

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 1270 НМ НА СПЕЦИФИЧЕСКОЕ СВЯЗЫВАНИЕ IgG С АНТИГЕНАМИ S. AUREUS И НА СПОСОБНОСТЬ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА А ВЫЗЫВАТЬ СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У МЫШЕЙ

Ю.В. Алексеев¹, О.В. Миславский^{1,2}, А.В. Иванов^{1,3}, Н.В. Дроздова¹,
А.В. Баранов¹, В.А. Дуванский⁴

¹ Научно-практический центр лазерной медицины им. О.К.Скобелкина
ФМБА России, Москва

² Институт иммунологии ФМБА России, Москва

³ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва

⁴ Российский университет дружбы народов, Москва

Актуальность: В последнее время в медицине все большее применение находит лазерное излучение в ближней инфракрасной области спектра, совпадающее с полосами поглощения эндогенного молекулярного кислорода, с целью прямой оптической генерации его активной формы – синглетного кислорода (“светокислородный эффект”). Однако механизмы его проявления и взаимодействия с биологическими объектами до конца не выяснены. Уточнение их является актуальным и может служить основанием для расширения клинического применения.

Цель: Изучение воздействия лазерного излучения с $\lambda \approx 1270$ нм на специфическое связывание иммуноглобулина IgG с антигенами и способность стафилококкового энтеротоксина вызывать иммунный ответ.

Задачи: Определение экспозиционных доз, способных повлиять на данный процесс и установление самого факта этой возможности.

Материал и методы: Экспериментальный лазерный аппарат $\lambda \approx 1270$ нм (ООО “Новые хирургические технологии”, Москва), стафилококковый антиген, стафилококковый энтеротоксин А, сыворотка крови иммунизированных мышей.

Результаты: Установление факта подавления реакции антиген + антитело *in vitro* как при облучении антигена, так и при облучении сыворотки, а также подавление способности облученного энтеротоксина вызывать иммунный ответ.

Заключение: Установлено подавление иммунных реакций под влиянием лазерного излучения с перечисленными субстратами, что может косвенно свидетельствовать о влиянии синглетного кислорода на конформационную структуру белковых молекул. Этот факт важен для понимания одного из путей реализации “светокислородного эффекта” и может быть использован в клинике.

Ключевые слова: синглетный кислород, инфракрасное лазерное излучение, светокислородный эффект, стафилококковые антигены, длина волны 1270 нм

DOI: 10.52775/1810-200X-2023-100-4-51-60

Введение

В настоящее время хорошо изучены и документированы механизмы повреждения биологических объектов за счет генерации синглетного кислорода при возбуждении различных пигментов-фотосенсибилизаторов в аэробных системах – так называемый фотодинамический эффект (ФДЭ) [1, 2]. Гипотеза о возможности повреждения клеток и тканей за счет генерации синглетного кислорода без фотосенсибилизатора (ФС) при прямом фотовозбуждении растворенного в тканях кислорода была высказана российскими исследователями еще в конце 80-х годов прошлого века [3–7]. Этот механизм, названный светокислородным эффектом (СКЭ) [8], однозначно установлен, однако до конца не выяснен и в настоящее время широко обсуждается [9]. Для его наблюдения необходимо узкополосное (квазимонохроматическое) излучение в определенных спектральных интервалах, соответствующих полосам поглощения, растворенного в водной среде молекулярного кислорода.

В водных системах наибольший выход синглетного кислорода наблюдается при действии света в инфракрасном диапазоне при 1264–1270 нм. На модельных системах экспериментально доказано образование синглетного кислорода при прямом лазерном возбуждении в инфракрасной полосе поглощения кислорода, растворенного в различных средах в соответствии с парциальным давлением [10, 11]. Светокислородный эффект (СКЭ) на 3–4 порядка менее эффективен, чем генерация синглетного кислорода при фотовозбуждении фотосенсибилизаторов. Тем не менее, многочисленными работами доказано, что облучение в области основных полос поглощения кислорода вызывает биологические эффекты [12].

За счет генерации синглетного кислорода ФДЭ (трехкомпонентный – фотосенсибилизатор, свет и кислород) и СКЭ (двухкомпонентный – свет и кислород) имеют определенную общность и различия [13]. В комплексе физико-химических и медико-биологических исследований, выполненных за последние два десятилетия, установлен единый механизм биостимулирующего и фотодеструктивного действия ФДЭ и СКЭ.

Фотодинамический и светокислородный эффекты объединяют:

- ✓ первичный фотопродукт – синглетный кислород $^1\text{O}_2$;
- ✓ зависимость от концентрации O_2 в тканях;

- ✓ идентичность динамики развития повреждений в клетках;
- ✓ возможность получения цитотоксического эффекта.

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 и внутриклеточных органеллах, 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 [14].

Эти различия обуславливают преимущественные области практического использования этих эффектов. В настоящее время ФДЭ активно применяется при фотодинамической терапии (ФДТ) в онкологии и при неонкологических заболеваниях. В то же время СКЭ, который в основном определяет эффективность низкоэнергетической лазерной терапии (НЛТ), при некоторых длинах волн может иметь значительно более широкий спектр применения. Основанные на СКЭ методы лечения составляют новое направление – светокислородную терапию (СКТ). Изложенный круг общих представлений об этом подробно анализируется в серии обзорных статей [8, 9, 11, 14].

