

УДК 577.331.34; 577.355

Алексеев Ю.В.¹, Бархина Т.Г.², Иванов А.В.^{1,3}, Давыдов Е.В.⁴, Ковалев М.И.⁵, Ковалева А.М.⁶**Воздействие фотодинамического и светокислородного эффектов на ультраструктуру различных популяций лейкоцитов**

Alekseev Yu.V., Barkhina T.G., Ivanov A.V., Davidov E.V., Kovalev M.I., Kovaleva A.M.

Effects of photodynamic and light-oxygen action at the ultrastructure of various leucocyte populations¹ ФГБУ «ГНЦ ЛМ им. О.К. Скобелкина ФМБА России», г. Москва² ФГБНУ «НИИ морфологии человека», г. Москва³ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва⁴ Ветеринарный центр «РосВет», ФГБОУ ВО МГУПП, г. Москва⁵ ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва⁶ ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ», г. Москва

В основе фотодинамического и светокислородного эффектов в биосистемах лежит генерация молекулярного синглетного кислорода. Различия в их проявлении связаны, прежде всего, с локализацией генерируемого синглетного кислорода в микроструктуре биологических объектов. Особенности их проявления определяют различие в областях практического применения изучаемых эффектов. *Цель работы.* Выявление субмикроскопических различий в лейкоцитах при действии лазерного излучения в полосе поглощения кислорода и при ФДЭ. *Материалы и методы.* Из полученной венопункцией донорской крови по стандартной методике выделяли лимфо-лейкомассу, эпиквоты которой по 0,5 мл подвергали облучению в кварцевой кювете излучением лазера 1264 нм (светокислородный эффект – СКЭ). Вторую серию образцов облучали излучением 405 нм (полоса Сорет) в присутствии фотосенсибилизатора (ФС) хлорина Е6 (фотодинамический эффект – ФДЭ). Использовались различные параметры облучения. Суспензию лейкоцитов подготавливали для микроскопии по стандартной методике для клеток крови. Полутонкие срезы просматривали под световым бинокулярным микроскопом DLMB с цифровой камерой и анализатором изображения фирмы Leica. Ультратонкие срезы просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе Libra 120 фирмы Karl Zeiss. *Результаты.* При большом увеличении (600–1000) микроскопа можно констатировать, что при разных режимах эксперимента наблюдаются морфологические изменения и гранулоцитов и агранулоцитов. При лазерном воздействии 1264 нм с максимальной экспозиционной дозой облучения (90 Дж/см²) наблюдаются изменения в моноцитах и лимфоцитах, заключающиеся в частичной отслойке плазмалеммы или ее отстраненность от основной цитоплазмы. В гранулоцитах имеются участки цитоплазмы, лишенные оргanelл, что свидетельствует о воздействии именно на перераспределение ядер и остальных компонентов цитоплазмы гранулоцитов. С уменьшением дозы облучения в образцах изменений наблюдается значительно меньше, что свидетельствует об их дозовой зависимости. При облучении в полосе Сорет с ФС и экспозиционной дозой облучения (100 Дж/см²) наблюдаются изменения, которые характеризуются в гранулоцитах везикуляцией цитоплазмы, а в агранулоцитах клетки имеют больший объем, что свидетельствует о повреждении клеточной мембраны и начале осмотического набухания. *Заключение.* Данные при электронномикроскопическом исследовании в различных клеточных популяциях свидетельствуют о разных изменениях ядерно-цитоплазматических взаимоотношений при различных параметрах облучения. Эти различия обуславливают преимущественные области практического использования СКЭ и ФДЭ, что является предпосылкой для продолжения исследований в данном направлении. *Ключевые слова:* фотодинамический эффект, светокислородный эффект, низкоэнергетическое лазерное излучение, синглетный кислород, электронная микроскопия, клетки крови.

