывает облучение линейно-поляризованным светом.

Кроме поляризованного монохроматического излучения лазерных источников выраженным биологическим действием обладает также и поляризованное квазимонохроматическое и полихроматическое (широкополосное) излучение светодиодных источников. Эффективность действия поляризованного монохроматического и квазимонохроматического излучения практически не отличается.

Предполагается, что первичные фотофизические механизмы, обеспечивающие влияние излучения видимой области спектра на метаболические процессы в организме, обусловлены кооперативными структурными переходами в мембранах и мультиферментных комплексах за счет ориентационного действия поляризованного излучения, а также диполь-дипольных нерезонансных взаимодействий.

Акцепторами лазерного излучения в ближней инфракрасной области спектра (800–1350 нм), ответственными за реализацию биологического (и как следствие – терапевтического) действия, являются молекулярный кислород и вода, имеющие выраженные полосы поглощения в данном спектральном диапазоне. Регуляторное биологическое действие излучения в этом случае объясняется прямым возбуждением синглетного кислорода (и его последующим влиянием как сигнальной (триггерной) молекулы на протекание физиологических процессов в живом организме), а также структурной альтерацией воды, играющей важную роль в поддержании и регуляции гомеостаза.

Литература

1. Степанов Б. И. Лазеры сегодня. Минск, 1977. С. 67.
2. Степанов Б. И., Мостовников В. А., Рубинов А. Н., Хохлов И. В. // Докл. АН СССР. 1977. Т. 236, № 4. С. 1007–1010.
3. Крюк А. С., Мостовников В. А., Хохлов И. В., Сердюченко Н. С. Терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения. Минск, 1986.
4. Мостовников В. А., Мостовникова Г. Р., Плавский В. Ю. и др. // Новое в лазерной медицине и хирургии: материалы междунар. конф. М., 1991. Ч. 2. С. 192–194.
5. Mostovnikov V. A., Mostovnikova G. R., Plavski V. Y. et al. // Proc. SPIE. 1994. Vol. 2370. P. 541–548.
6. Mostovnikova G. R., Mostovnikov V. A., Plavskii V. Yu. et al. // J. Opt. Technol. 2000. Vol. 67, N. 11. P. 981–983.
7. Plavskii V. Yu., Mostovnikov V. A., Ryabtsev A. B. et al. // J. Opt. Technol. 2007. Vol. 74, N 4. P. 246–257.
8. Plavskii V. Yu. // Biomedical Engineering. 2011. Vol. 45, N 1. P. 9–11.
9. Plavskii V. Yu., Ryabtsev A. B., Leusenko I. A. et al. // Biomedical Engineering. 2011. Vol. 45, N 2. P. 54–58.
10. Plavskii V. Yu., Barulin N. V. // Advances in Laser and Optics Research. New York, 2010. Vol. 4. P. 1–48.
11. Plavskii V. Yu. // Bilirubin: Chemistry, Regulation and Disorder. New York, 2012. P. 1–65.
12. Plavskii V. Yu. // Research Advances in Magnetic Materials. New York, 2013. P. 1–35.
13. Plavskii V. Yu., Barulin N. V. // J. Opt. Technol. 2008. Vol. 75, N 9. P. 546–552.
14. Плавский В. Ю., Барулин Н. В. // Журн. прикл. спектроскопии. 2008. Т. 75, № 6. С. 843–858.
15. Barulin N. V. Plavskii V. Yu. // World Acad. Sci. Engineer. Technol. 2012. Vol. 67. P. 946–951.
16. Плавский В. Ю., Барулин Н. В., Грабчиков А. С. и др. // Лазерная физика и оптические технологии: материалы IX Междунар. науч. конф. Гродно, 2012. Ч. 1. С. 140–145.
17. Полонский А. К., Черкасов А. В. // Вопр. курортологии. 1984. № 4. С. 66–67.
18. Kubasova T., Horvath M., Kocsis K., Fenyö M. // Immunol. Cell Biol. 1995. Vol. 73, N 3. P. 239–244.
19. Fenyö M., Mandl J., Falus A. // Cell Biol. Intern. 2002. Vol. 26, N 3. P. 265–269.
20. Karu T. I., Pyatibrat L. V., Moskvina S. V. et al. // Photomed. Laser Surg. 2008. Vol. 26, N 2. P. 77–82.
21. Bushuk S. B., Kruchenok J. V., Kurilo G. I. et al. // J. Opt. A: Pure Appl. Opt. 2005. Vol. 7. P. 382–385.
22. Попов А. Ю., Попова Н. А., Тюрин А. В. // Оптика и спектроскопия. 2007. Т. 103, № 3. С. 502–508.
23. Rubinov A. N. // J. Phys. D: Appl. Phys. 2003. Vol. 36, N 19. P. 2317–2330.
24. Рубинов А. Н., Афанасьев А. А. // Оптика и спектроскопия. 2005. Т. 98, № 6. С. 1027–1032.
25. Qadri T., Bohdanecka P., Tunér J., Miranda L., Altamash M., Gustafsson A. // Lasers Surg. Med. 2007. Vol. 22. P. 245–251.
26. Ульянов С. С., Ульянова О. В. // Оптика и спектроскопия. 2010. Т. 109, № 2. С. 284–289.
27. Klebanov G. I., Shuraeva N. Yu., Klimov Yu. V., Sidorina N. G. // Laser Physics. 2004. Vol. 14, N 8. P. 1122–1131.
28. Karu T. I. <http://www.photobiology.info/Coherence.html>.
29. Захаров С. Д., Иванов А. В. // Квантовая электроника. 1999. Т. 29, № 3. С. 192–214.

V. Yu. P_{LAVSKII}, G. R. M_{OSTOVNIKOVA}, N. V. B_{ARULIN}, L. G. P_{LAVSKAYA}, A. I. T_{RET'YAKOVA},
A. V. M_{IKULICH}, I. A. L_{EUSENKO}, A. V. M_{OSTOVNIKOV}

BIOLOGICAL AND THERAPEUTIC ACTIONS OF OPTICAL LOW-INTENSITY RADIATION

Summary

In this work, we investigated the influence of laser radiation and radiation of light-emitting diode sources (LEDs) on the proliferative activity of animal cells in culture, the postembryonic development of sturgeon fishes upon short single irradiation of fertilized caviar, the activity of fish sperm, the zooplankton hatching upon irradiation of cysts depending on the parameters of the acting factor (power density, wavelength, polarization, degree of coherence). The methods of enhancement of the biological activity and the therapeutic action of optical radiation due to its modulation, the mutual action with a constant magnetic field, the combined consecutive radiation action in different spectral regions were developed. The mechanisms of photochemical and non-photochemical (non-resonant) processes lying in the basis of the observed light-induced effects were examined.