ФДЭ уже давно применяется в медицине при лечении целого ряда заболеваний, в то же время СКЭ сравнительно недавно стал находить свое применение в виде нового направления СКТ, показания к которой постоянно расширяются от использования в промышленной микробиологии до применения в клинической практике [15–20].

Имеет место исследование и развитие новых методик применения лазеров с различными длинами волн в иммунологии, в том числе с длинами волн в спектре поглощения эндогенного кислорода – СКЭ [21, 22]. Описано подав-

ление жизнеспособности микробных клеток под воздействием СКЭ при определенных параметрах излучения [23].

Особый интерес представляет обнаруженный эффект подавления репликации вирусных фаговых вирионов клебсиеллезного бактериофага *in vitro* при $\lambda \approx 1270$ нм [24]. Было высказано предположение о возможном воздействии образующегося синглетного кислорода на конформационную структуру белковых молекул. В связи с этим, по нашему мнению, изучение влияния СКЭ в этом диапазоне как на стафилококковые антигены, так и на аффинность образующихся при иммунизации антител к ним позволило бы не только прояснить некоторые механизмы СКЭ, но и впоследствии найти им применение в разработке новых методов светокислородной терапии (СКТ).

Материал и методы

Эксперимент проводили на 15 мышак-самках линии Balb/C. Животных разделили на две группы: интактные животные (контрольная группа 5 мышей) и иммунизированные животные (экспериментальная группа 10 мышей). Мышей в экспериментальной группе иммунизировали двукратно с интервалом 7 сут взвесью убитых клеток золотистого стафилококка, для чего внутрибрюшинно вводили 0,2 мл взвеси культуры с содержанием 2×10^9 клеток в 1 мл. На 21-е сутки по окончании иммунизации проводили забор крови у контрольных и экспериментальных животных и после осаждения клеточной массы центрифугированием собирали сыворотку для исследования.

Для получения стафилококкового белка молекулярной массой 50 кДа был взят образец паспорта штамма "Ивашкин":

1. Номер штамма ГКПМ – 201204.
2. Название штамма – *Staphylococcus aureus*.
3. Особенности штамма – Ивашкин.
4. Получен ФГБУ "ГНЦ Институт иммунологии" ФМБА России.
5. Дата получения 2009 г.
6. Условия культивирования штамма (среда, температура и т.д.) – МПА, МПБ, агар Хоттингера, бульон Хоттингера; $t=37^\circ\text{C}$; длительность 18–24 ч.
7. Характеристика – морфологические и биохимические свойства типичные.

После выращивания штамма на питательной среде из культуральной жидкости была

выделена клеточная масса *S. aureus* в объеме 20 мл с содержанием 90×10^9 клеток в 1 мл. Перед проведением дальнейших работ культуру бактериальных клеток дезактивировали парами формалина.

Дробление стафилококковых клеток осуществлялось с помощью ультразвукового дезинтегратора UD-20 фирмы Techpan (Польша) при рабочей частоте $22 \pm 1,65$ кГц и выходной мощности 180 Вт.

Дезинтегрирование проводилось в течение 45 мин со средним интервалом времени 3,5 мин. Для работы был выбран диапазон со стабилизированной амплитудой колебаний на конце концентратора, соответствующей 8 мкм. Неразрушенные фрагменты бактериальных клеток осаждали центрифугированием в течение 20 мин при 3000 об/мин, после осадок удаляли.

Препаративное выделение фракции белка осуществлялось методом гель-фильтрации с использованием Сефадекса G-100 фирмы Pharmacia (Швеция) на колонке фирмы LKB (Швеция) размером 3×48 см ($V=340$ мл). Элюцию вели 0,04 М Na-фосфатным буфером, объем препарата 1,5 мл (все параметры заимствованы из экспериментов, касающихся разделения нативных белков – см. Остерман Л.А., 1985, с. 146).

Для предварительного определения молекулярной массы белков *S. aureus* строился график селективности, для формирования которого применялись стандартные белки (бычий сывороточный альбумин (БСА) с $M=66$ кДа, карбоангидраза с $M=29$ кДа, цитохром С с $M=12$ кДа) и рассчитывался коэффициент доступности (K_{av})

$$K_{av} = (V_R - V_0) / (V_t - V_0),$$

где V_t – полный объем пустой колонки, V_0 – свободный объем колонки вне гранул, $V_t - V_0$ – полный объем гранул, V_R – объем элюции.

Для определения V_0 использовался специальный окрашенный препарат-голубой декстран с молекулярной массой 2000 кДа.

Для предварительного ориентировочного определения молекулярной массы белка главного пика в каждой из двух полученных смесей был построен график селективности (рис. 1).

