Влияние импульсного низкоинтенсивного лазерного излучения красного (635 нм) и инфракрасного (904 нм) спектров на мезенхимальные стволовые клетки человека *in vitro*

С.В. МОСКВИН[1], Д.Ю. КЛЮЧНИКОВ[2], Е.В. АНТИПОВ[3], С.Е. ВОЛЧКОВ[2], О.Н. КИСЕЛЕВА[3]

[1]ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины» ФМБА РФ, ул. Студенческая, 40, стр. 1, Москва, Российская Федерация, 121165; [2]ГБУЗ «Самарский областной центр планирования семьи и репродукции»; [3]НОУ ВПО «Медицинский институт РЕАВИЗ», Самара

The influence of pulsed low-intensity laser radiation of the red (635 nm) and infrared (904 nm) spectra on the human mesenchymal stem cells *in vitro*

S.V. MOSKVIN, D.YU. KLYUCHNIKOV, E.V. ANTIPOV, S.E. VOLCHKOV, O.N. KISELEVA

[1]Federal State Budgetary Institution «State Research Centre of Laser Medicine», Russian Federal Medico-Biological Agency, Moscow; [2]State Budgetary Healthcare Facility «Samara Regional Centre of Family Planning and Reproduction», Samara; [3]Non-state Educational Institution of Higher Professional Education «REAVIZ Medical Institute», Samara

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 задачи исследования входило изучение возможности использования для этих целей импульсного НИЛИ инфракрасного и красного спектров. **Материал и методы.** В эксперименте использовалась адгезивная культура МСК, 4 пассажа, полученных из ткани пуповины донора, давшего информированное согласие. Для освечивания использовали 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/см^2) 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/см^2). Экспозиция во всех режимах составляла 5 мин. **Выводы.** Показано, что при используемых энергетических и временных параметрах воздействия морфология и жизнеспособность МСК не меняется. Наблюдалось небольшое превышение количества клеток относительно контроля, лучший эффект после освечивания 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 for a long time been an object of investigation with a view to elucidating the prospects for their application in clinical medicine and cosmetology. One of the approaches to the non-specific regulation of the activity of these cells at the stage of preliminary in vitro combination is the treatment with low-intensity laser radiation (LILR). The objective of the present study was to evaluate the possibility of using pulsed LILR of the infrared and red spectra for this purpose. **Material and methods.** We used the 4th passage adhesive MSC cultures based at the umbilical tissue of a donor who gave the informed consent to participate in the study. The source of illumination was a Lazmik-VLOK laser therapeutic apparatus (RU No RZN 2014/1410 dated 06.02.2014) with the matrix laser infrared radiation heads (wavelength 904 nm, light pulse length 108 ns, frequency 1500 Hz). The apparatus was operated either in the multi-frequency Lazmik regime [Moskvin S.V., 2014] with mean power density 0.05 and 0.14 mW/cm^2 and the red spectrum (wavelength 635 nm, light pulse length 144 ns, frequency 1500 Hz) or in the multi-frequency Lazmik regime [Moskvin S.V., 2014] with mean power density 0.03 and 0.12. The exposition was 5 min in both regimes. **Conclusion.** The study has demonstrated that neither the morphological structure nor the viability of mesenchymal stem cells changed under the influence of energy and time parameters used in experiments. The number of cells was shown to slightly increase in comparison with control. The most pronounced effect was documented after illumination with pulse infrared (904 nm) LILR in the multi-frequency Lazmik regime. The maximum effect was observed during a period between days 1 and 3 of cultivation.

Key words: mesenchymal stem cells, laser radiation, morphology and division of the cells.

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 [1].

