

## References

1. Boboshko M.Yu. Pathogenesis, diagnostics and treatment of Eustachian tube dysfunctions: *Diss. Dr. Sc. (med)*. St-Petersburg, 2006, 249. [In Russ.].
2. Burmistrova T.V. Etiopathogenetic aspects of exudative otitis media: *Diss. Dr. Sc. (med)*. M., 2006: 140. [In Russ.].
3. Kryukov A.I., Kunnelskaya N.L., Gurov A.V. et al. Clinical picture and microbiological specificity in acute otitis media. *Vestnik otorinolaryngologii*. 2015; 4: 52–55. [In Russ.].
4. Kuznetsova N.E. Radiowave tympanostomy and endoscopic adenotomy in children with exudative otitis media: *Diss ... Cand. Sc. (med)*. Tyumen, 2013: 132. [In Russ.].
5. Svistushkin V.M., Zolotova A.V., Smirnova O.D., Nikiforova G.N. Radiowave myringotomy in experiment and in clinical practice. *Vestnik otorinolaryngologii*. 2017; 1: 52–55. [In Russ.].
6. Stratieva O.V., Arefieva N.A. Tympanotomy and functional reconstructive otosurgery in patients with exudative otitis. Ufa. 2000: 48. [In Russ.].
7. Chigirina E.V. Modernization of techniques for treating acute otitis media: *Diss. Cand.Sc. (med)*. M., 2011: 108. [In Russ.].
8. Garin P., Ledeghen S., Van Prooyen-Keyser S., Remacle M. Office-based CO<sub>2</sub> laser-assisted tympanic membrane fenestration addressing otitis media with effusion. *J. of Clinical Laser Medicine & Surgery*. 2001; 19: 185–187.
9. Hoa M., Syamal M., Schaeffer M.A. et al. Coticchia Biofilms and chronic otitis media: an initial exploration into the role of biofilms in the pathogenesis of chronic otitis media. *Am. J. Otolaryngol*. 2010; 31: 241–245.
10. Muhammad Saeed. Otitis media with effusion. *A.P.M.C.* 2013; 7 (1): 17.
11. Pawankar R.U., Okuda M., Okubo K., Ra C. Lymphocyte subsets in the nasal mucosa in perennial allergic rhinitis. *Am. J. of Respiratory and Critical Care Med*. 1995; 152: 2049–2058.
12. Rozanska-Kudelska M., Poludniewska B., Biszewska J. et al. Assessment of the hearing organ in the patients with allergic perennial and seasonal allergic rhinitis. *Otolaryngol. Pol.* 2005; 59 (1): 97–100.
13. Thomas S. Higgins. Otitis media with effusion. Medscape.com. <https://emedicine.medscape.com/article/858990-overview>.
14. Tos M. Development of mucous glands in the human Eustachian tube. *Acta Otolaryngol.* 1970; 70: 340–350.

УДК 576.311.349

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, ПОДВЕРЖЕННЫХ *IN SITU* НИЗКОИНТЕНСИВНОМУ ЛАЗЕРНОМУ ОБЛУЧЕНИЮ

М.С. Макаров, В.Б. Хватов

ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы», Москва, Россия

## Резюме

**Цель:** оценить морфофункциональный статус тромбоцитов, облученных *in situ* монохроматическим светом с разной длиной волны видимой части спектра. **Материал и методы.** Тромбоциты доноров, полученные путем аппаратного афереза, окрашивали витальным красителем и облучали с помощью лазерной установки в составе конфокального микроскопа «Nikon D-Eclipse C1» (Nikon, Япония). Для облучения использовали модулированный ультрафиолетовый свет ( $\lambda = 408$  нм), голубой свет ( $\lambda = 488$  нм), зеленый свет ( $\lambda = 543$  нм) и красный свет ( $\lambda = 637$  нм). Продолжительность облучения составляла от 0,5 до 60 мин. **Результаты.** При облучении светом  $\lambda = 488$  нм и  $\lambda = 543$  нм тромбоциты не претерпевали видимых изменений, при облучении красным светом ( $\lambda = 637$  нм) наблюдалась быстрая активация и дегрануляция биологически полноценных тромбоцитов, интенсивность дегрануляции зависела от продолжительности облучения. Схожий эффект отмечен при воздействии длинноволнового ультрафиолетового света ( $\lambda = 408$  нм), при этом скорость дегрануляции тромбоцитов с гранулами была ниже, чем при воздействии красного света. Смещение тромбоцитарных гранул к периферии цитоплазмы начиналось через 0,5–1 мин при воздействии красного света и через 10 мин – при воздействии ультрафиолетового света, полная активация биологически полноценных тромбоцитов наступала через 30 и через 60 мин соответственно. **Заключение.** Облучение тромбоцитов человека красным и ультрафиолетовым светом *in situ* стимулирует их спонтанную активацию без нарушения общей структуры тромбоцитов.

**Ключевые слова:** тромбоциты, тромбоцитарные гранулы, низкоинтенсивное лазерное излучение, активация тромбоцитов, дегрануляция тромбоцитов.