Расчет коэффициентов доступности (K_{av}) для построения графика селективности:

$$V_{\text{элюции}} = 6 \text{ мл/ч.}$$

$$V_t = 300 \text{ мл.}$$

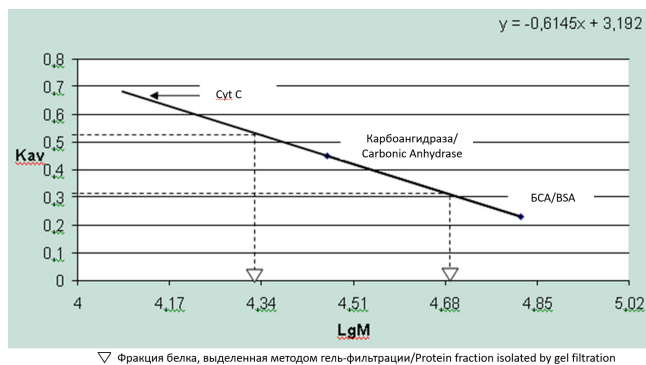


Рис. 1. График селективности

$V_0 = 111$ мл.

Для голубого декстрана (ГД): $K_{av} = 0$.

Для БСА: $K_{av} = (V_R - V_0) / (V_T - V_0) = (155 - 111) / 189 = 0,23$.

Для карбоангидразы: $K_{av} = (196 - 111) / 189 = 0,45$.

Для цитохрома С (cyt C): $K_{av} = (235 - 111) / 189 = 0,66$.

Для белковой фракции: $K_{av} = (170 - 111) / 189 = 0,31$.

Искомая молекулярная масса 50000 Да, значение которой соответствует по оси X логарифму молекулярной массы (LgM) $\sim 4,69$.

Методом вертикального электрофореза в 15 % полиакриламидном геле, с использованием камеры для электрофореза SE 300 mini VE фирмы Hoefer (США), было показано, что исследуемая белковая фракция золотистого стафилококка соответствует 50 кДа.

Облучение белковой фракции с молекулярной массой 50 кДа с содержанием белка в концентрации 3 мкг/мл, полученной из дробленной культуры золотистого стафилококка, и облучение сыворотки крови сенсibilизированных мышей проводили экспериментальным лазером с длиной волны ≈ 1270 нм.

Облучение образцов антигена (АГ) и сыворотки с антителами (АТ) проводили в отдельных 8-луночных стрипах из разборного 96-луночного планшета. В 5 лунок стрипа, промаркированного АГ, помещали 200 мкл белковой фракции в фосфатном буфере рН 7,8 и последовательно облучали каждую лунку в течение 3 мин с расстояния 2 см, при различных значениях мощности. Облучение проводилось по следующей схеме: лунка №1 – 800 мВт (374 Дж/см²), лунка №2 – 700 мВт (327 Дж/см²), лунка №3 – 450 мВт (210 Дж/см²), лунка №4 – 350 (164 Дж/см²), лунка №5 – 300 мВт (140 Дж/см²). После облучения проводили сорбцию в буфере разведения облученной и не облученной белковой фракции на планшетку повышенной сорбции для прове-

дения тестов иммуно-ферментного анализа (ИФА). Облучение сыворотки проводили в день, соответствующий по методике постановки иммуноферментного анализа для внесения образцов сыворотки (АТ) поверх сорбированных белковых фракций (АГ). Схема облучения соответствовала схеме облучения белковой фракции. Далее по методике постановки ИФА вносили раствор конъюгата, субстрат в буферном растворе и стоп-раствор. Определение оптической плотности растворов проводили на приборе Multiscan при длине волны 492 нм. При постановке тестов ИФА были использованы следующие сочетания:

- №1 – облученная белковая фракция + облученная сыворотка;
- №2 – облученная белковая фракция + не облученная сыворотка;
- №3 – не облученная белковая фракция + облученная сыворотка;
- №4 – не облученная белковая фракция + не облученная сыворотка;
- №5 – не облученная белковая фракция + контрольная сыворотка;
- №6 – облученная белковая фракция + контрольная сыворотка.

В другой аранжировке опытов со стафилококковым энтеротоксином А экспериментальную работу проводили на 15 мышах линии Balb/C самках. Животных разделили на три группы: интактные животные (контрольная группа), иммунизированные животные необлученным стафилококковым энтеротоксином А (экспериментальная группа 1) и иммунизированные животные облученным стафилококковым энтеротоксином А (экспериментальная группа 2). Облучение стафилококкового энтеротоксина А из *Staphylococcus aureus* (фирмы Sigma), растворенного в физиологическом растворе в количестве 50 мкг в объеме 0,5 мл, проводили в кварцевой кювете с площадью 1 см² ИК-лазером с длиной волны 1270 нм доза облучения составила 480 Дж/см². Температура дна кюветы изменялась от 24,5°C до 39°C, в толще жидкости от 23,5°C до 33,7°C. Температура содержимого лунок планшета в предыдущем опыте составляла в среднем от 20°C до 38°C. Измерение температуры проводилось методом радиотермометрии на экспериментальной модификации установки РТМ-01, Россия.

Мышей в экспериментальной группе 1 иммунизировали двукратно с интервалом 7 сут, 10 мкг стафилококкового энтеротоксина А на одно животное. Мышей в эксперименталь-

ной группе 2 иммунизировали также двукратно с интервалом 7 сут, по такой же схеме, с предварительным облучением стафилококкового энтеротоксина А перед каждой иммунизацией.