Photodynamic and light-oxygen effects in biosystems are caused by molecular singlet oxygen production. The difference in their manifestations is associated, first of all, with the place where singlet oxygen is generated in the microstructure of biological objects. Peculiarities of their effects determine area of their application. *Objective.* To find out submicroscopic differences in leukocytes which are treated by laser light in the oxygen absorption band and under photodynamic effect (PDE). *Materials and methods.* Lympho-leuko mass was extracted from donor blood taken at a venipuncture using the standard procedure. Its 0.5 ml epiquots were irradiated in a quartz cuvette with 1 264 nm laser radiation (light-oxygen effect – LOE). The second series of samples was irradiated with 405 nm radiation (Soret band) in the presence of chlorine E6 photosensitizer (photodynamic effect – PDE). Various irradiation parameters were used. Leukocyte suspension was prepared for microscopy by the standard technique for blood cells. Semi-thin slices were examined with DLMB light binocular microscope having a digital camera and image analyzer made by the Leica firm. Ultra-thin sections were examined by transmission electron microscope Libra 120 (Karl Zeiss firm). *Results.* In large magnification (600–1000) of the microscope, morphological changes in both granulocytes and agranulocytes were observed under different experimental regimes. When laser exposure is 1 264 nm and maximal exposure dosage – 90 J/cm², changes in monocytes and lymphocytes look like a partial detachment of plasmalemma or its detachment from the main cytoplasm. In granulocytes, there are cytoplasmic areas having no organelles what indicates that the impact was right at the redistribution of nuclei and other components of granulocyte cytoplasm. With irradiation dosage decreasing, changes in samples become less; it shows their dose-dependent character. If irradiation takes place in the Soret band with photosensitizer and exposure dose 100 J/cm², changes observed in granulocytes show cytoplasmic vesiculation, while agranulocytes cells have a larger volume what indicates injuries to cell membranes and the onset of osmotic swelling. *Conclusion.* The data obtained in different cell populations under electron microscopy examination indicate different changes in nuclear-cytoplasmic relationships under different irradiation parameters. These differences predetermine more precise points for better practical application of LOE and PDE effects. At the same time, the obtained data can be prerequisite for future researches in this direction. *Keywords:* photodynamic effect, light-oxygen effect, low-level laser radiation, singlet oxygen, electron microscopy, blood cells.

Введение

В настоящее время метод фотодинамической терапии (ФДТ) активно применяется в различных областях ме-

дицины при лечении ряда заболеваний [18, 21, 22, 24]. Как известно, фотодинамический эффект (ФДЭ) возникает при переносе энергии от возбужденных молекул

фотосенсибилизатора (ФС) на молекулы кислорода с переводом их в высокорективное синглетное состояние. В дальнейшем в клетках развивается цепь более или менее однотипных реакций, связанных с активными формами кислорода. В клинической практике применяется целый ряд ФС как природного происхождения, так и синтезированных (фталоцианины). В основном это производные гематопорфирина («животные порфирины»), хлорофины (производные хлорофилла, «растительные порфирины»), бактериохлорофины (производные пурпуринов, являющихся аналогами хлорофилла у почвенных бактерий). Последние поглощают световое излучение и в ближнем инфракрасном диапазоне в отличие от предыдущих соединений, «работающих» в основном в видимом диапазоне спектра. По химической структуре все они относятся к тетрапирролам и имеют несколько полос поглощения. В онкологической практике, как правило, используются ФС, имеющие более длинноволновую полосу поглощения, так как излучение в этом диапазоне глубже проникает в биологические ткани.

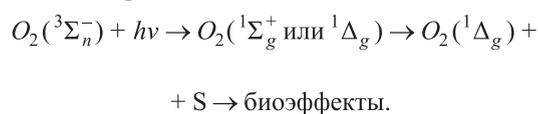
Помимо тетрапирролов используются или планируются к использованию фталоцианины, фуллерены, наночастицы пористого кремния и т. д. Применяются также так называемые «антенные» соединения, например, фикоцианины, которые сами не являясь ФС, поглощают квант световой энергии и передают ее на ФС, но спектр их поглощения отличается от спектра поглощения ФС. Активно используется, в основном в дерматологии, 5-аминолевулиновая кислота, являющаяся стимулятором накопления эндогенных порфиринов (протопорфирин IX) [6]. ФДЭ оказывает антимикробное, антивирусное, иммуномодулирующее действие, стимулирует неоваскуляризацию тканей, что наблюдается и при так называемом «светокислородном эффекте» (СКЭ) [8], и за счет обратимого нарушения целостности клеточных мембран способствует проникновению в клетки лекарственных препаратов [2, 6, 11, 13, 14, 16, 17]. При ФДТ используются три компонента: ФС, свет с длиной волны в полосе поглощения ФС и молекулярный кислород, присутствующий во всех тканях и органах.

В конце 80-х годов прошлого века российскими учеными была высказана гипотеза о возможности генерации синглетного кислорода светом в биосистемах и без сенсибилизации [1, 7, 19]. Для этого необходимо узкополосное (квазимонохроматическое) излучение в определенных спектральных интервалах видимого и ближнего ИК-диапазона, соответствующих полосам поглощения растворенного в водной среде молекулярного кислорода. В цикле систематических исследований на эритроцитах человека [4, 5, 12, 19] и растворах альбумина [3, 9, 26] были сняты «спектры действия», которые были идентифицированы как кислородные полосы поглощения с максимумами при 587, 639, 762, 1264 нм. Из сравнения этих спектров следует, что биологические эффекты (изменение упругости мембраны эритроцитов) обусловлены прямой фотогенерацией синглетного кислорода, причем наиболее эффективным является излучение в полосе 1264–1270 нм. Последующие измерения спектров действия в экспериментально-клинических исследованиях *in vivo* в полосах поглощения 587 нм и

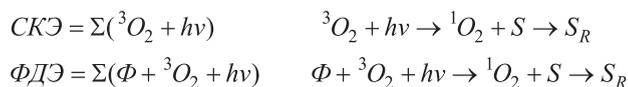
639 нм подтвердили правильность полученных *in vitro* результатов [10, 20, 23].

