

- школьников с синдромом задержки психического развития в условиях специальной школы // Лазерная медицина. 2006. Т. 10. Вып. 1. С. 15–21.
2. *Картелишев А.В., Румянцев А.Г., Васильева О.А. и др.* Клинико-экспериментальный анализ эффективности фармаколазерного оздоровления плода и новорожденного при беременности с фетоплацентарной недостаточностью // Лазерная медицина. 2004. Т. 8. Вып. 1–2. С. 64–67.
 3. *Картелишев А.В., Брайтфельд В.Н., Козырева О.В., Фокина Н.И.* Магнитолазерная терапия в комплексной коррекции речевых нарушений и психосоматического состояния у детей с минимальными мозговыми дисфункциями, задержкой психического развития // Вест. Лазерной академии. Калуга. 2005. № 3 (79). С. 2–3.
 4. *Картелишев А.А., Уральский В.Н., Супрун О.В., Козырева О.В.* Магнитолазерная терапия в комплексной коррекции речевых и психофизических функций у детей младшего возраста с задержкой психического развития // Педиатрия. 2006. № 4. С. 7–11.
 5. *Сидоренко Е.И., Шишова О.В.* Влияние света различных спектральных характеристик на функции мозга // Педиатрическая офтальмология. 2009. № 1. С. 21–24.
 6. *Сидоренко Е.И., Николаева Г.В., Муравьев М.В., Саханицкий В.Е., Рыбкин М.В.* Новый метод лечения амблиопии и косоглазия у детей – инфраредотерапия. Инновационная Офтальмология. Сборн. научн. трудов. Анапа, 2010.
 7. *Супрун О.В., Уральский В.Н., Картелишев А.В. и др.* Магнитолазерная терапия в комплексной коррекции речевых нарушений и психосоматического состояния у детей с минимальными мозговыми дисфункциями, задержкой психического развития // Вестн. Лазерной академии. Калуга. 2005. № 3 (79). С. 2–3.
 8. *Уральский В.Н., Супрун О.В.* Низкоинтенсивная магнитолазерная терапия в комплексной коррекции речевых нарушений у школьников с задержкой психического развития // Материалы международной научно-практической конференции «Лазерные технологии в медицинской науке и практическом здравоохранении». М., 2004. С. 28.
 9. *Уральский В.Н., Супрун О.В., Картелишев А.В. и др.* Низкоэнергетическая магнитолазерная коррекция речевых нарушений и психосоматического состояния у детей с минимальными мозговыми дисфункциями // Тр. научно-практической конференции «Применение полупроводниковых лазеров в медицине». СПб., 2006. С. 26–30.
 10. *Шишова О.В., Кулишова Т.В., Терина Т.П. и др.* Эффективность хроморефлексотерапии в комплексном лечении амблиопии // Теория и практика медико-социальной реабилитации: Сб. науч. ст. Сочи, 2004. С. 113–114.

Поступила в редакцию 05.07.2013 г.

Для контактов: *Картелишев Анатолий Васильевич*
E-mail: akartelishev@mail.ru

УДК: 613.165.6:611.018.15

Москвин С.В.¹, Ключников Д.Ю.², Антипов Е.В.³, Волчков С.Е.², Киселева О.Н.³

Изменения в культуре мезенхимальных стволовых клеток человека под влиянием импульсного низкоинтенсивного лазерного излучения красного и инфракрасного спектров

Moskvin S.V., Kljuchnikov D.Yu., Antipov E.V., Volchkov S.E., Kiseleva O.N.

Changes in the culture of mesenchymal stem cells in human under the impact of pulsed low-level laser light of red and infrared spectra

¹ ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», г. Москва,

² ГБУЗ «Самарский областной центр планирования семьи и репродукции», г. Самара,

³ НОУ ВПО «Медицинский институт «РЕАВИЗ», г. Самара

Введение. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) давно изучаются в части перспектив их применения в клинической медицине и косметологии. Одним из способов неспецифического регулирования клеточной активности МСК на этапе предварительного культивирования *in vitro* является воздействие низкоинтенсивным лазерным излучением (НИЛИ) в красном и инфракрасном спектрах. *Материалы и методы.* В эксперименте использована адгезивная культура МСК, 4 пассажа, полученных из ткани пуповины донора, давшего информированное согласие. Для освещения использован лазерный терапевтический аппарат «Лазмик-ВЛОК» (РУ № РЗН 2014/1410 от 06.02.2014), матричные лазерные излучающие головки, инфракрасные (длина волны 904 нм, длительность светового импульса 108 нс, частота 1500 Гц и многочастотный режим ЛАЗМИК[®], плотность средней мощности 0,05 и 0,14 мВт/см²) и красного спектра (длина волны 635 нм, длительность светового импульса 144 нс, частота 1500 Гц и многочастотный режим ЛАЗМИК[®], плотность средней мощности 0,03 и 0,12 мВт/см²). Экспозиция во всех режимах составляла 5 мин. *Выводы.* Показано, что при используемых энергетических и временных параметрах воздействия морфология и жизнеспособность МСК не меняется. Обнаружено небольшое превышение количества клеток относительно контроля, лучший эффект после освещения инфракрасным (904 нм) импульсным НИЛИ в режиме многочастотной модуляции ЛАЗМИК[®]. Эффект проявлялся в наибольшей степени в период с 1-го по 3-й день культивирования. *Ключевые слова:* мезенхимальные стволовые клетки, лазерное излучение, морфология и деление клеток.