Уровни содержания специфического IgG в сыворотке крови мышей определяли методом ИФА (ELISA) по оптической плотности. При постановке в ИФА реакции АГ-АТ, использовали необлученный стафилококковый энтеротоксин А для связывания IgG-антител сыворотки крови мышей.

Результаты

Полученные в работе данные представлены в табл. 1.

Двукратное введение взвеси убитых клеток золотистого стафилококка у мышей самок вызвало увеличение содержания в сыворотке крови специфического IgG по сравнению с контролем в два раза, что видно по увеличению оптической плотности (ОП) в тесте ИФА с

0,106±0,009 до 0,214±0,019 (сочетания №4 и №5). Под действием лазерного излучения на белковую фракцию из культуры золотистого стафилококка и на сыворотку иммунизированных животных (№1) происходило уменьшение уровня ОП по реакции ИФА в зависимости от дозы излучения, т.е. чем больше доза, тем больше угнетение реакции. При дозе облучения 374 Дж/см² ОП достигала уровня контроля 0,106±0,012. Действие минимальной дозы 140 Дж/см² также вызывало уменьшение ОП до 0,138±0,018, что достоверно отличалось от положительного контроля №4 ($p < 0,05$). При действии лазерного излучения только на белковую фракцию достоверный эффект угнетения реакции наблюдался только при дозе 374 Дж/см²: ОП составляла 0,167±0,021 ($p < 0,05$). Действие лазерного излучения только на сыворотку иммунизированных животных №3 приводило к уменьшению ОП по сравнению с положительным контролем №4 во всем диапазоне используемых доз ($p < 0,05$). Однако эф-

Таблица 1

Действие лазерного излучения с длиной волны 1270 нм на реакцию антиген + антитело в ИФА тесте

№	Комплекс антиген + антитело Complex antigen + antibody	ОП OD
1	Облученная белковая фракция 374 Дж/см ² + облученная сыворотка 374 Дж/см ²	0,106 ± 0,012*
	Облученная белковая фракция 327 Дж/см ² + облученная сыворотка 327 Дж/см ²	0,120 ± 0,014*
	Облученная белковая фракция 210 Дж/см ² + облученная сыворотка 210 Дж/см ²	0,122 ± 0,017*
	Облученная белковая фракция 164 Дж/см ² + облученная сыворотка 164 Дж/см ²	0,136 ± 0,015*
	Облученная белковая фракция 140 Дж/см ² + облученная сыворотка 140 Дж/см ²	0,138 ± 0,018*
2	Облученная белковая фракция 374 Дж/см ² + не облученная сыворотка	0,167 ± 0,021*
	Облученная белковая фракция 327 Дж/см ² + не облученная сыворотка	0,207 ± 0,019
	Облученная белковая фракция 210 Дж/см ² + не облученная сыворотка	0,219 ± 0,015
	Облученная белковая фракция 164 Дж/см ² + не облученная сыворотка	0,231 ± 0,022
	Облученная белковая фракция 140 Дж/см ² + не облученная сыворотка	0,236 ± 0,014
3	Не облученная белковая фракция + облученная сыворотка 374 Дж/см ²	0,122 ± 0,011*
	Не облученная белковая фракция + облученная сыворотка 327 Дж/см ²	0,137 ± 0,013*
	Не облученная белковая фракция + облученная сыворотка 210 Дж/см ²	0,146 ± 0,019*
	Не облученная белковая фракция + облученная сыворотка 164 Дж/см ²	0,151 ± 0,012*
4	Не облученная белковая фракция + облученная сыворотка 140 Дж/см ²	0,155 ± 0,020*
	Не облученная белковая фракция + не облученная сыворотка (положительный контроль, иммунизированные животные)	0,214 ± 0,019*
5	Не облученная белковая фракция + контрольная сыворотка (отрицательный контроль, не иммунизированные животные)	0,106 ± 0,009
6	Облученная белковая фракция 374 Дж/см ² + контрольная сыворотка (не иммунизированные животные)	0,099 ± 0,010
	Облученная белковая фракция 210 Дж/см ² + контрольная сыворотка (не иммунизированные животные)	0,104 ± 0,012
	Облученная белковая фракция 140 Дж/см ² + контрольная сыворотка (не иммунизированные животные)	0,107 ± 0,008

* сравнение указано по отношению к №4 ($p < 0,05$)

фект был менее выражен по сравнению с №1 “облученная белковая фракция + облученная сыворотка”, отличия не были достаточно достоверными ($p \geq 0,05$).

По результатам проведенного исследования видно, что угнетение реакции АГ-АТ иммуноферментного анализа происходит в основном за счёт изменения структуры сыворотки крови, содержащей IgG (АТ) и в меньшей степени зависит от изменения структуры белковой фракции стафилококка (АГ) под действием облучения. Белковая фракция золотистого стафилококка оказывается более устойчива к действию лазерного излучения с длиной волны 1270 нм. Сыворотка крови является многокомпонентной системой, и действие лазерного излучения затрагивает факторы, способствующие связыванию по белковой фракции и IgG. Таким образом, действие лазерного излучения на реакцию антиген + антитело нуждается в более детальном изучении.