**Для цитирования:** Макаров М.С., Хватов В.Б. Морфофункциональные свойства тромбоцитов человека, подверженных *in situ* низкоинтенсивному лазерному облучению // Лазерная медицина. – 2019. – Т. 23. – Вып. 2. – С. 26–31.

**Контакты:** Макаров Максим Сергеевич, e-mail: mcsimmc@yandex.ru

## MORPHOFUNCTIONAL PROPERTIES OF HUMAN PLATELETS AFTER LASER IRRADIATION *IN SITU*

Makarov M.S., Khvatov V.B.

Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow, Russia

## Abstract

**Purpose.** To study morphofunctional characteristics of human platelets irradiated *in situ* with modulated light of the visible spectrum. **Material and methods.** Donor platelets were harvested by the automatic apheresis, stained with vital dye and irradiated with a laser system attached to the confocal microscope «Nikon D-Eclipse C1» (Nikon, Japan). Modulated light with long UV-wave ( $\lambda = 408$  nm), blue light ( $\lambda = 488$  nm), green light ( $\lambda = 543$  nm) and red light ( $\lambda = 637$  nm) was used for the irradiation; irradiation sessions lasted for 0.5–60 min. **Results.** After low-dose light irradiation with  $\lambda = 488$  nm and  $\lambda = 543$ , human platelets did not have any visible changes; after irradiation with red light ( $\lambda = 637$  nm), platelets with normal biological status were quickly degranulated and activated; degranulation intensity depended on the irradiation time. A similar effect was registered during long wave UV-irradiation ( $\lambda = 408$  nm), while the followed platelet activation was lower than after red light irradiation. Granules offset to the cytoplasm periphery started in 0.5–1 min after red irradiation

and in 10 minutes after ultraviolet one. Total activation of biologically high-grade platelets was seen in 30 and 60 min, respectively.  
**Conclusion.** Exposure of human platelets to red and ultraviolet light *in situ* stimulates their spontaneous activation without any damage to the platelet structure.

**Key words:** *platelets, platelet granules, low-dose irradiation, activation of platelets, degranulation of platelets.*

**For citations:** Makarov M.S., Khvatov V.B. Morphofunctional properties of human platelets exposed to *in situ* low-intensity laser irradiation. *Lasernaya Medicina*. 23 (2): 26–31. [In Russ.].

**Contacts:** Makarov M.S., e-mail: mcsimmc@yandex.ru

## Введение

Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) в видимой части спектра способно стимулировать многие процессы в клетках человека [2, 8, 18]. Показано, что облучение диплоидных клеток монохроматическим красным светом (630–638 нм) повышает их пролиферативную и миграционную активность [8, 15], запускает работу систем внутриклеточного сигналинга [2, 16], в условиях *in vivo* стимулирует процессы ангиогенеза, способствует улучшению состояния пациентов при острых отравлениях, панкреатите, холецистите и других патологиях [3, 7, 8, 11]. Клинический эффект фотомодификации крови в значительной степени основан на увеличении активности клеточных компонентов крови, в частности тромбоцитов [11, 18]. Считается, что видимый свет в фиолетово-сине-зеленой области модулирует агрегационную активность тромбоцитов, а красный цвет – подавляет [7, 10, 12]. Однако эти исследования проводились без подробного морфофункционального анализа клеток. Адекватно оценить морфофункциональный статус тромбоцитов, облученных НИЛИ, можно с помощью микроскопических методов исследования, включающих витальное (прижизненное) окрашивание клеток [5, 13].

**Цель работы** – изучить морфофункциональные свойства тромбоцитов человека, облученных *in situ* монохроматическим светом разной длины волны.

## Материал и методы

Исследовали тромбоциты доноров крови, полученные путем автоматического афереза на сепараторе крови Trima Accel (Терумо БСТ, США). Для морфофункционального анализа тромбоцитов использовали оригинальный метод, основанный на витальном окрашивании клеток трипафлавином и акридиновым оранжевым с последующим их анализом во флуоресцентном микроскопе [5]. Витальное окрашивание позволяет оценить структурную целостность и функциональную активность тромбоцитов без нарушения их жизнеспособности. Суспензию с витально окрашенными тромбоцитами в объеме 10–20 мкл наносили на предметное стекло, накрывали покровным стеклом (толщина 0,2 мм), после чего *in situ* проводили низкоимпульсное облучение с помощью лазерной установки в составе конфокального микроскопа «Nikon D-Eclipse C1» (Nikon, Япония) под объективом  $\times 4$ . Для облучения использовали модулированный ультрафиолетовый свет ( $\lambda = 408$  нм, плотность мощности 40 мВт/см<sup>2</sup>, частота 150 Гц), голубой свет ( $\lambda = 488$  нм, плотность мощности 20 мВт/см<sup>2</sup>), зеленый свет ( $\lambda = 543$  нм, плотность мощности 20 мВт/см<sup>2</sup>, частота 80 Гц) и красный свет ( $\lambda = 637$  нм, плотность мощности 5, 10 и 20 мВт/см<sup>2</sup>,