Introduction. Mesenchymal stem cells (MSC) have been studied for a long time so as to find perspectives of their application in medicine and cosmetology. One of the ways to achieve nonspecific regulation of MSC cell activity at the stage of preliminary cul-

tivation *in vitro* is their irradiation with low-intensive laser light (LILL). The aim of the present study was to use pulsed LILL of infrared and red spectra for this purpose. *Materials and methods.* In the experiment the researchers used an adhesive MSC culture, 4 passage, taken from the umbilical cord of a donor who gave a written consent. To irradiate the culture they used laser therapeutic apparatus «Lazmik-VLOK» (PY № P3H 2014/1410 dated 06.02.2014), matrix laser emitting infrared heads (wavelength 904 nm, pulse duration 108 nsec., frequency 500 Hz, multi-frequent mode LAZMIK®, average power density 0.05 and 0.14 mWt/cm²) as well as red spectrum emitting heads (wavelength 635 nm, duration of light pulse 144 nsec, frequency 1 500 Hz, multi-frequent mode LAZMIK®, average power density 0.03 and 0.12 mWt/cm²). The exposure time for all modes was 5 min. *Conclusion.* It has been shown that under the discussed energetic and time parameters there is no any changes in MSC morphology and viability. There was a slight excess in the number of cells if to compare to the control; better effect was seen after irradiation with infrared pulsed LILL (904 nm) in the multi-frequent mode LAZMIK®. The best effect was seen within the 1st–3rd days of cultivation. *Key words:* mesenchymal stem cells, laser irradiation, morphology and cell division.

Введение

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) давно привлекают внимание исследователей и практических врачей с точки зрения их возможного использования для заместительной или восстановительной терапии заболеваний, генной или клеточной инженерии [11].

МСК – мультипотентные стромальные клетки, способны к дифференцировке в различные типы клеток тканей – остеобласты, хондроциты, адипоциты, миоциты, гепатоциты, кардиомиоциты и др. [6, 11, 12]. МСК человека сохраняют способность к пролиферации и дифференцировке при культивировании *in vitro*, а также при реимплантации, что обуславливает их высокую значимость в клинической практике [11]. Имеются данные о возможности получения из МСК нейрональных предшественников с последующей дифференцировкой их в клетки нервной ткани (нейроны, астроциты, олигодендроциты) [8, 16, 21, 32]. Известно, что МСК секретируют почти все основные провоспалительные цитокины и ростовые факторы [6].

Если будут найдены условия для расширения мультипотентности мезенхимальных стволовых клеток до

плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток, в регенеративно-пластической медицине автоматически разрешаются многие проблемы этического, морально-религиозного и юридического характера. Одним из известных способов неспецифического регулирования клеточной активности МСК на этапе предварительного культивирования *in vitro* является воздействие низкоинтенсивным лазерным излучением (НИЛИ). Для чего применяли лазерные источники с разной длиной волны, работающие, в основном, в непрерывном режиме (табл. 1).

Использовали практически только непрерывные лазеры в широком диапазоне длин волн и экспозиций, при этом средняя мощность и плотность мощности (ПМ) чаще всего минимальны. Итоговая энергетическая плотность (ЭП) находится в достаточно узких пределах, характерных для эффектов, наблюдаемых в других типах клеток [3], хотя сама по себе ЭП (или так называемая «доза») абсолютно неинформативна, а важнейшие параметры методики воздействия часто не указываются [1, 17].

Имеются также данные в отношении других стволовых клеток и физических факторов. F.P. Eduardo с

Таблица 1

Результаты воздействия НИЛИ разной длиной волны на МСК *in vitro*

| Эффекты | Длина волны, нм | ПМ, мВт/см ² | Время, с | ЭП, Дж/см ² | Источник литературы |
|--|-----------------|--|----------------|-------------------------|---------------------|
| Внеклеточная кальцификация | 405 | 2,5 | 60–240 мин (!) | 9, 18, 27, 36 | [23] |
| Пролиферация | 630 | 15 | 270 | 4 | [26] |
| Трансмембранная миграция | 630, 850 | 15 | 270 | 4 | [28] |
| Пролиферация | 633 | 3 | 10 | 0,3 | [9] |
| Пролиферация (оптимальная ЭП 0,5 Дж/см ²), дифференцировка и секреция факторов роста (оптимальная ЭП 5 Дж/см ²) | 635 | 6,61 (60 мВт на площадь 9,08 см ²) | 75–750 | 0,5–5 | [19] |
| Пролиферация, активация K ⁺ и Ca ²⁺ -каналов | 635 | – | – | – | [14] |
| Пролиферация, активация генов Akt1, Ptpn6, Stk17b, Ccnd1 и Pik3ca | 635 | – | – | – | [44] |
| Активация сигнальной РНК (miR-193) | 635 | 6,61 | 75 | 0,5 | [43] |
| Остеогенная дифференцировка (повышение уровня щелочной фосфатазы, коллагена I типа, экспрессия мРНК, остеоопонтина, транскрипционного фактора Runx2 и др.) | 647 | 9,3 мВт | 10, 30 и 90 с | 0,093; 0,279 и 0,836 Дж | [20] |
| Пролиферация, ослабление цитотоксического действия препаратов | 660 | 76–156 | 25–12 | 1,9 | [18] |
| Пролиферация | 804 | 50 | 20, 60 | 1, 3 | [40] |
| Управление ростом | 810 | – | – | 1 | [41] |
| Дифференцировка и распространение | 810 | – | – | 3–6 | [39] |
| Дифференцировка и пролиферация | 1064 | 15 Гц, 100–150 мДж, 1,5–2,25 Вт | – | – | [25] |
| Продукция АФК | 405 | 100 | 60 и 120 | 6 и 12 | [24] |
| | 664 | | | | |
| | 808 | | | | |