Акцептором фотонов, запускающим наблюдаемые биологические эффекты во всех исследованных спектральных участках видимого и ближнего ИК-диапазона, является молекула кислорода. Присутствуя во всех живых биосистемах, кислород является неспецифическим первичным фотоакцептором, чем можно объяснить удивительную широту терапевтических эффектов низкоэнергетического лазерного излучения. Явление, названное светокислородным эффектом (СКЭ) [8], представляет собой один из основных однозначно установленных механизмов низкоэнергетической лазерной терапии.

Таким образом, СКЭ – управляемое воздействие на биологические структуры в основном на клеточном уровне за счет генерации синглетного кислорода при действии излучения внутри полос поглощения молекулярного кислорода:



Основанные на СКЭ методы лечения составляют новое направление – светокислородную терапию (СКТ). Сравнение СКЭ (двухкомпонентного) и ФДЭ (трехкомпонентного) показывает, что в обоих эффектах первичным биологически активным агентом является синглетный кислород 1O_2 ($^1\Delta_g$).



Очевидная аналогия в протекании ФДЭ и СКЭ – с общим биологически активным агентом является синглетный кислород 1O_2 – предполагает зависимость этих эффектов от концентрации O_2 в среде, что и было продемонстрировано в серии экспериментов [8].

Поэтому большой интерес представляет выявление морфологических различий на клеточном и субклеточном уровнях при действии лазерного излучения в полосе поглощения кислорода и при ФДЭ. Как модель для экспериментов нами были выбраны клетки белой крови.

Цель работы

Выявление субмикроскопических различий в лейкоцитах при действии лазерного излучения в полосе поглощения кислорода и при ФДЭ.

Материалы и методы

Забор донорской крови производился из локтевой вены в количестве 5 мл в пробирки с раствором гепарина. Из забранной крови по стандартной методике выделяли лимфо-лейкоцитарную массу с использованием фикола с помощью центрифугирования. Количество отмытых клеток подсчитывали в камере Горяева. Эпиквоты лимфо-лейкоцитарной массы по 0,5 мл подвергали облучению в кварцевой кювете излучением экспериментального лазера «Супер Сэб» (разработка ООО «Новые Хирургические Технологии», Россия) 1264 нм плотностью мощности 0,25 Вт/см² с экспозиционной дозой от 90 до



Рис. 1. Комплект лазерный «Супер Сэб»

15 Дж/см² (рис. 1). Для исключения возможного термического эффекта проводился контроль температуры; при базовой температуре 22 °С изменения не более +1,5 °С). На вторую серию образцов воздействовали излучением компактного полупроводникового лазера (разработка НТЦ ВОУ, Россия) 405 нм, попадающим в полосу Соре ФС, с плотностью мощности 0,3 Вт/см² в стеклянных пробирках в присутствии ФС хлорина Е6 с концентрацией 0,3 мкг/мл и такой же экспозиционной дозой от 15 до 90 Дж/см².

Суспенсию лейкоцитов проводили по стандартной методике для электронной микроскопии (ТЭМ): префиксировали в смеси 2,5% глутарового альдегида и 4% формальдегида на фосфатном буфере, промывали в фиксаторе и фиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия, проводку делали в ацетонах возрастающей крепости и заливали в смесь эпона с аралдитом. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB (Швеция) и просматривали в световом микроскопе DLMB с цифровой камерой и анализатором изображения фирмы Leica и на электронном микроскопе Libra 120 фирмы Karl Zeiss (ТЭМ).

Результаты

Анализ просмотра полутонких срезов (ПТС) показал, что суспensionия содержит в основном лейкоциты. При большом увеличении (600–1000) светового микроскопа можно констатировать, что при разных режимах эксперимента наблюдаются морфологические изменения и гранулоцитов и агранулоцитов. При лазерном воздействии (1264 нм, 90 Дж/см²) препараты ПТС выявили наиболее заметные изменения в гранулоцитах, которые и имеют более весомый объем по сравнению с агранулоцитами. Особенно это заметно при изучении мембран нейтрофилов, которые имеют значительные повреждения целостности некоторых клеток, а в отдельных – отслоение пограничной мембраны с пузыреобразованием в основной части цитоплазмы (рис. 2, а–г). Лимфоциты и моноциты подобных изменений не имеют, однако можно констатировать, что их доля в общей картине препаратов наблюдается в меньшем объеме. При ТЭМ регистрируются ультраструктурные изменения не только в пограничных мембранах, но и в органеллах цитоплазмы и оте-

ке гиалоплазмы; везикуляция цитоплазмы встречается не только в пограничных участках, но и по всей цитоплазме (рис. 2, б, в стрелки). Лимфоциты и моноциты характеризуются малой структурированностью цитоплазмы: крупные ядра занимают большую площадь цитоплазмы; органеллы скудны, из них выделяются гиперосмированные митохондрии и отдельные спавшиеся цистерны гранулярной эндоплазматической сети (ГЭПС), но много свободных моно- и полисом (рис. 2, в стрелки).