частота 80 Гц). Продолжительность облучения составляла 0,5–60 мин. В процессе морфофункционального исследования тромбоцитов до и после облучения определяли содержание адгезивно активных клеток с гранулами (биологически полноценные тромбоциты), оценивали общую морфологию тромбоцитов и рисунок распределения в них гранул, наличие и размер тромбоцитарных агрегатов. Полученные данные обрабатывали с помощью методов вариационной статистики с использованием пакета программ «Microsoft Excel 2000». Вычисляли средние арифметические значения ( $M$ ) и среднеквадратичные отклонения ( $\sigma$ ). Для оценки различий использовали  $t$ -критерий Стьюдента и критерий хи-квадрат для малых выборок. Различия значений считали достоверными при уровне значимости более 95% ( $p < 0,05$ ).

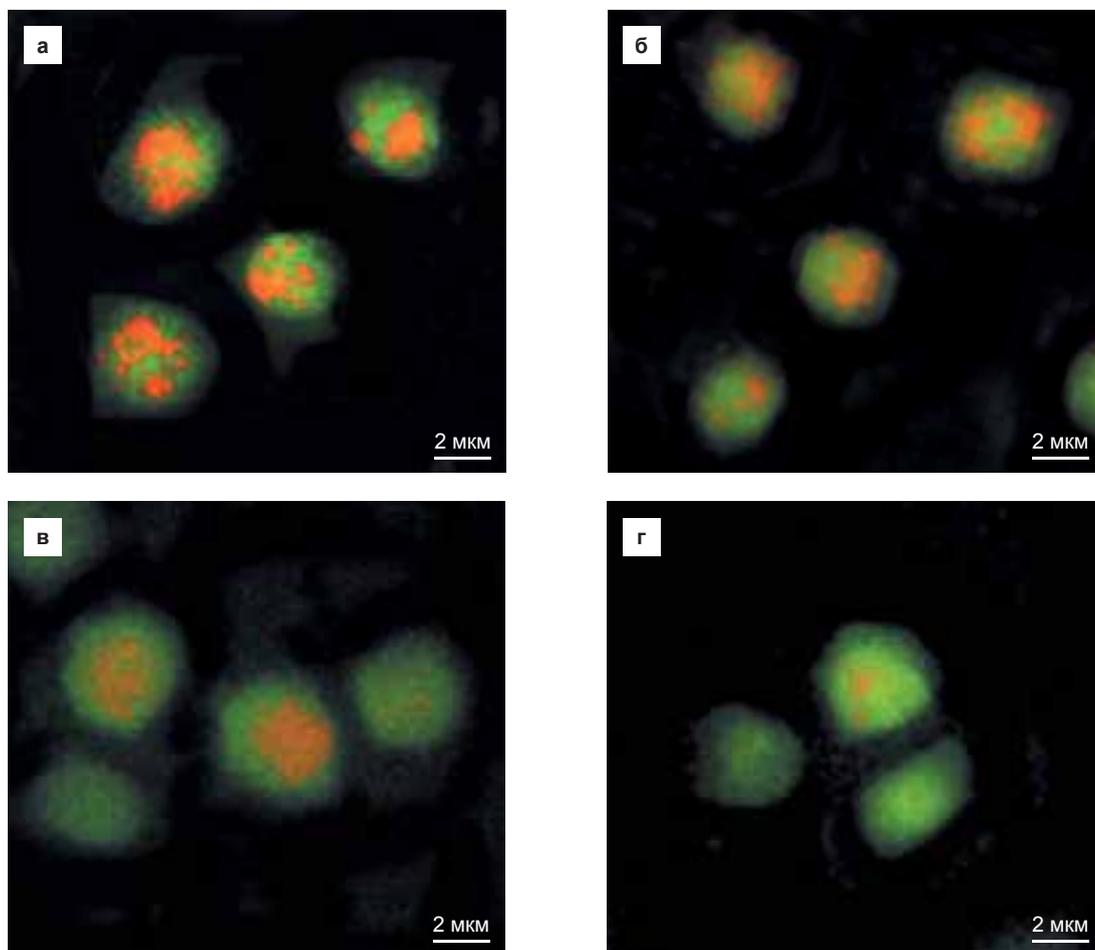
## Результаты и обсуждение

Воздействие голубого ( $\lambda = 488$  нм) и зеленого ( $\lambda = 543$  нм) света не вызывало никаких изменений в морфофункциональном статусе тромбоцитов (рис. 1а, 1б), их структурные и функциональные характеристики оставались такими же, что и до облучения.