соавт. [10] показали, что стволовые клетки пульпы зубов человека (hDPSC) положительно реагируют на лазерное освещение (длина волны – 660 нм, мощность – 20 мВт, экспозиция – 6 с), усиливается клеточный рост и повышается жизнеспособность клеток, но только когда их культивируют в условиях питательного дефицита. Акустические импульсы увеличивают пролиферативную активность *ослабленных* МСК человека на 80 %. Синергизма в усилении пролиферации при комбинировании с низкоинтенсивным КВЧ-излучения (длина волны – 7,1 мм) обнаружено не было [7].

Из табл. 1 видно, насколько разнообразны получаемые эффекты, но все они кальций-зависимые, поскольку первичным механизмом стимуляции клеточной активности (физиологии) является термодинамический запуск Ca^{2+} -зависимых процессов [2]. Также известно, что при увеличении внутриклеточного кальция снижается вероятность гибели по механизму апоптоза и повышается выживаемость эмбриональных стволовых клеток *in vitro* [4], МСК *in vivo* [13].

В отношении возможного влияния некогерентного света на МСК данные противоречивые. Почти 2-кратное увеличение пролиферации МСК *in vitro* после освещения широкополосным светом (ЭП 2,4–7,2 Дж/см²) [31]. Некогерентный свет (светоизлучающие диоды, СИД) (ЭП 2–4 Дж/см²) не влияет на остеогенную дифференцировку МСК в норме, но усиливает дифференцировку и уменьшает пролиферацию в средах с остеогенными добавками [34]. Наша точка зрения в отношении некогерентных источников однозначна – бесполезны, необходимо использовать только лазерный монохроматический свет для эффективного воздействия – получения максимального отклика биологических систем разного уровня организации [3].

Также показано, что после одного воздействия наблюдается лишь кратковременное повышение пролиферации (630 нм, 15 мВт/см², ЭП 4 Дж/см²), эффект усиливается после многократного освещения и при низкой плотности клеток [27]. Это подтверждает известный факт необходимости ежедневного 3–5-кратного повторного освещения с целью накопления эффекта [3].

Не проведено ни одного исследования с применением импульсных лазеров, наиболее распространенных в современной лазерной терапии (длительность светового импульса – 10⁻⁷ с, импульсная мощность – 5–10 Вт, длина волны – 635 и 904 нм), хотя во многих публикациях показана их высокая эффективность, как *in vitro*, так и *in vivo* [3, 15]. Не изучались также и перспективные возможности частотной модуляции.

В задачи нашего исследования входила оценка влияния импульсного НИЛИ инфракрасного (904 нм) и красного спектров (635 нм), в том числе с использованием многочастотного режима, на морфологию, жизнеспособность, пролиферативную активность и скорость роста МСК *in vitro*.

Материалы и методы

Культура клеток. В эксперименте использовали адгезивную культуру МСК, 4 пассажа, полученных из ткани пуповины донора, давшего информированное согласие. Забор, транспортировку и обработку материала проводили в течение 24 часов с момента родов. МСК получены методом эксплантов с последующим культивированием фрагментов.

Культивирование. Культивирование проводили в течение 6 суток, с использованием стандартных питательных сред: Minimum Essential Medium Eagle, Alpha Modification with NaHCO₃ (Sigma-Aldrich, Германия), 2mM L-глутамин (ПанЭко, Россия), 10% сыворотки плодов коровы (MSC FBS, Gibco, Австралия). Культивирование проводили на чашках Петри площадью 11,78 см² (EasyGrip™, Beckton Dickinson, USA). Также использовали: раствор Дальбекко (DPBS, Биолот, Россия), раствор трипсина-ЭДТА (ПанЭко, Россия), центрифужные пробирки объемом 50 мл (CentriStar™, Corning Incorporated, Мексика) и серологические пипетки объемом 25 и 10 мл (Falcon, Beckton Dickinson, США).

Жизнеспособность клеток (отношение живых к мертвым) оценивали автоматически на анализаторе клеток Vi-Cell XR (Beckman Coulter, USA).

Исследование проведено в 5 группах, при 3 чашках (повторениях) в каждой группе. Опытные группы освещали НИЛИ (параметры представлены в табл. 2), время экспозиции – 5 мин на 1 чашку. Контрольные чашки не подвергали воздействию. Применяли аппарат лазерный терапевтический «Лазмик-ВЛОК» (РУ № РЗН 2014/1410 от 06.02.2014), импульсные матричные лазерные излучающие головки, имеющие 8 лазерных диодов, расположенных в два ряда, что обеспечивает относительно равномерную засветку почти эллиптической области 5×7 см на расстоянии 7 см от поверхности.