В гранулоцитах имеются участки цитоплазмы, лишенные органелл, что свидетельствует о воздействии на перераспределение ядер и остальных компонентов цитоплазмы гранулоцитов (рис. 2, г). Везикуляция и вакуолизация цитоплазмы отдельных клеток, в основном нейтрофилов и отдельных базофилов и эозинофилов, связаны с изменениями в системе эндоплазматической сети с ее дегрануляцией. В образцах с дозой 45 и 15 Дж/см² – изменений наблюдается значительно меньше, что свидетельствует об их дозовой зависимости. При электронномикроскопическом исследовании в различных клеточных популяциях лейкоцитов наблюдаются изменения, свидетельствующие о разных изменениях ядерно-цитоплазматических взаимоотношений при альтернативных параметрах облучения, что является предпосылкой для продолжения исследований в данном направлении.

При лазерном воздействии (405 нм, 90 Дж/см²) с ФС препараты ПТС выявили изменения, характерные для предыдущего эксперимента, но в меньшем объеме, также имеющие и другие параметры изменений метаболических функций клеток, в основном гранулоцитов (рис. 3, а–г). Лимфоциты и моноциты подобных изменений не имеют, однако в них встречаются фагосомы, цитофагосомы и цитолизфагосомы.

Гранулоциты разнятся по своей ультраструктуре: наиболее уязвимыми из них являются базофилы (рис. 3, б, г); в них наблюдаются значительные изменения в ядрах; везикуляция и вакуолизация цитоплазмы, полиморфизм гранул; редукция ГЭПС и элементов комплекса Гольджи (кГ), а также наличие элементов фагоцитоза. В нейтрофильных лейкоцитах наблюдается везикуляция цитоплазмы и полиморфизм гранул, фрагментация ГЭПС и готовность к апоптозу.