Стоит особо подчеркнуть, что голубой свет с  $\lambda = 450$ –490 нм используется в нашей методике для инициации флуоресценции витально окрашенных тромбоцитов, при этом даже при длительном облучении (2–4 часа) тромбоциты полностью сохраняют свой морфофункциональный статус [5]. Напротив, при воздействии красного света уже через 0,5–1 мин в тромбоцитах наблюдалось смещение гранул к клеточной периферии и клеточной границе, а через 5 мин облучения часть тромбоцитов уже дегранулировала, содержание интактных тромбоцитов с гранулами снижалось с 50,6% до 39,4%. Одновременно с этим наблюдалось изменение формы тромбоцитов – через 1–5 мин облучения тромбоциты с гранулами начинали увеличивать свой диаметр, становясь более уплощенными, у некоторых клеток в суспензии можно было видеть выпячивания плазматической мембраны (ламеллоподии), характерные для адгезирующих тромбоцитов. Через 15–20 мин многие тромбоциты формировали мелкие агрегаты диаметром до 10–12 мкм, значительная часть клеток в их составе уже не содержала гранул, также активная дегрануляция наблюдалась среди одиночных тромбоцитов (рис. 1в).

Общий уровень тромбоцитов с гранулами после облучения красным светом при плотности мощности 20 мВт/см<sup>2</sup> достоверно снижался в течение всего времени наблюдения: через 5 минут после облучения содержание тромбоцитов с гранулами составило в среднем 78% от исходного значения, через 10–15 мин – 15%, через 30 мин – 1% (см. табл.).

Как видно из таблицы, 30 мин облучения красным светом вызывало практически тотальную дегрануляцию



**Рис. 1.** Морфология тромбоцитов человека после воздействия модулированного НИЛИ *in situ*. Витальное окрашивание трипафлавином и акридиновым оранжевым: **а** – исходные необлученные тромбоциты (контроль). Отчетливо видно зеленое свечение цитоплазмы и оранжево-красное свечение гранул. Тромбоцитарные гранулы расположены как в центральной части тромбоцитов, так и на их периферии; **б** – облучение тромбоцитов голубым светом ( $\lambda = 488$  нм) в течение 60 мин. Общая морфология тромбоцитов, распределение гранул в их составе не претерпели видимых изменений по сравнению с контролем; **в** – облучение тромбоцитов красным светом ( $\lambda = 637$  нм) в течение 15 мин. Происходит заметное увеличение диаметра тромбоцитов, смещение гранул к клеточной периферии, что обычно наблюдается при адгезии тромбоцитов на субстрате. Значительная часть гранул уже вышла за пределы тромбоцитов; **г** – облучение тромбоцитов УФ-светом ( $\lambda = 408$  нм) в течение 15 мин. Тромбоциты приобретают форму, характерную для ранних стадий адгезии (как при облучении красным светом), гранулы в составе тромбоцитов не выявляются или выявляются в незначительном количестве

**Fig. 1.** Morphology of human platelets after exposure to low-level laser irradiation (LLLI) modulated *in situ*. Vital staining with acridine orange and trypaflavine: **a** – native (non-irradiated) platelets (control). Green glow of cytoplasm and orange-red glow of granules are clearly visible. Platelet granules are located both in the central part of platelets and on their periphery; **б** – irradiation of platelets with blue light ( $\lambda = 488$  nm) for 60 min. General morphology of platelets, distribution of granules in their composition did not have any visible changes compared to the control; **в** – irradiation of platelets with red light ( $\lambda = 637$  nm) for 15 min. There is a noticeable increase in platelet diameter, displacement of granules to the cell periphery which is usually observed in platelet adhesion to the substrate. A significant part of granules have already gone beyond platelets; **г** – irradiation of platelets with UV light ( $\lambda = 408$  nm) for 15 min. Platelets take the form which typical for early stages of adhesion (as when exposed to the red light); granules in platelets are not detected or detected in small amounts

тромбоцитов *in situ*. Аналогичный эффект был отмечен в опытах, где плотность мощности красного света составляла соответственно 10 и 5 мВт/см<sup>2</sup>. При этом общая морфология тромбоцитов не претерпевала никаких видимых нарушений, общий рисунок окрашенной цитоплазмы, а также ее яркость, были такими же, как при адгезии тромбоцитов на стекле или при воздействии стандартных индукторов агрегации [4–6].

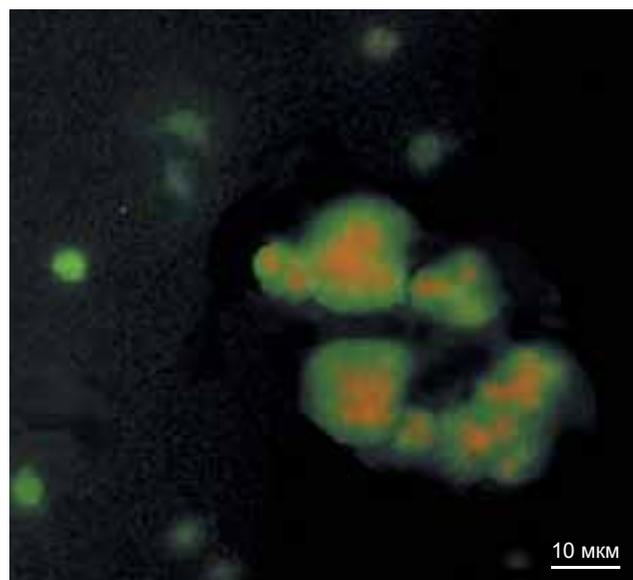
Воздействие ультрафиолетового света ( $\lambda = 408$  нм) оказывало эффект, аналогичный действию красного света (уменьшение числа клеток с гранулами), однако скорость дегрануляции тромбоцитов была несколько меньше. Через 5 минут облучения уровень тромбоцитов с гранулами в суспензии значимо не менялся, через

15 минут дегранулировали 50% тромбоцитов, через 30 мин – 85%, через 60 мин – 93%.