Чашки диаметром 3,5 см полностью находились в световом поле (рис. 1), и на них приходилось, соответственно, ≈10% падающей световой энергии. Исходя из этого рассчитывали ПМ и ЭП для каждого варианта освещения. В режиме многочастотной модуляции ЛАЗМИК® используется сложная многочастотная модуляция [3]. Требование к равномерному освещению всей поверхности плашки (лунки) связано с тем, что в

Таблица 2

Параметры НИЛИ освещения (лазерные излучающие головки к аппаратам серии «Лазмик»)

| Шифр лазерной головки | Название лазерной излучающей головки | Длина волны, нм | Длительность импульса, нс | Импульсная мощность, Вт* | Частота, Гц | Средняя мощность, мВт* | ПМ, мВт/см ² | ЭП, мДж/см ² |
|-----------------------|--------------------------------------|-----------------|---------------------------|--------------------------|---------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| О1 | МЛ-904-80 | 904 | 108 | 78 | 1500 | 13 | 0,05 | 15 |
| ОЛ | МЛ-904-80 | 904 | 108 | 66 | Режим ЛАЗМИК® | 38 | 0,14 | 42 |
| К1 | МЛ-635-40 | 635 | 144 | 42 | 1500 | 9 | 0,03 | 9 |
| КЛ | МЛ-635-40 | 635 | 144 | 41 | Режим ЛАЗМИК® | 33 | 0,12 | 36 |

Примечание. * – со всей поверхности, от 8 лазерных диодов.

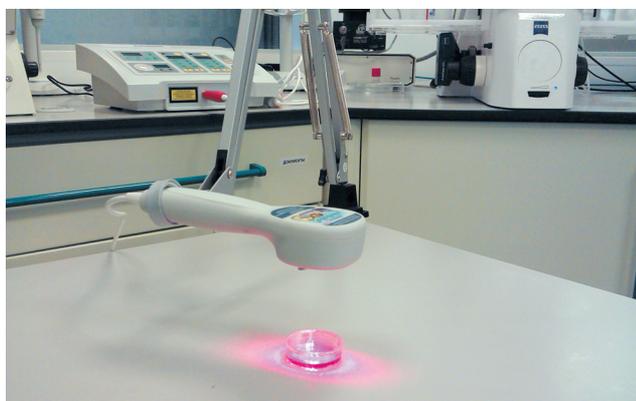


Рис. 1. Расположение лазерной излучающей головки относительно чашки с культурой клетки

этом случае обеспечивается лучший эффект, чем при локальном, точечном воздействии на часть культуры клеток [30, 43].

Непосредственно перед освещением МСК были инокулированы в количестве $3,7 \times 10^3$ живых клеток/см² поверхности культуральной посуды в каждую чашку Петри исследуемых и контрольной групп. Дальнейшее культивирование осуществлялось при +37 °С, CO₂ 5% в течение 5 дней. Визуальное наблюдение за морфологией и ростом культуры проводили ежедневно методом световой микроскопии до достижения монослоя в одной из групп. После этого был проведен подсчет общего количества клеток в каждой группе. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы SigmaPlot version 11.0.

Результаты и обсуждение

Начиная с первого дня культивирования на всех исследуемых посудах можно было наблюдать клетки, находящиеся на разных стадиях деления (рис. 2). При оценке клетки всех групп были идентичными, обладали высокой степенью адгезии к пластику, образовывали ве-