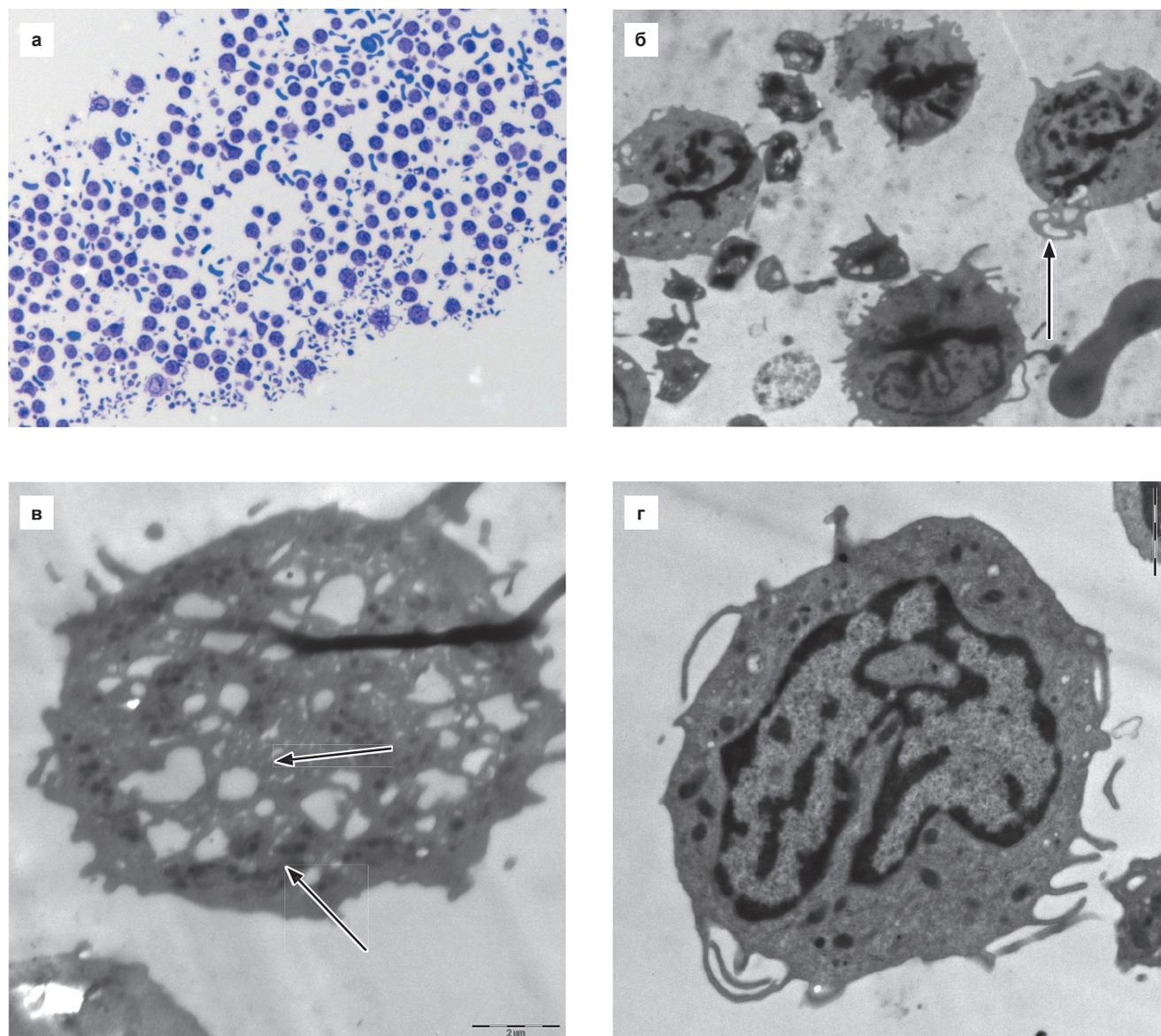


Рис. 2. Суспензия лейкоцитов. Лазерное воздействие 1264 нм: а – агранулоциты и гранулоциты. Участки гранулоцитов с изменениями в мембранах нейтрофилов, $\times 700$; б – группа гранулоцитов, выпячивание пограничной мембраны с элементами «пузыреобразования», $\times 7000$; в – везикуляция цитоплазмы и контакт мелких везикул с гранулами и моно- и полисомами в нейтрофиле, $\times 20\,000$; г – наблюдаются значительные изменения в ядрах, изменение их конфигурации с признаками фрагментации, перераспределения эу- и гетерохроматина; полиморфизм гранул в нейтрофиле, $\times 10\,000$

Во всех гранулоцитах наблюдается фрагментация ядер, изменение их конфигураций, склонность к апоптозу и выбросу ядрышек из ядер. Количество эозинофилов резко уменьшено. Таким образом, можно констатировать, что при данном лазерном воздействии наблюдаются ультраструктурные изменения, свидетельствующие о метаболических перестройках в системе белой крови со значительными нарушениями проницаемости мембран как агранулоцитов, так и гранулоцитов. Наиболее серьезные субмикроскопические изменения касаются базофилов и нейтрофилов, в меньшей – лимфоцитов и моноцитов. Однако наблюдаемое в данном эксперименте явление сближения лейкоцитов при помощи цитоплазматических отростков характерно как для гранулоцитов, так и агранулоцитов (рис. 3, в, г). О нарушении проницаемости мембран можно судить по везикуляции и вакуолизации цитоплазмы клеток в различных локусах

околограничных и в парануклеарной зонах, а также по всей цитоплазме лейкоцитов. Метаболические перестройки характеризуются редукцией ГЭПС и элементов кГ и одновременно усилением белковой готовности поддержания клетки в виде большого количества моно- и полисом, вырабатывающих достаточное количество новых молекул протеинов.

При облучении в полосе Соре с ФС наблюдаются значительно менее выраженные изменения, которые характеризуются в гранулоцитах везикуляцией цитоплазмы, а в агранулоцитах – клетки имеют больший объем, что свидетельствует о повреждении клеточной мембраны и начале осмотического набухания. Эта готовность поддерживается и полиморфизмом гранул гранулоцитов. Изменения ядерно-цитоплазматических взаимоотношений и ультраструктуры самих ядер и парануклеарной зоны свидетельствуют о небезразличии генетической