Смещение гранул к периферии цитоплазмы началось через 10 мин облучения, образование тромбоцитарных агрегатов – через 15–20 мин. При этом в образующихся агрегатах гранулы сохраняли связь с тромбоцитами дольше, чем в отдельных клетках: даже через 30–40 мин после облучения при витальном окрашивании можно было выявить гранулы на поверхности тромбоцитарных агрегатов, тогда как отдельно расположенные клетки в значительной степени дегранулировали (рис. 1г, рис. 2). Полный выход гранул из тромбоцитов, образующих агрегаты, наблюдался только через 60 мин.

**Таблица**Содержание тромбоцитов с гранулами в плазме после облучения модулированным красным и ультрафиолетовым светом *in situ***Table**Level of platelets with granules in plasma after irradiation with modulated red and ultraviolet light *in situ*

Тип образца Sample type	Число исследований Number of studies	Продолжительность облучения (мин) Duration of exposure (min)	Содержание тромбоцитов с гранулами (%) Level of platelets with granules (%) M ± σ
Исходные тромбоциты до облучения (контроль) Initial platelets before irradiation (control)	18	–	50,6 ± 1,7
Облучение красным светом, плотность мощности 5–20 мВт/см <sup>2</sup> Red light irradiation, power density 5–20 mW/cm <sup>2</sup>	13	0,5–1	50,3 ± 1,3
	15	5	39,4 ± 1,3*
	15	10–15	7,5 ± 3,0*
	12	30	1,0 ± 1,0*
	10	60	0
Облучение УФ-светом, плотность мощности 40 мВт/см <sup>2</sup> UV light irradiation, power density 40 mW/cm <sup>2</sup>	10	5	50,2 ± 1,5
	12	10–15	25,2 ± 1,0*
	12	30	7,7 ± 2,4*
	10	60	3,4 ± 1,9*

**Примечание.** \* – различия с контролем достоверны (p < 0,05).**Note.** \* – differences with controls are significant (p < 0,05).

**Рис. 2.** Выявление тромбоцитарных агрегатов в плазме после облучения тромбоцитов УФ-светом ( $\lambda = 408$  нм) в течение 30 мин. Витальное окрашивание трипафлавином – акридиновым оранжевым. Наблюдается формирование многочисленных мелких агрегатов, в составе которых сохраняется часть гранул. При этом одиночные клетки в плазме уже полностью дегранулировали

**Fig. 2.** Formation of platelet aggregates after plasma irradiation with UV light ( $\lambda = 408$  nm) for 30 min. Vital staining with acridine orange and tripaflavine. There is the formation of numerous small aggregates in which one can still see some part of granules. At the same time, single cells in the plasma have completely degraded

Считается, что тромбоциты человека не содержат сильных хромофоров, способных активно поглощать свет видимой части спектра [9]. Вместе с тем установлено, что модулированный красный свет (630–638 нм) вызывает активацию супероксиддисмутазы и выработку эндогенной перекиси водорода, которая может запускать системы внутриклеточного сигналинга и вызывать активацию тромбоцитов даже в отсутствие индукторов агрегации или субстрата для адгезии [1, 4, 6]. Кроме того, НИЛИ

в красном диапазоне стимулирует выход ионов кальция из внутриклеточных депо [8, 13, 16], что также является сильным стимулом для активации тромбоцитов. Как показывают наши исследования, начальные стадии активации, связанные с перемещением гранул к периферии тромбоцита, начинаются уже через 0,5–1 мин облучения красным светом, а через 5 мин уже более 20% тромбоцитов с гранулами оказываются высокоактивированными и дегранулируют (см. табл.). С учетом того, что высокоактивированные тромбоциты уже не могут проявлять адгезивной или агрегационной активности, общий функциональный потенциал тромбоцитов должен снижаться. Это может объяснять эффект, отмеченный в работе Н.Н. Петрищева и др. [10], когда после 3 мин облучения красным светом (630 нм) агрегационная активность тромбоцитов снижалась почти на 40%. И, напротив, НИЛИ длительностью 0,5 мин достоверно увеличивало агрегационную активность [10]. Очень вероятно, что это связано именно со смещением гранул и внутренней перестройкой функционально полноценных тромбоцитов, которая в условиях всей популяции создает условия для более интенсивной агрегации. Таким образом, НИЛИ красным светом длительностью до 1 мин создает своего рода предстимуляцию тромбоцитов.