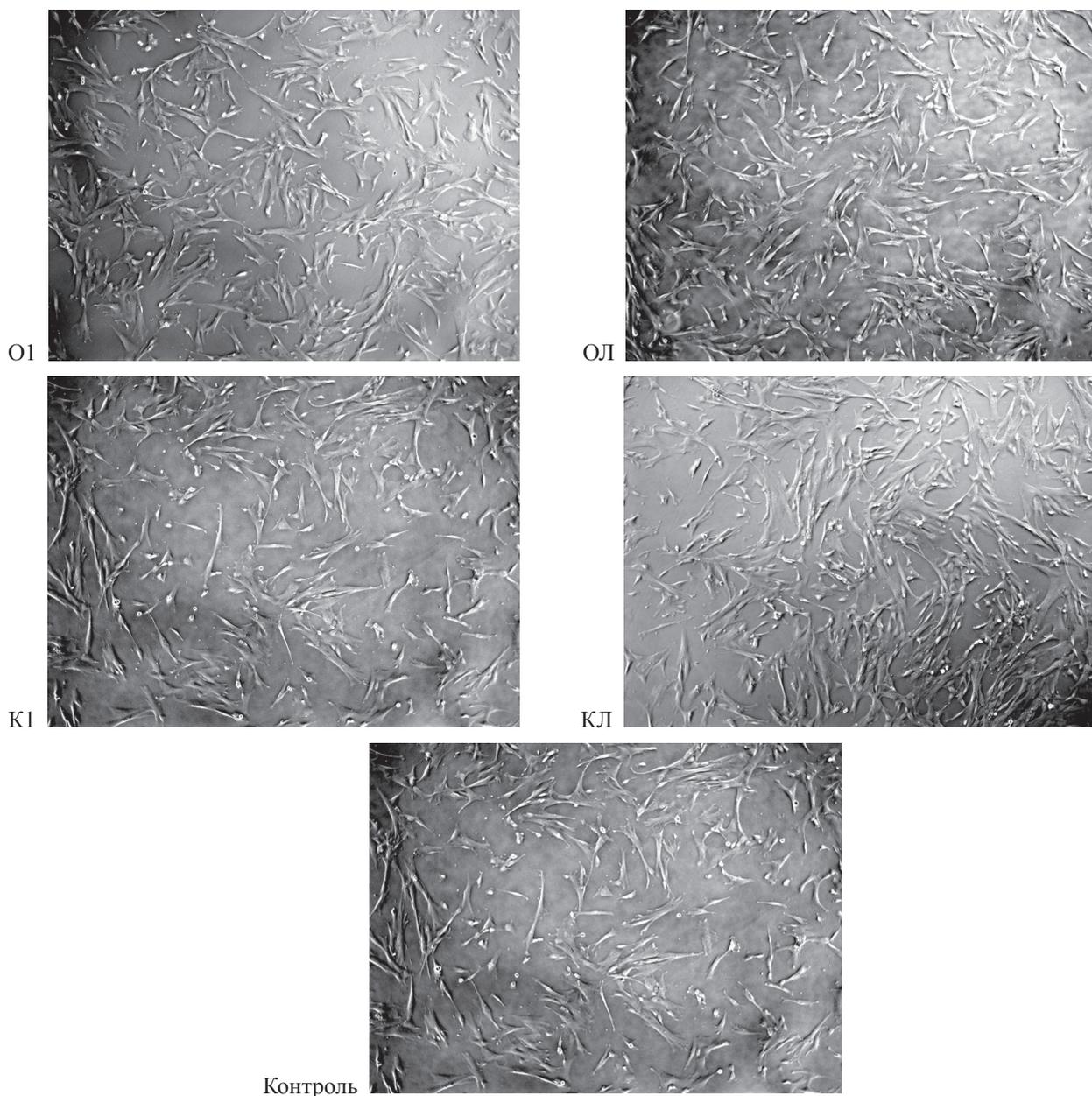


Рис. 2. Культура клеток в группах через сутки после освещения

ретеннообразную или треугольную формы. При изучении морфологии отдельных клеток на первые сутки культивирования можно было заметить, что подавляющая часть клеток имела схожие признаки – цитоплазма клеток светлая, хорошо структурированная, края четкие, ядра с 1–2 ядрышками, без каких-либо нетипичных включений.

При дальнейшем культивировании отмечали относительно равномерный рост культуры по всей поверхности пластика. Значимых изменений в морфологии клеток среди изучаемых и контрольной групп выявлено не было. На пятый день культивирования морфологическая картина не изменилась и являлась типичной для культуры МСК. Межклеточные контакты плотные, клетки достигают монослоя во всех группах. Анализ диаметра клеток показал отсутствие разницы в размерах клеток в разных группах и во все дни культивирования.

Таким образом, морфологический анализ не выявил отличий в морфологии клеток между контрольной и экспериментальными группами в процессе культивирования. Жизнеспособность в группах также не различалась.

С 1-го по 5-й день культивирования количество клеток в поле зрения оценивали визуально, с учетом показателя процентов монослоя на поверхности культуральной посуды. Подсчет клеток проводили как в ручном, так и в автоматическом режиме. На рис. 3 представлено количество клеток в поле зрения через сутки после освечивания. Во всех группах освечивания наблюдается превышение количества клеток относительно контроля, в наибольшей степени в группе ОЛ (904 нм, режим модуляции ЛАЗМИК®). Хотя эти выводы, скорее всего, требуют дальнейшего уточнения и подтверждения.

Оценку монослоя (площадь, занимаемая клетками) визуально проводили в течение 5 суток культивирования (рис. 4). Общий характер изменений был идентичен для всех клеток, но в группах, подвергшихся освечиванию, более выражен рост в первые 3 дня, что свидетельствует о стимулировании внутриклеточных процессов на первом этапе деления.

Из представленных графиков, к сожалению, невозможно сделать однозначный вывод в пользу того или иного режима, поскольку исследование носило предварительный, оценочный характер, а для оптимизации параметров воздействия необходима большая детализация режимов и их комбинаций.

На наш взгляд, также перспективно рассматривать результаты предварительного освечивания *in vitro*, как часть комплексной программы, по конечному результату возможного приживления и нужной дифференцировки.

Способность НИЛИ стимулировать пролиферацию клеток [38] и производство ангиогенных факторов, таких как васкуло-эндотелиальный фактор роста (VEGF) [22], предполагает возможность создания среды, которая является оптимальной для роста стволовых клеток *in vivo* [29]. Уже есть несколько работ, в которых проводили освечивание НИЛИ уже после пересадки МСК в различные ткани (табл. 3). Про оптимизацию параметров лазерного света и самой методики, прежде всего речь идет о времени экспозиции, говорить пока рано, это требует дополнительных исследований. Возможность двойного, двухэтапного освечивания пока вообще не изучали.