При экспериментах со стафилококковым энтеротоксином А в контрольной группе на 14 и 21-е сутки были получены следующие данные по уровню IgG-антител в сыворотке крови, определяемые значениями оптической плотности (ОП) – $0,112 \pm 0,011$ и $0,109 \pm 0,010$. В экспериментальной группе 1 на 14 и 21-е сутки, у иммунизированных животных необлученным стафилококковым энтеротоксином А, в сыворотке крови уровни специфического IgG по ОП составляли $0,307 \pm 0,011$ и $0,727 \pm 0,012$. В экспериментальной группе 2 на 14 и 21-е сутки, у иммунизированных животных облученным стафилококковым энтеротоксином А, в сыворотке крови уровни специфического IgG по ОП составляли $0,221 \pm 0,016$ и $0,600 \pm 0,010$. Полученные результаты достоверно отличались от данных, наблюдаемых в экспериментальной группе 1 ($p < 0,05$).

T-критерий Стьюдента обсчитывался в программе Statistica 6.0.

Из представленных данных видно, что воздействие излучения ИК-лазера с длиной волны 1270 нм в дозе 480 Дж/см², опосредованное светокислородным эффектом, уменьшает способность стафилококкового энтеротоксина А стимулировать специфический IgG ответ у мышей.

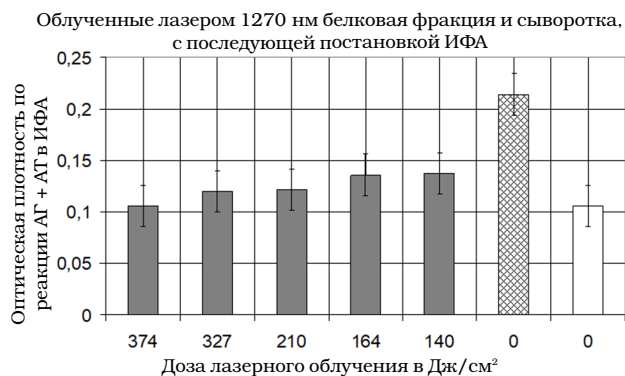


Рис. 2. При воздействии лазерного излучения на белковую фракцию и на сыворотку иммунизированных мышей происходит резкое уменьшение уровня оптической плотности в реакции АГ+АТ с тенденцией к дозовой зависимости в пределах интервала достоверности (два правых столбца – положительный и отрицательный контроли)

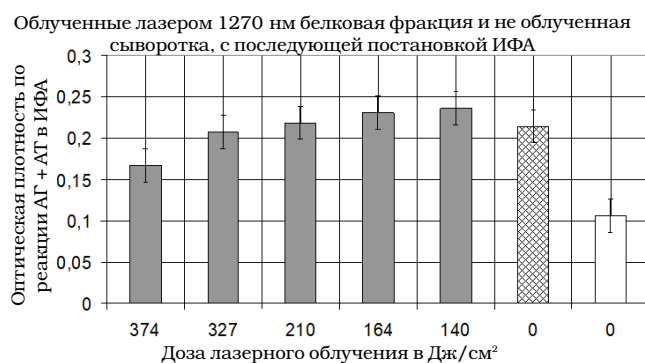


Рис. 3. После облучения лазером только белковой фракции стафилококка эффект угнетения реакции АГ+АТ наблюдается лишь при действии максимальной дозы 374 Дж/см²

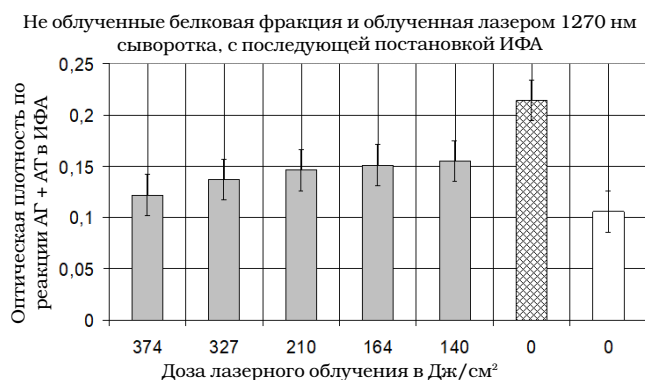


Рис. 4. Действие излучения 1270 нм только на сыворотку иммунизированных животных приводит к уменьшению ОП в реакции АГ+АТ при всех исследуемых дозах по сравнению с положительным контролем ($p < 0,5$), подобно данным рис. 2

Обсуждение

Таким образом, установлен эффект угнетения реакции антиген+антитело лазерным излучением с $\lambda \approx 1270$ нм. При облучении и антигена и сыворотки крови иммунизируемых животных имеется тенденция к дозовой зависимости, а облучение стафилококкового антигена для инактивации требует большую экспозиционную дозу, чем для инактивации сыворотки.

Те же результаты (инактивация) получены при облучении стафилококкового энтеротоксина А. Выбор приводимых в статье параметров облучения основывался на предварительных результатах экспериментов, которые показали их эффективность, и это является основанием для использования их в дальнейшем. При облучении биообъектов проводились измерения их температуры методом термометрии для исключения термического повреждения белковых молекул. Температура колебалась в пределах, не вызывающих изменения их структуры. Механизмы наблюдаемого явления нуждаются в детальном изучении, однако эксперимент косвенно подтверждает гипотезу об изменении конформационной структуры белковых молекул антигена и сыворотки под влиянием определенных параметров лазерного излучения в этом спектре.