УФ-облучение тромбоцитов используется в приборах системы Adi-Light, которые позволяют получать фотоактивированную, богатую тромбоцитами плазму [18]. Показано, что инъекции УФ-активированных тромбоцитов могут быть эффективными при лечении остеоартрита и других патологий коленного сустава [14, 17], однако при этом не проводится никакого контроля качества тромбоцитов. Не вызывает сомнения, что интенсивность активации всего пула тромбоцитов, его биологический и клинический эффект принципиально зависит от содержания в исходной дозе структурно и функционально полноценных клеток.

В процессе работы нами было неоднократно отмечено, что после лазерного облучения при длине волны 408 нм

или 637 нм в формировании тромбоцитарных агрегатов участвовали исключительно тромбоциты с гранулами. Тромбоциты, изначально не содержавшие гранул, оставались в виде отдельных дискретных клеток, хотя при действии стандартных индукторов агрегации (коллаген, высокие дозы АДФ) наблюдается пассивное вовлечение тромбоцитов без гранул в образование агрегата [5, 6]. В случае воздействия НИЛИ этого процесса не наблюдалось. Поэтому можно заключить, что фотоактивация тромбоцитов связана с запуском внутриклеточных сигнальных систем, которые присутствуют только у биологически полноценных клеток. При этом под действием красного света тромбоциты активируются заметно быстрее, чем при воздействии ультрафиолетового света. Это указывает на то, что НИЛИ красным светом также может быть использовано для фотоактивации тромбоцитов человека.

С другой стороны, при процедурах гемокоррекции и фотомодификации крови с помощью НИЛИ видимой части спектра возможно изменение качества тромбоцитов, особенно если используется облучение в красном или ультрафиолетовом диапазоне. Тромбоциты человека являются высокочувствительными клетками, очень тонко реагирующими на изменения гомеостаза всего организма, их морфофункциональные параметры могут быть маркерами многих патофизиологических процессов. Поэтому актуальной задачей является исследование морфофункциональных свойств тромбоцитов на фоне проводимых процедур лазерной терапии как для оценки клеточного звена гемостаза, так и с целью мониторинга биологической полноценности всей популяции циркулирующих тромбоцитов.

### Заключение

Воздействие НИЛИ в голубом (488 нм) и зеленом (543 нм) диапазоне не оказывает видимого воздействия на морфофункциональные свойства тромбоцитов человека. Воздействие НИЛИ в ультрафиолетовом (408 нм) и красном (637 нм) диапазоне вызывает активацию и дегрануляцию тромбоцитов, при этом не происходит нарушения их общей структуры. Применение в клинической практике технологий фотомодификации крови с помощью НИЛИ требует параллельного анализа морфофункциональных свойств тромбоцитов для оценки качества тромбоцитарной популяции, для выявления возможной активации тромбоцитов.

### Литература

1. Горбатенкова Е.А., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Реактивация супероксиддисмутазы излучением гелий-неонового лазера // Биофизика. – 1988. – № 33. – С. 717–718.
2. Козлов В.И. Механизмы фотобиостимуляции // Лазерная медицина. – 2010. – Т. 14. – Вып. 4. – С. 4–13.
3. Козлов В.И., Литвин Ф.Б., Рыжаккин С.М. Влияние излучения гелий-неонового лазера на сосуды микроциркуляторного русла мягкой оболочки головного мозга // Лазерная медицина. – 2002. – Т. 6. – Вып. 2. – С. 22–24.
4. Лойко Е.Н., Самаль А.Б., Шуляковская С.М. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированная агрегация тромбоцитов и увеличение внутриклеточной концентрации ионов Ca<sup>2+</sup> блокируются ингибиторами внутриклеточной сигнализации // Биохимия. – 2003. – Т. 68. – № 11. – С. 1506–1510.
5. Макаров М.С., Хватов В.Б., Кобзева Е.Н. и др. Морфофункциональный анализ тромбоцитов человека с помощью витального окрашивания // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – № 9. – С. 388–391.
6. Макаров М.С. Мониторинг морфофункционального статуса тромбоцитов человека в условиях окислительного стресса, индуцированного перекисью водорода // Медицинский Алфавит. Современная лаборатория. – 2017. – Т. 3. – № 26. – С. 38–39.
7. Марченко А.В., Дуткевич И.Г., Мусалов М.А. Применение фототерапии в комплексном лечении язвенной болезни // Эфферентная терапия. – 1995. – Т. 1. – № 2. – С. 65–67.
8. Москвин С.В., Фёдорова Т.А., Фотеева Т.С. Плазмаферез и лазерное освечение крови. М.–Тверь: Триада, 2018. – 416 с.
9. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2 т. Т. 1 / Пер. с англ. под ред. В.В. Тучина. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2017. – 560 с.
10. Петрищев Н.Н., Зубов Б.В., Дементьева И.Н. Сравнительное изучение влияния модулированного светодиодного облучения крови (630 нм, 450 нм) на агрегационную активность тромбоцитов // Лазерная медицина. – 2011. – Т. 15. – Вып. 3. – С. 49–52.
11. Улащик В.С. Фотодинамическая терапия – технология XXI века // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2013. – № 1. – С. 36–43.
12. Эфферентная терапия / Под ред. А.Л. Костюченко. – СПб.: Фолиант, 2003. – 432 с.
13. Breitbart H., Levinshal T., Cohen N. et al. Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membrane irradiated at 633 nm (HeNe laser). *J. of Photochemistry and Photobiology B*. 1996; 34 (2–3): 117–121.
14. Freitag J., Barnard A., Rotstein A. Photoactivated platelet-rich plasma therapy for a traumatic knee chondral lesion. *BMJ Case Rep*. 2012; P. bcr2012006858.
15. Lövschall H., Arenholt-Bindslev D. Effect of low level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts *in vitro*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1994; 14 (4): 347–354.
16. Lubart R., Friedmann H., Sinyakov M. et al. The effect of HeNe laser (633 nm) radiation on intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration in fibroblasts. *Laser Therapy*. 1997 (1); 9 (3): 115–120.
17. Paterson K.L., Nicholls M., Bennell K.L. et al. Intra-articular injection of photo-activated platelet-rich plasma in patients with knee osteoarthritis: a double-blind, randomized controlled pilot study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016; 17: 67.
18. Zhevago N.A., Samoilova K.A. Pro- and anti-inflammatory cytokine content in human peripheral blood after its transcutaneous (*in vivo*) and direct (*in vitro*) irradiation with polychromatic visible and infrared light. *Photomed Laser Ther*. 2006; 24 (2): 129–139.