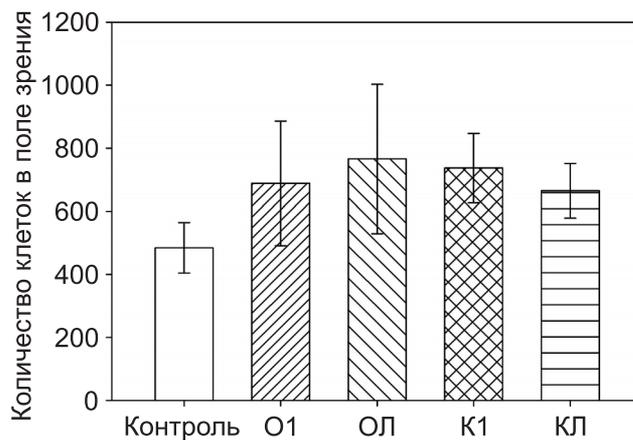


Рис. 3. Количество клеток в поле зрения через сутки после освечивания

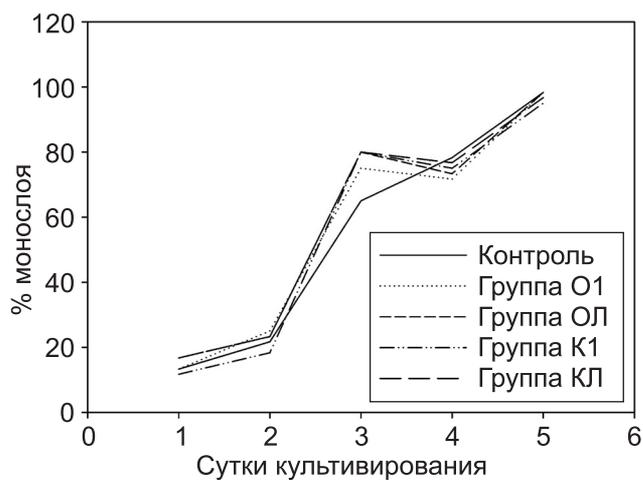


Рис. 4. Площадь, занимаемая клетками в процессе культивирования

Результаты воздействия НИЛИ с разной длиной волны на МСК *in vivo*

Таблица 3

| Модель | Длина волны, нм | Плотность мощности, мВт/см ² | Время, с | Энергетическая плотность, Дж/см ² | Источник литературы |
|--|-----------------|---|----------|--|---------------------|
| Стимулирование пролиферации и высвобождение ростовых факторов (bFGF, IGF-I и IGFBP3) | 685 | 14,3 | 140 | 2 | [37] |
| Ускоренная регенерация печени крыс | 804 | – | – | – | [33] |
| Ускоренная регенерация травмированного периферического (седалищного) нерва у крыс Sprague-Dawley, повышение электрофизиологической функции и экспрессия S100 | – | – | – | – | [45] |
| Устранение рубцевания миокарда крыс Sprague-Dawley после инфаркта | – | 10 | 100 | 1 | [42] |

В пользу необходимости последовательного варианта лазерного воздействия могут свидетельствовать положительные результаты технологии имплантации эмбриональных нервных клеток в полностью рассеченный спинной мозг с последующим освещением НИЛИ (780 нм, 100 мВт, 30 мин) участка регенерации, когда намного лучшие результаты были достигнуты после предварительного лазерного освещения культуры клеток (780 нм, 50 мВт, 1 мин) [35, 36]. По аналогии можно было бы предположить, что и с МСК лучше было бы проводить предварительное освещение на этапе культивирования, а затем после их пересадки.

Но даже без этого местное воздействие лазерным светом позволяет получить положительные результаты. Воздействие импульсным ИК НИЛИ (длина волны 890 нм, импульсная мощность 10 Вт, частота 150 Гц, экспозиция 5 мин, 7 ежедневных сеансов) чрескожно на область сердца экспериментальных крыс Вистар и системное введение аутологических МСК, полученных культивированием клеток костного мозга, повышает пролиферативную активность клеток стромы, полнокровные мышцы сердца, усиливает ангиогенез, активизирует процессы репаративной регенерации миокарда [5].

Выводы

Результаты предварительного изучения возможного влияния импульсного НИЛИ инфракрасного (904 нм) и красного спектров (635 нм), в том числе с использованием многочастотного режима ЛАЗМИК®, на морфологию, жизнеспособность, пролиферативную активность и скорость роста мезенхимальных стволовых клеток *in vitro* показали, что при используемых энергетических и временных параметрах воздействия их морфология и жизнеспособность не меняется.

В то же время мы наблюдали небольшое превышение количества клеток относительно контроля, лучший эффект после освещения инфракрасным (904 нм) импульсным НИЛИ в режиме многочастотной модуляции ЛАЗМИК® [3]. Эффект проявлялся в наибольшей степени в период с 1-го по 3-й день культивирования.

Полученные результаты демонстрируют необходимость проведения дополнительных исследований для уточнения оптимизации параметров воздействия (длина волны, мощность, время и пр.) с возможным расширением методики с освещением МСК не только предварительно, в культуре, но также после имплантации *in vivo*.