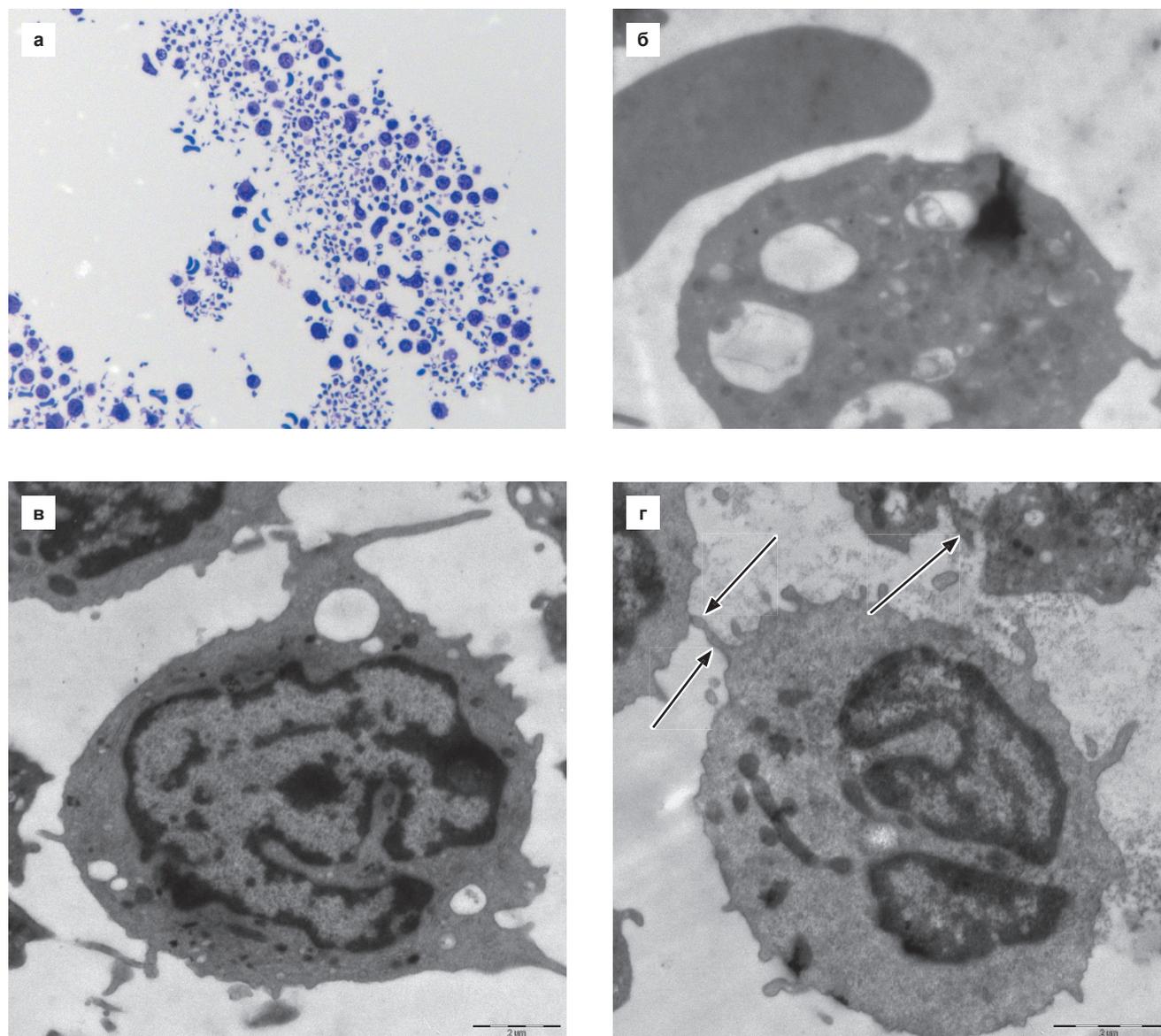


Рис. 3. Суспензия лейкоцитов. Лазерное воздействие с длиной волны 405 нм при фотосенсибилизации: а – гранулоциты и агранулоциты с незначительными повреждениями мембран, $\times 700$; б – стадии образования фагосом, цитофагосом и лизоцитофагосом в базофиле; в – контакт базофила и лимфоцита, гиперсмориванные митохондрии в базофиле; г – тесный контакт лимфоцитов посредством внутриклеточных отростков, гиперсмориванные митохондрии, $\times 10\,000$

направленности повреждений, в особенности при готовности ядер к апоптотическим модификациям. Эти изменения характерны для экспозиционной дозы 90 Дж/см², хотя в образцах с экспозиционными дозами 15 и 45 Дж/см² могут наблюдаться такие же ультраструктурные изменения, но с меньшей интенсивностью. Следует отметить, что при всех трех экспозициях остается тенденция гиперсмориванности митохондрий, что свидетельствует об активности этих органелл и в гранулоцитах, и в агранулоцитах. Это может свидетельствовать об энергетической активизации в лейкоцитах при лазерном воздействии, связанной с модификацией мембраны митохондрий синглетным кислородом, генерированным адсорбированными на мембране молекулами ФС.

Полутонкие срезы при лазерном облучении в полосе Соре с фотосенсибилизацией характеризуются большей стабильностью мембран, чем в предыдущих сериях. Прерывистости мембран ни у одной из популя-

ций лейкоцитов не наблюдалось. Однако в популяции агранулоцитов иногда встречались участки цитоплазмы, чередующиеся со светлыми и темными участками, которые свидетельствуют о нестабильности водно-солевого баланса. Электронномикроскопические особенности субпопуляций лейкоцитов при ФДЭ заключались в следующем: 1) отличительным признаком данного воздействия является тесный контакт лимфоцитов посредством внутриклеточных отростков или мембранно-мембранным «перетеканием»; 2) несмотря на заметное пузыреобразование в гранулоцитах их пограничная мембрана сохранна; 3) образование в вакуолизованных полостях фагосом и цитолизосом.

Эти данные свидетельствуют о том, что патологические субмикроскопические изменения при лазерном воздействии под влиянием фотосенсибилизации в некоторой степени приобретают свойства стабилизации и адаптации мембран как агранулоцитов, так и гранулоци-

тов, а наличие фагосомальной составляющей показывает то, что данный эффект является важным моментом в коррекции нежелательных субмикроскопических изменений при лазерном воздействии.