### References

1. Gorbatenkov E.A., Azizova O.A., Vladimirov Yu.A. Reactivation of superoxide dismutase by helium-neon laser radiation. *Biofizika*. 1988; 33: 717–718. [In Russ.].
2. Kozlov V.I. Photobiostimulation mechanisms. *Lasernaya medicina*. 2010; 14 (4): 4–13. [In Russ.].
3. Kozlov V.I., Litvin F.B., Ryzhakin S.M. Effects of radiation with helium-neon laser light at microcirculatory vessels in the pia mater of the brain. *Lasernaya medicina*. 2002; 6 (2): 22–24. [In Russ.].
4. Loiko E.N., Samal A.B., Shulyakovskaya S.M. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced platelet aggregation and increase of Ca<sup>2+</sup> ions intracellular concentration are blocked by inhibitors of intracellular signaling. *Biochimia*. 2003; 68 (11): 1506–1510. [In Russ.].
5. Makarov M.S., Khvatov V.B., Kobzeva E.N. et al. Morphofunctional analysis of human platelets using vital staining. *Bulletin experimentalnoy biologii i medicini*. 2013; 9: 388–391. [In Russ.].
6. Makarov M.S. Monitoring of morphofunctional status of human platelets under oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Meditsinsky alfavit. Sovremennaya laboratoria*. 2017; 3(26): 38–39. [In Russ.].
7. Marchenko A.V., Dutkevich I.G., Musalov M.A. Photohemotherapy in the complex treatment of peptic ulcer. *Efferentnaya terapiya*. 1995; 1(2): 65–67. [In Russ.].
8. Moskvina S.V., Fedorova T.A., Foteeva T.S. Plasmapheresis and laser blood screening. М.–Тверь: Triada, 2018: 416. [In Russ.].
9. Optical biomedical diagnostics. In 2 Volumes. Vol. 1 / translated from English by Tuchina. Moscow, FIZMATLIT, 2017: 560. [In Russ.].

10. Petrishchev N.N., Zubov B.V., Dementieva I.N. Comparative study of the effect of modulated LED irradiation of blood (630 nm, 450 nm) on platelet aggregation activity. *Lasernaya medicina*. 2011; 14 (3): 49–52. [In Russ.].
11. Ulashchik V.S. Photodynamic therapy – technology of the XXI century. *Fizioterapiya, balneologiya i reabilitatsiya*. 2013; 1: 36–43. [In Russ.].
12. Efferent therapy. ed. A.L. Kostyuchenko. St-Petersburg: Foliant. 2003, 432. [In Russ.].
13. Breitbart H., Levinshal T., Cohen N. et al. Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membrane irradiated at 633 nm (HeNe laser). *J. of Photochemistry and Photobiology B*. 1996; 34 (2–3): 117–121.
14. Freitag J., Barnard A., Rotstein A. Photoactivated platelet-rich plasma therapy for a traumatic knee chondral lesion. *BMJ Case Rep*. 2012; P. bcr2012006858.
15. Løvschall H., Arenholt-Bindslev D. Effect of low level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts *in vitro*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1994; 14 (4): 347–354.
16. Lubart R., Friedmann H., Sinyakov M. et al. The effect of HeNe laser (633 nm) radiation on intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration in fibroblasts. *Laser Therapy*. 1997 (1); 9 (3): 115–120.
17. Paterson K.L., Nicholls M., Bennell K.L. et al. Intra-articular injection of photo-activated platelet-rich plasma in patients with knee osteoarthritis: a double-blind, randomized controlled pilot study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016; 17: 67.
18. Zhevago N.A., SamoiloVA K.A. Pro- and anti-inflammatory cytokine content in human peripheral blood after its transcutaneous (*in vivo*) and direct (*in vitro*) irradiation with polychromatic visible and infrared light. *Photomed Laser Ther*. 2006; 24 (2): 129–139.