Литература

1. Москвин С.В. Подсчет дозы низкоинтенсивного лазерного излучения: необходимость или вред? // *Вопр. курортол., физиотер. и лечеб. физ. культуры*. 2012. № 6. С. 54–55.
2. Москвин С.В. Системный анализ эффективности управления биологическими системами низкоэнергетическим лазерным излучением: Автореф. дисс. ... д. б. н. Тула, 2008. 38 с.
3. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия». Т. 2. М.–Тверь: Издательство «Триада», 2014. 896 с.
4. Осипенко М.А., Жерелова О.М., Петрова П.П. и др. Влияние ионов свободного кальция на пролиферативную активность и жизнеспособность эмбриональных стволовых клеток // *Докл. Академии наук*. 2007. 412 (1). С. 123–125.
5. Поповкина О.Е. Инфракрасное лазерное излучение и кардиомиобласты в лечении хронической сердечной недостаточности: Автореф. дисс. ... к. м. н. Обнинск, 2013. 18 с.
6. Соколова И.Б., Павличенко Н.Н. Механизмы воздействия экзогенных мезенхимных стволовых клеток на ишемизированную ткань при сердечно-сосудистых заболеваниях // *Цитология*. 2010. Т. 52. № 11. С. 911–917.
7. Чайлахян Р.К., Юсупов В.И., Свиридов А.П. и др. Акустическое и КВЧ-воздействия на стволовые стромальные клетки костного мозга *in vitro* // *Биомед. радиоэлектроника*. 2013. № 2. С. 36–42.
8. Шахбазов А.В., Космачева С.М., Карпель Н.А., Потаннев М.П. Нейрогенная дифференцировка мезенхимных стволовых клеток: трансгенный подход // *Цитология*. 2010. Т. 52. № 4. С. 301–304.
9. Abramovitch-Gottlib L., Gross T., Naveh D. et al. Low-level laser irradiation stimulates osteogenic phenotype of mesenchymal stem cells seeded on a three-dimensional biomatrix // *Lasers in Med. Sci.* 2005. 20 (3–4). P. 138–146.
10. Eduardo F.P., Bueno D.F., de Freitas P.M. et al. Stem cell proliferation under low-intensity laser irradiation: a preliminary study // *Lasers in Surg. and Med.* 2008. 40 (6). P. 433–438.
11. Freshney R.I., Stacey G.N., Auerbach J.M. Culture of human stem cells. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2007. 256 p.
12. Friedenstein A.J., Gorskaja J.F., Kulagina N.N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs // *Exp. Hematol.* 1976. 4 (5). P. 267–274.
13. Gärtner A., Pereira T., Armada-da-Silva P.A.S. et al. Effects of umbilical cord tissue mesenchymal stem cells (UCX®) on rat sciatic nerve regeneration after neurotmesis injuries // *JSRM*. 2014. 10 (1). P. P1–P13.
14. Giannelli M., Chellini F., Sassoli C. et al. Photoactivation of bone marrow mesenchymal stromal cells with diode laser: effects and mechanisms of action // *J. Cell Physiol.* 2013. 228 (1). P. 172–181.
15. Hashmi J.T., Huang Y.Y., Osmani B.Z. et al. Role of low-level laser therapy in neurorehabilitation // *PM R*. 2010. 2 (12, Suppl. 2). P. S292–S305.
16. Hermann A., Gastl R., Liebau S. Efficient generation of neural stem cell-like cells from adult human bone marrow stromal cells // *J. Cell Sci.* 2004. 117 (19). P. 4411–4422.
17. Hode L. The DOSE: a minute to learn, a lifetime to master // *World Association for Laser Therapy Conference*. Gold Coast, 2012. P. 50.
18. Horvát-Karajz K., Balogh Z., Kovács V. et al. In vitro effect of carboplatin, cytarabine, paclitaxel, vincristine, and low-power laser irradiation on murine mesenchymal stem cells // *Lasers in Surg. and Med.* 2009. 41 (6). P. 463–469.
19. Hou J.F., Zhang H., Yuan X. et al. In vitro effects of low-level laser irradiation for bone marrow mesenchymal stem cells: proliferation, growth factors secretion and myogenic differentiation // *Lasers in Surg. and Med.* 2008. 40 (10). P. 726–733.
20. Kim H.K., Kim J.H., Abbas A.A. et al. Red light of 647 nm enhances osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells // *Lasers in Med. Sci.* 2009. 24 (2). P. 214–222.
21. Kim S., Honmou O., Kato K. Neural differentiation potential of peripheral blood- and bone-marrow-derived precursor cells // *Brain Res.* 2006. 1123 (1). P. 27–33.
22. Kipshidze N., Nikolaychik V., Keelan M.H. et al. Low power helium: neon laser irradiation enhances production of vascular endothelial growth factor and promotes growth of endothelial cells *in vitro* // *Lasers in Surg. and Med.* 2001. 28. P. 355–364.
23. Kushibiki T., Awazu K. Blue laser irradiation enhances extracellular calcification of primary mesenchymal stem cells // *Photomed. and Laser Surg.* 2009. 27 (3). P. 493–498.
24. Kushibiki T., Hirasawa T., Okawa S., Ishihara M. Blue laser irradiation generates intracellular reactive oxygen species in various types of cells // *Photomed. and Laser Surg.* 2013. 31 (3). P. 95–104.
25. Leonida A., Paiusco A., Rossi G. et al. Effects of low-level laser irradiation on proliferation and osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells seeded on a three-dimensional biomatrix: *in vitro* pilot study // *Lasers Med. Sci.* 2013. 28 (1). P. 125–132.
26. Li W.T., Leu Y.C. Effects of low level red-light irradiation on the proliferation of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow // *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2007. P. 5830–5833.