Заключение

Таким образом, нами впервые показано, что СКЭ и ФДЭ оказывают специфическое воздействие на клетки белой крови. Общность механизмов ФДЭ и СКЭ создает основу для разработки методик беспрепаратной фототерапии ряда заболеваний – светокислородной терапии и является основой для разработки медико-технических требований на новые образцы лазерной медицинской аппаратуры. Варьируя параметры лазерного излучения, можно добиться как цитостатического, цитотоксического эффектов, так и эффектов ускорения репаративных процессов.

В комплексе физико-химических и медико-биологических исследований, выполненных за последние два десятилетия, установлен единый механизм биостимулирующего и фотодеструктивного действия ФДЭ и СКЭ [2, 23, 25]. Фотодинамический и светокислородный эффекты объединяют: первичный фотопродукт $^1\text{O}_2$;

- зависимость от концентрации O_2 в тканях;
- специфическая динамика развития повреждений в клетках;
- зависимость морфологических изменений от поглощенной дозы (доза-эффект);
- возможность получения цитотоксического и стимулирующего эффектов.

Они различаются:

- квантовым выходом генерации $^1\text{O}_2$ (при ФДЭ он значительно выше);
- концентрацией активных форм кислорода в результате фотовоздействия (при ФДЭ их значительно больше, чем при СКЭ);
- локализацией $^1\text{O}_2$ в тканях (локальной концентрацией в микроструктурах ткани). Если при ФДЭ $^1\text{O}_2$ сосредоточен в основном в местах локализации ФС, на мембранных структурах, то при СКЭ $^1\text{O}_2$ рассредоточен в цитоплазме и межклеточной жидкости;
- преимущественными путями дезактивации $^1\text{O}_2$: при ФДЭ велика вероятность химических реакций $^1\text{O}_2$ со структурными компонентами мембран, а при СКЭ значительно выше вероятность физического пути дезактивации – сброс возбуждения в окружающую водную матрицу с последующей ее структуризацией.

Эти различия обуславливают преимущественные области практического использования этих эффектов. В настоящее время ФДЭ активно применяется при ФДТ в онкологии и при неонкологических заболеваниях [15]. В то же время СКЭ, который в основном определяет эффективность низкоэнергетической лазерной терапии при некоторых длинах волн, может иметь значительно более широкий спектр применения. Несомненно, полученные результаты нуждаются в дальнейшем изучении для целенаправленного применения в медицинской практике.

Выводы

Приведенные результаты позволяют сделать вывод о существовании единого молекулярно-мембранного механизма стимулирующего и деструктивного действия оптического излучения посредством генерации в биологических системах молекулярного синглетного кислорода, что не исключает других возможных механизмов биологического действия света.

Большой интерес с точки зрения перспектив практического применения представляют исследования воздействия СКЭ и ФДЭ на различные ткани организма (клеточный и субклеточный уровни), как в отдельности, так и, возможно, в сочетании. Во всяком случае, основываясь на имеющихся данных, дополненных нашими экспериментами, можно сделать вывод о намечающихся подходах по управлению метаболическими процессами на клеточном уровне.

Литература

1. Амбарцумян Р.В., Елисеев П.Г., Еремеев Б.В. и др. Биологическое действие лазерного излучения на эритроциты в инфракрасной полосе поглощения молекулярного кислорода // Краткие сообщения по физике. – 1987. – № 10. – С. 35–37.
2. Алексеев Ю.В., Захаров С.Д., Иванов А.В. Фотодинамический и светокислородный эффекты: общность и различия // Лазерная медицина. – 2012. – № 16 (4). – С. 4–9.
3. Букин Г.В., Вольф Е.Б., Данилов В.П. и др. Структурные переходы межклеточного раствора, вызванные прямой фотогенерацией синглетного кислорода в суспензии эритроцитов // Краткие сообщения по физике ФИАН. – 1991. – № 1. – С. 18–24.
4. Данилов В.П., Захаров С.Д., Иванов А.В. и др. Фотодинамическое повреждение клеток в красной и ИК полосах поглощения эндогенного кислорода // Доклады АН СССР. – 1990. – Т. 311. – № 5. – С. 1255–1258.
5. Данилов В.П., Захаров С.Д., Иванов А.В. и др. Спектрально-селективный фотодинамический эффект без экзогенных фотосенсибилизаторов и его возможные применения для фототерапии рака и биостимуляции // Известия АН СССР, серия Физика. – 1990. – № 8. – С. 1610–1620.
6. Демина О.М., Картелицев А.В. Динамика показателей клеточного, гуморального иммунитета и клеточных факторов роста у больных вульгарными угрями при фотодинамической терапии // Лазерная медицина. – 2011. – № 15 (4). – С. 12–17.
7. Захаров С.Д., Еремеев Б.В., Перов С.Н. Сравнение эффектов лазерного воздействия на длинах волн 1,26 и 0,63 мкм на эритроциты // Краткие сообщения по физике ФИАН. – 1989. – № 1. – С. 15–16.
8. Захаров С.Д., Иванов А.В. Светокислородный эффект в клетках и перспективы его применения в терапии опухолей // Квантовая электроника. – 1999. – Т. 29. – № 3. – С. 192–214.
9. Захаров С.Д., Иванов А.В., Вольф Е.Б. и др. Структурные перестройки в водной фазе клеточных суспензий и белковых растворов при светокислородном эффекте // Квантовая электроника. – 2003. – Т. 33. – С. 149–162.
10. Захаров С.Д., Иванов А.В., Корочкин И.М., Данилов В.П. Прямое возбуждение фотонами эндогенного молекулярного кислорода – фотофизический акт терапевтического действия лазерного излучения // Лазерная медицина. – 2006. – Т. 10. – Вып. 1. – С. 4–9.
11. Лихачева Е.В., Алексеев Ю.В., Мазур Е.М., Пономарев Г.В. Изучение эффективности сочетанного применения лекарственных композиций фотосенсибилизаторов с антибактериальными, антигистаминными и заживляющими препаратами при разных формах хронических ринитов и риносинусопатий // Лазерная медицина. – 2011. – № 15 (2). – С. 66–67.
12. Немцев И.З., Захаров С.Д., Лапшин В.П. и др. Обоснование применения гелий-неонового лазера в медицинской реабилита-