Выводы

1. В целом можно заключить, что получен новый экспериментальный материал, проясняющий механизм СКЭ в биологических объектах на молекулярном уровне на основе иммунных реакций специфического связывания IgG с антигенами *S. Aureus* и на определении способности стафилококкового энтеротоксина А вызывать специфический иммунный ответ у мышей.
2. Это явление может свидетельствовать об одном из механизмов реализации светокислородного эффекта и может быть использовано в клинической практике для лечения ряда заболеваний.

Список литературы

1. Красновский А.А. Синглетный кислород и первичные механизмы фотодинамической и лазерной медицины. Монография: Фунда-

ментальные науки – медицине. Биофизические медицинские технологии. Под редакцией А.И. Григорьева и Ю.А. Владимировой, т. 1, Глава 2; раздел 1; 173-217, МГУ им. М.В. Ломоносова, ООО “Макс Пресс”, Москва, 2015. 100 экз., ISBN 978-5-317-04920-1. [Krasnovsky A.A. Singlet oxygen and primary mechanisms of photodynamic and laser medicine. Monograph: Fundamental sciences – medicine. Biophysical Medical Technologies. Edited by Grigoriev A.I and Vladimirova Yu.A., vol. 1, Chapter 2; section 1; pp. 173-217, Lomonosov Moscow State University, LLC “Max Press”, Moscow, 2015. 100 copies, ISBN 978-5-317-04920-1 (in Russian)].

2. Странадко Е.Ф. Фотодинамическая терапия. Монография: Фундаментальные науки – медицине. Биофизические медицинские технологии. Под редакцией Григорьева А.И. и Владимировой Ю.А., т. 1, Глава 2; раздел 1; Стр. 218-263, МГУ им. М.В. Ломоносова, ООО “Макс Пресс”, Москва, 2015. 100 экз., ISBN 978-5-317-04920-1. [Stranadko E.F. Photodynamic therapy. Monograph: Fundamental sciences – medicine. Biophysical medical technologies. Edited by Grigoriev A.I. and Vladimirova Yu.A., vol. 1, Chapter 2; section 1; pp. 218-263, Lomonosov Moscow State University, LLC “Max Press”, Moscow, 2015. 100 copies, ISBN 978-5-317-04920-1 (In Russian)].
3. Ambartsumian R.V. Lasers in Cardiology // Proceedings of spie volume 0701 1986 European Conf on Optics, Optical Systems and Applications Editor(s): Stefano Sottini; Silvana Trigari, 341-3, <https://doi.org/10.1117/12.937082>.
4. Амбарцумян РВ, Елисеев ПГ, Еремеев БВ и др. Биологическое действие лазерного излучения на эритроциты в инфракрасной полосе поглощения молекулярного кислорода. Краткие сообщения по физике. 1987; 10: 35-37. [Ambartsumian RV, Eliseev PG, Yeremeev BV, et al. Biological effect of laser radiation on erythrocytes in the infrared absorption band of molecular oxygen. Brief reports on physics. 1987; 10: 35-7 (In Russian)].
5. Данилов ВП, Захаров СД, Иванов АВ и др. Фотодинамическое повреждение клеток в красной и ИК полосах поглощения эндогенного кислорода. Доклады АН СССР, 1990; 311 (5): 1255-8. [Danilov VP, Zakharov SD, Ivanov AV, et al. Photodynamic damage to cells in the red and IR bands of endogenous oxygen