УДК 616.31:615.849.19

## ЛАЗЕРНАЯ ТЕРАПИЯ КВАЗИНЕПРЕРЫВНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ 1265 НМ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЕЗНЕЙ ПАРОДОНТА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

А.А. Чунихин<sup>1</sup>, Э.А. Базикян<sup>1</sup>, А.В. Иванов<sup>2,3</sup>, И.П. ШилоV<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГБУ «ГНЦ ЛМ им. О.К. Скобелкина ФМБА России», Москва, Россия

<sup>4</sup>Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, Фрязинский филиал, г. Фрязино, Московская область, Россия

### Резюме

*Цель* – определение оптимальных мощностных и экспозиционных характеристик лазерного воздействия 1265 нм при лечении болезней пародонта экспериментальных животных. *Материал и методы*. В исследовании участвовало 30 крыс линии Вистар, которым после моделирования пародонтита с использованием «лигатурной» методики проводили лазерную терапию с использованием квазинепрерывного лазерного излучения с длиной волны 1265 нм с различной мощностью и экспозицией. Результаты лечения оценивали на 7-е сутки после начала лечения по объективным признакам состояния тканей в полости рта животных и с помощью морфологического исследования, в котором оценивали состояние тканей пародонта, наличие реактивного воспаления, наличие фрагментов некроза альвеолярной кости. *Результаты*. Осмотр в полости рта животных показал наилучшие результаты терапии в группах с параметрами излучения 1,6 Вт – 300 с и 1,8 Вт – 180 с. При этом морфологический анализ в данных группах также определил наилучший результат. *Заключение*. Оптимальными и эффективными терапевтическими режимами являются средняя мощность излучения 1,6 Вт в течение 300 с (480 Дж) и 1,8 Вт в течение 180 с (324 Дж).

**Ключевые слова:** пародонтит, лазеротерапия болезней пародонта, квазинепрерывное лазерное излучение 1265 нм.

**Для цитирования:** Чунихин А.А., Базикян Э.А., Иванов А.В., ШилоV И.П. Лазерная терапия квазинепрерывным излучением 1265 нм в лечении болезней пародонта (экспериментальное исследование) // Лазерная медицина. – 2019. – Т. 23. – Вып. 2. – С. 31–36.

**Контакты:** Иванов А.В., e-mail: ivavi@yandex.ru

## LASER THERAPY WITH 1265 NM QUASI-CONTINUOUS IRRADIATION FOR TREATMENT OF PERIODONTAL DISEASES (AN EXPERIMENTAL TRIAL)

Chunikhin A.A.<sup>1</sup>, Bazikyan E.A.<sup>1</sup>, Ivanov A.V.<sup>2,3</sup>, Shilov I.P.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

<sup>2</sup>N.N. Blokhin NMRC of Oncology, Moscow

<sup>3</sup>Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine, Moscow, Russia

<sup>4</sup>V.A. Kotelnikov Institute of Radioengineering and Electronics, RAS, Fryazino, Russia

### Abstract

*Purpose*. To determine optimal power and exposure characteristics of laser procedures with 1265 nm laser light for treating periodontal diseases in experiment. *Materials and methods*. 30 Wistar rats were taken into the study. After modeling periodontitis in these animals with the ligature technique, they had laser treatment with 1265 nm quasi-continuous laser light using various power and exposure parameters. The effectiveness of the discussed therapy was assessed on day 7 after the trial beginning. The following objective parameters were analyzed: state of tissues in the oral cavity; morphological picture in periodontal tissues, presence of reactive inflammation and necrotic fragments in the alveolar bone. *Results*. The obtained findings has demonstrated that the best results were seen in the groups of animals where irradiation parameters were 1.6 W – 300 s and 1.8 W – 180 s. Similarly, morphological picture was also the best in these groups. *Conclusion*. The most effective and optimal therapeutic regimes are: average power 1.6 W for 300 s (480 J) and 1.8 W for 180 s (324 J).

**Keywords:** periodontitis, laser therapy of periodontal diseases, 1265 nm quasi-continuous laser irradiation.

**For citations:** Chunikhin A.A., Bazikyan E.A., Ivanov A.V., Shilov I.P. Laser therapy with 1265 nm quasi-continuous irradiation for the treatment of periodontal diseases (an experimental trial). *Lasernaya Medicina*. 23 (2): 31–36. [In Russ.].

**Contacts:** Ivanov A.V., e-mail: ivavi@yandex.ru