- ции больных с атрофиями // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 1992. – Т. 26. – № 2. – С. 57–62.
13. Николаева Е.В. Низкоинтенсивное лазерное и некогерентное излучение в лечении стрептостафилодермий и псориаза. Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – С. 51–52.
 14. Странадко Е.Ф., Рябов М.В., Фурлатова Н.М. и др. Исследование антибактериальной активности фотодинамической терапии с новым фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте *in vitro* // Лазерная медицина. – 2002. – № 6 (1). – С. 44–47.
 15. Странадко Е.Ф., Иванов А.В. Современное состояние проблемы фотодинамической терапии рака и неопухолевых заболеваний // Биофизика. – 2004. – Т. 49. – № 2. – С. 380–383.
 16. Фиалкина С.В., Алексеев Ю.В., Коновалова Г.Н. и др. Подавление жизнеспособности клеток стафилококков лазерным лучом 1270 нм // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 5. – С. 70–73.
 17. Фиалкина С.В., Бондаренко В.М., Алексеев Ю.В., Армичев А.В. Подавляющее действие лазерного облучения длиной волны 1270 нм на репликацию вирионов бактериофага // Лазерная медицина. – 2011. – № 15 (2). – С. 113.
 18. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Романко Ю.С. и др. Фотодинамическая терапия. – М.: Изд. МИА, 2009. – 212 с.
 19. Armichev A.V., Ivanov A.V., Panasenko N.A. et al. Spectral Dependence of Erythrocyte Response of Low-Intensity Irradiation at 570–590 nm // Journal of Russian Laser Research. – 1995. – Vol. 16. – P. 186–188.
 20. Babenko E.V., Eretneev B.V., Kapustina G.M. et al. Copper-vapor laser application for the identification of primary photoreceptor by low level laser therapy of patients // J. Russian Laser Research. – 1995. – Vol. 16. – P. 181–185.
 21. Brown S.B., Brown E.A., Walker I. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment // Lancet. Oncol. – 2004. – Vol. 5. – P. 497–508.
 22. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson W. et al. Photodynamic Therapy // J. Nat. Cancer Inst. – 1998. – Vol. 90. – P. 889–905.
 23. Ivanov A.V., Zakharov S.D., Mashalov A.A. The light-oxygen effect as the analogue of photodynamic effect and its possibility in tumor therapy // In Current Research on Laser Use in Oncology: 2000–2004, edited by Andrei V. Ivanov, Mishik A. Kazaryan, Proc. SPIE. – 2005. – Vol. 5973, 59730U 1–13.
 24. Levy J.G. Photodynamic Therapy // Trends in Biotechnology. – 1995. – Vol. 13. – № 1 (132). – P. 14–18.
 25. Zakharov S.D., Ivanov A.V. Light-Oxygen Effect as a Physical Mechanism for Activation of Biosystems by Quasi-Monochromatic Light (A Review) // Biophysics. – 2005. – Vol. 50. – Suppl. 1. – P. S64–S85.
 26. Zakharov S.D., Ivanov A.V. Changes in the aqueous phase of cell suspensions and protein solutions induced by a photoexcitation of the molecular oxygen (to mechanisms of biological action of low level laser radiation), In Current Research on Laser Use in Oncology: 2000–2004, edited by Andrei V. Ivanov, Mishik A. Kazaryan, Proc. SPIE. – 2005. – Vol. 5973, 5973OV 1-14.

Поступила в редакцию 03.04.18 г.

Для контактов: Алексеев Юрий Витальевич
E-mail: ural377@mail.ru