27. Li W.T., Leu Y.C., Wu J.L. Red-light light-emitting diode irradiation increases the proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells // Photomed. and Laser Surg. 2010. 28 (S1). P. S157–S165.
28. Li W.T., Chen C.W., Huang P.Y. Effects of low level light irradiation on the migration of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow // Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2013. P. 4121–4124.
29. Lin F., Josephs S.F., Alexandrescu D.T. et al. Lasers, stem cells, and COPD // Journal of Translational Medicine. 2010. 8 (16). <http://www.translational-medicine.com/content/8/1/16>.
30. Lins E.C., Oliveira C.F., Guimaraes O.C. et al. A novel 785-nm laser diode-based system for standardization of cell culture irradiation // Photomed. Laser Surg. 2013. 31 (10). P. 466–473.
31. Lipovsky A., Oron U., Gedanken A., Lubart R. Low-level visible light (LLVL) irradiation promotes proliferation of mesenchymal stem cells // Lasers Med. Sci. 2013. 28 (4). P. 1113–1117.
32. Long X., Olszewski M., Huang W. Neural cell differentiation in vitro from adult human bone marrow mesenchymal stem cells // Stem Cells Develop. 2005. 14 (1). P. 65–69.
33. Oron U., Maltz L., Tuby H. Enhanced liver regeneration following acute hepatectomy by low-level laser therapy // Photomed. Laser Surg. 2010. 28 (5). P. 675–678.
34. Peng F., Wu H., Zheng Y. et al. The effect of noncoherent red light irradiation on proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells // Lasers Med. Sci. 2012. 27 (3). P. 645–653.
35. Rochkind S., Shahar A., Amon M., Nevo Z. Transplantation of embryonal spinal cord nerve cells cultured on biodegradable microcarriers followed by low power laser irradiation for the treatment of traumatic paraplegia in rats // Neurol. Res. 2002. 24 (4). P. 355–360.
36. Rochkind S., El-Ani D., Nevo Z., Shahar A. Increase of neuronal sprouting and migration using 780 nm laser phototherapy as procedure for cell therapy // Lasers Surg. Med. 2009. 41 (4). P. 277–281.
37. Saygun I., Nizam N., Ural A.U. et al. Low-level laser irradiation affects the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin-like growth factor-I (IGF-I), and receptor of IGF-I (IGFBP3) from osteoblasts // Photomed. Laser Surg. 2012. 30 (3). P. 149–154.
38. Schindl A., Merwald H., Schindl L. et al. Direct stimulatory effect of low-intensity 670-nm laser irradiation on human endothelial cell proliferation // Br. J. Dermatol. 2003. 148 (2). P. 334–336.
39. Soleimani M., Abbasnia E., Fathi M. The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts: an in vitro study // Lasers Med. Sci. 2012. 27 (2). P. 423–430.
40. Tuby H., Maltz L., Oron U. Low-level laser irradiation (LLLI) promotes proliferation of mesenchymal and cardiac stem cells in culture // Laser in Surg. and Med. 2007. 39 (4). P. 373–378.
41. Tuby H., Maltz L., Oron U. Implantation of low-level laser irradiated mesenchymal stem cells into the infarcted rat heart is associated with reduction in infarct size and enhanced angiogenesis // Photomed. and Laser Surg. 2009. 27 (2). P. 227–233.
42. Tuby H., Maltz L., Oron U. Induction of autologous mesenchymal stem cells in the bone marrow by low-level laser therapy has profound beneficial effects on the infarcted rat heart // Lasers Surg. Med. 2011. 43 (5). P. 401–409.
43. Wang J., Huang W., Wu Y. et al. MicroRNA-193 pro-proliferation effects for bone mesenchymal stem cells after low-level laser irradiation treatment through inhibitor of growth family, member 5 // Stem Cells Develop. 2012. 21 (1). P. 2508–2519.
44. Wu Y.H., Wang J., Gong D.X. et al. Effects of low-level laser irradiation on mesenchymal stem cell proliferation: a microarray analysis // Lasers Med. Sci. 2012. 27 (2). P. 509–519.
45. Yang C.C., Wang J., Chen S.C., Hsieh Y.L. Synergistic effects of low-level laser and mesenchymal stem cells on functional recovery in rats with crushed sciatic nerves // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2013 Mar 7. doi: 10.1002/term.1714.

Поступила в редакцию 15.04.2014 г.

Для контактов: Москвин Сергей Владимирович
E-mail: 7652612@mail.ru

УДК: 616-092:616.1

Головнева Е.С., Рейдман В.Р., Кравченко Т.Г.

Динамика репаративных процессов в миокарде после лазерного облучения зон локализации красного костного мозга

Golovneva E.S., Rejdman V.R., Kravchenko T.G.

Dynamics of myocardium reparation processes after laser treatment of red bone marrow areas

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России»,

ГБУЗ ЦОСМП «Челябинский государственный институт лазерной хирургии»

Изучена динамика репарации миокарда с диффузными и очаговыми ишемическими изменениями после лазерного воздействия на костный мозг крыс. Применяли 10-кратное чрезкожное облучение зон бедренных костей, крестца, позвоночника, хвоста инфракрасным и красным диодными лазерами (1 Вт, 1 минута на зону). Через 10 суток после облучения отмечалось уменьшение площади ишемических изменений миокарда, повышение плотности сосудов, увеличение диаметра артериол и капилляров, нормализация параметров микроциркуляции, повышение активности желатиназы, что свидетельствовало об усилении репаративных процессов в сердце, предположительно за счет повышения концентрации циркулирующих стволовых клеток в периферической крови и паракриной активации ими процессов неангиогенеза в сердце. *Ключевые слова: ишемия миокарда, лазер, костный мозг, неангиогенез.*

In the present work the reparative processes in the myocardium having diffuse and focal ischemic changes after laser irradiation of the bone marrow have been studied. Cutaneous irradiation of the femurs, sacrum, spine and tail areas with infrared and red diode lasers (1 Wt, 1 min. exposure per area) was performed 10 times. In 10 days after the treatment one could see a decrease of the area of ischemic myocardial changes; the increase of blood vessels density; diameter increase in capillaries and arterioles; microcirculation normalization and gelatinase activity increase. All these findings indicate the enhancement of reparative processes in the heart, presumably, due to the increase of circulating stem cells concentration in the peripheral blood leading to the paracrine activation of neangiogenesis in the heart. *Key words: myocardial ischemia, laser, bone marrow, neangiogenesis.*