- absorption. Reports of the USSR Academy of Sciences, 1990; 311 (5): 1255-8 [In Russian]].
6. Данилов ВП, Захаров СД, Иванов АВ 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: 1610-20. [Danilov VP, Zakharov SD, Ivanov AV, et al. Spectral-selective photodynamic effect without exogenous photosensitizers and its possible applications for cancer phototherapy and biostimulation. Reports of the USSR Academy of Sciences, Physics Series. 1990; 8: 1610-20 (In Russian)].
 7. Букин ГВ, Вольф ЕБ, Данилов ВП и др. Структурные переходы межклеточного раствора, вызванные прямой фотогенерацией синглетного кислорода в суспензии эритроцитов. Краткие сообщения по физике ФИАН, 1991. [Bukin GV, Wolf EB, Danilov VP, et al. Structural transitions of intercellular solution caused by direct photogeneration of singlet oxygen in erythrocyte suspension. Brief Reports on Physics FIAN, 1991 (In Russian)].
 8. Захаров СД, Иванов АВ. Светоокислородный эффект в клетках и перспективы его применения в терапии опухолей. Квантовая электроника. 1999; 29 (3): 192-214. [Zakharov SD, Ivanov AV. Light-oxygen effect in cells and prospects of its application in tumor therapy. Quantum electronics. 1999; 29 (3): 192-214 (In Russian)].
 9. 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; 50 (Suppl. 1.): S64-S85 ISSN: 0006-3509.
 10. Красновский А.А., Дроздова Н.Н., Иванов А.В., Амбарцумян Р.В. Активация молекулярного кислорода инфракрасным лазерным излучением в беспигментных аэробных системах. Биохимия. 2003; 68 (9): 1178-82, <https://doi.org/10.1023/a:1026052310563>. [Krasnovsky AA, Drozdova NN, Ivanov AV, Ambartsumian RV. Activation of molecular oxygen by infrared laser radiation in pigmentless aerobic systems. Biochemistry. 2003; 68 (9): 1178-82, <https://doi.org/10.1023/a:1026052310563> (In Russian)].
 11. Biochemistry (Moscow) 2003; 68 (9): 963-6 ISSN: 0006-2979 (Print), 1608-3040 (Electronic).
 12. Bla'zquez-Castro A. Direct $^{1}O_2$ optical excitation: A tool for redox biology. Redox Biol. 2017 Oct; 13: 39-59. DOI: 10.1016/j.redox.2017.05.011. Epub 2017 May 25.
 13. Захаров СД, Иванов АВ, Корочкин ИМ, Данилов ВП. Прямое возбуждение фотонами эндогенного молекулярного кислорода – фотофизический акт терапевтического действия лазерного излучения. Лазерная медицина. 2006; 10 (1): 4-9. [Zakharov SD, Ivanov AV, Korochkin IM, Danilov VP. Direct photon excitation of endogenous molecular oxygen is a photophysical act of therapeutic action of laser radiation. Laser Medicine. 2006; 10 (1): 4-9 (In Russian)].
 14. Алексеев ЮВ, Захаров СД, Иванов АВ. Фотодинамический и светоокислородный эффекты: общность и различия. Лазерная медицина. 2012; 16 (4): 4-9. [Alekseev YuV, Zakharov SD, Ivanov AV. Photodynamic and light-oxygen effects: commonality and differences. Laser Medicine. 2012; 16 (4): 4-9 (In Russian)].
 15. Захаров СД, Иванов АВ, Вольф ЕБ и др. Структурные перестройки в водной фазе клеточных суспензий и белковых растворов при светоокислородном эффекте. Квантовая электроника. 2003; 33 (2): 149-62. [Zakharov SD, Ivanov AV, Wolf EB, et al. Structural rearrangements in the aqueous phase of cellular suspensions and protein solutions with the light-oxygen effect. Quantum Electronics. 2003; 33 (2): 149-62 (In Russian)].
 16. Машалов АА, Балакирев СА, Иванов АВ, Алексеев ЮВ, Захаров СД, Ткачев СИ. Светоокислородная лазерная терапия в профилактике и лечении лучевых реакций и осложнений у онкологических больных. Лазерная медицина. 2013; 17(1): 10-4, ISSN: 2071-8004, eISSN: 2686-8644. [Mashalov AA, Balakirev SA, Ivanov AV, Alekseev YuV, Zakharov SD, Tkachev SI. Light-oxygen laser therapy in the prevention and treatment of radiation reactions and complications in cancer patients. Laser Medicine. 2013; 17 (1): 10-4, ISSN: 2071-8004, eISSN: 2686-8644 (In Russian)].
 17. Машалов АА, Иванов АВ, Захаров СД, Ткачев СИ, Климаков БД. Способ лечения больных злокачественными новообразованиями глубокой органной локализации. Патент РФ №2326706, 20 июня 2008 г. [Mashalov AA, Ivanov AV, Zakharov SD, Tkachev SI, Klimakov BD. Method of treatment of patients

- with malignant neoplasms of deep organ localization. RF Patent No. 2326706, June 20, 2008 (In Russian)].
18. Фрайкин ГЯ, Рубин ЛВ, Еремеева ОВ, Хургес ГМ, Горюхова НМ, Афанасьева ВП, Градова НБ, Калунянц КА, Ваганова МС, Осипова ВГ, Фридман ЯС. Практическое использование метода фотостимуляции развития при культивировании промышленных штаммов микроорганизмов. Прикладная биохимия и микробиология, 1974; 10 (1): 5-9. [Fraikin GYa, Rubin LV, Eremeeva OV, Hurges GM, Goryukhova NM, Afanasyeva VP, Gradova NB, Kalunyants KA, Vaganova MS, Osipova VG, Friedman YaS. Practical use the method of photostimulation of development in the cultivation of industrial strains of microorganisms. Applied Biochemistry and Microbiology, 1974; 10 (1): 5-9 (In Russian)].
 19. Rubin LB, Eremeyeva OK, Rubin AB, Goryuchova NM, Ivanov AV, Fraykin GJ, Gradova NB. Verfahren zum Kultivieren von Mikroorganismen. Deutsches Patentant. Offenlegungsschrift 2215113, 26 Oktober, 1972.
 20. Захаров СД, Исмаилов ЭШ, Аминова ЭМ, Стародуб АН, Иванов АВ, Данилов ВП, Рыков СВ. Способы повышения продуктивности микроорганизмов. Патент РФ № 2208049, 10 июля 2003 г. [Zakharov SD, Ismailov ESh, Aminova EM, Starodub AN, Ivanov AV, Danilov VP, Rykov SV. Ways to increase the productivity of microorganisms. RF Patent No. 2208049, July 10, 2003 (In Russian)].
 21. Чунихин АА, Базикян ЭА, Иванов АВ, Шилов ИП. Лазерная терапия квазинепрерывным излучением 1265 нм в лечении болезней пародонта (экспериментальное исследование). Лазерная медицина. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2019-23-2-31-36>. [Chunikhin AA, Bazikyan EA, Ivanov AV, Shilov IP. Laser therapy with quasi-continuous radiation of 1265 nm in the treatment of periodontal diseases (experimental study). Laser Medicine. 2019; 23 (2): 31-6 <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2019-23-2-31-36> (In Russian)].
 22. Миславский ОВ, Алексеев ЮВ, Федоскова ТГ, Смирнов ВВ, Иванов АВ, Маштакова СР. Перспективы применения низкоинтенсивного лазерного излучения в иммунологии. РМЖ. 2021; 29 (10): 63-8, ISSN 2225-2282. [Mislavskiy OV, Alekseev YuV, Fedoskova TG, Smirnov VV, Ivanov AV, Mashtakova SR. Prospects for the use of low-intensity laser radiation in immunology. RMJ. 2021; 29 (10): 63-8, ISSN 2225-2282 (In Russian)].
 23. Алексеев ЮВ, Бархина ТГ, Иванов АВ, Давыдов ЕВ, Ковалев МИ, Ковалева АМ. Воздействие фотодинамического и светокислородного эффектов на ультраструктуру различных популяций лейкоцитов. Лазерная медицина. 2018; 22 (2): 29-35 <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2018-22-2-29-35>. [Alekseev YuV, Barkhina TG, Ivanov AV, Davydov EV, Kovalev MI, Kovaleva AM. The effect of photodynamic and light-oxygen effects on the ultrastructure of various leukocyte populations. Laser Medicine. 2018; 22 (2): 29-35, <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2018-22-2-29-35> (In Russian)].
 24. Фиалкина СВ, Алексеев ЮВ, Коновалова ГН, Луковкин АВ, Бондаренко ВМ. Подавление жизнеспособности клеток стафилококков лазерным лучом 1270 нм. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012; 5: 70-3 <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2012-7-70-73>. [Fialkina SV, Alekseev YuV, Konovalova GN, Lukovkin AV, Bondarenko VM. Suppression of viability of staphylococcal cells by a laser beam of 1270 nm. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2012; 5: 70-3, <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2012-7-70-73> (In Russian)].
 25. Фиалкина С.В., Алексеев Ю.В., Дуванский В.А., Давыдов Е.В. Изучение воздействия лазерного излучения 1270 нм на репликацию вирулентных фаговых вирионов. Лазерная медицина. 2021; 25 (1): 50-4 <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2021-25-1-50-54>. [Fialkina SV., Alekseev YuV, Duvanskiy VA, Davydov EV. Study of the effect of 1270 nm laser radiation on the replication of virulent phage virions. Laser medicine. 2021; 25 (1): 50-4, <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2021-25-1-50-54> (In Russian)].

THE EFFECT RESEARCH OF LASER RADIATION WITH WAVELENGTH 1270 NM ON THE SPECIFIC BINDING OF IgG TO S. AUREUS ANTIGENS AND ON THE ABILITY OF STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN A TO INDUCE A SPECIFIC IMMUNE RESPONSE IN MICE

Yu. V. Alekseev¹, O. V. Mislavskiy^{1,2}, A. V. Ivanov^{1,3}, N. V. Drozdova¹, A. V. Baranov¹, V. A. Duvanskiy⁴

¹ O.K. Skobelkin Scientific and Practical Center of Laser Medicine, Moscow, Russia

² National Research Centre Institute of Immunology, Moscow, Russia

³ N.N. Blokhin National Medical Oncology Research Center, Moscow, Russia

⁴ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Relevance: Recently, laser radiation in the near infrared region of the spectrum has been increasingly used in medicine, coinciding with the absorption bands of endogenous molecular oxygen for the purpose of direct optical generation of its active form – singlet oxygen (light-oxygen effect). However, the mechanisms of its manifestation and interaction with biological objects have not been fully elucidated. Clarifying them is relevant and can serve as a basis for expanding clinical application.

Purpose: To study the effect of laser radiation with $\lambda \approx 1270$ nm on the specific binding of IgG to antigens and the ability of staphylococcal enterotoxin to induce an immune response.

The objectives of the work are to determine the exposure doses that can affect this process and to establish the very fact of this possibility.

Materials and methods: Experimental laser device $\lambda \approx 1270$ nm (New Surgical Technologies, Moscow), staphylococcal antigen, staphylococcal enterotoxin A, blood serum of immunized mice.

Results: Establishment of the fact of suppression of the antigen + antibody reaction *in vitro*, both during antigen irradiation and serum irradiation, as well as suppression of the ability of the irradiated enterotoxin to cause an immune response.

Conclusion: Suppression of immune reactions under the influence of laser radiation with the listed substrates has been established, which may indirectly indicate the influence of singlet oxygen on the conformational structure of protein molecules. This fact is important for understanding one of the ways to implement the “light-oxygen effect” and can be used in the clinic.

Key words: *singlet oxygen, infrared laser radiation, light-oxygen effect, staphylococcal antigens, wavelength 1270 nm*

E-mail: ural377@mail.ru