МСК — мультипотентные стромальные клетки, способны к дифференцировке в различные типы клеток тканей — остеобласты, хондроциты, адипоциты, миобласты, гепатоциты, кардиомиоциты и

© Коллектив авторов, 2014

др. [1—3]. МСК человека сохраняют способность к пролиферации и дифференцировке при культивировании *in vitro*, а также при реимплантации, что обусловливает их высокую значимость в клинической практике [1]. Есть данные о возможности получения из МСК нейрональных предшественников с последующей дифференцировкой их в клетки нервной ткани (нейроны, астроциты, олигодендроциты) [4—7]. Известно, что МСК секретируют почти все основные провоспалительные цитокины и ростовые факторы [2].

Если будут найдены условия для расширения мультипотентности мезенхимальных стволовых клеток до плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток, в регенеративно-пластической медицине автоматически разрешатся многие проблемы этического, морального, 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 использовали лазерные источники разной длины 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 [8], хотя сама по себе ЭП (или так называемая доза) абсолютно неинформативна, а важнейшие параметры методики воздействия часто не указываются [9, 10].

Имеются также данные в отношении других стволовых клеток и физических факторов, в частности F. Eduardo и соавт. [26] показали, что стволовые клетки пульпы зубов человека (hDPSC) положительно реагируют на лазерное освечивание (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-излучением (длина волны 7,1 мм) обнаружено не было [27].

Из таблицы видно, насколько разнообразны получаемые эффекты, но все они кальцийзависимые, поскольку первичным механизмом стимуляции клеточной активности (физиологии) является термодинамический запуск Ca^{2+}-зависимых процессов [28]. Также известно, что при увеличении внутриклеточного кальция снижается вероятность гибели по механизму апоптоза и повышается выживаемость эмбриональных стволовых клеток *in vitro* [29], МСК *in vivo* [30].

В отношении возможного влияния некогерентного света на МСК данные противоречивые. Установлено почти 2-кратное увеличение пролиферации МСК *in vitro* после освечивания широкополосным светом (ЭП 2,4—7,2 Дж/см^2) [31]. Некогерентный свет (светоизлучающие диоды, СИД) (ЭП 2—4 Дж/см^2) не влияет на остеогенную дифференцировку МСК в норме, но усиливает дифференцировку и уменьшает пролиферацию в средах с остеогенными добавками [32]. 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 [8].

Также показано, что после одного воздействия наблюдается лишь кратковременное повышение пролиферации (630 нм, 15 мВт/см^2, ЭП 4 Дж/см^2), эффект усиливается после многократного освечивания и при низкой плотности клеток [33]. Это подтверждает известный факт необходимости ежедневного 3—5-кратного повторного освечивания с целью накопления эффекта [8].

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* [8, 34]. Не изучались перспективные возможности частотной модуляции.

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

Материал и методы

Культура клеток. В эксперименте использовалась адгезивная культура МСК, 4 пассажа, полученных из ткани пуповины донора, давшего информи-

Сведения об авторах:

Москвин Сергей Владимирович — к.т.н., д.б.н., в.н.с. ГНЦ лазерной медицины, e-mail: 7652612@mail.ru; *Ключников Дмитрий Юрьевич* — биолог лаб. ГБУЗСО «Клинический центр», e-mail: registry@cordbank.ru; *Антипов Евгений Валерьевич* — к.б.н., асс. каф. естественнонаучных дисциплин НОУ ВПО «Медицинский институт РЕАВИЗ», e-mail: eugantipov@gmail.com; *Волчков Станислав Евгеньевич* — к.м.н., зам. дир. по контролю качества ГБУЗСО «Клинический центр», e-mail: guality@cordbank.ru; *Киселева Ольга Николаевна* — преподаватель каф. естественнонаучных дисциплин НОУ ВПО «Медицинский институт РЕАВИЗ», e-mail: olenka.kiseleva@bk.ru

Таблица 1. **Результаты воздействия НИЛИ с разной длиной волны на МСК *in vitro***

Эффект	Длина волны, нм	ПМ, мВт/см^2	Время, с	ЭП, Дж/см^2	Источник литературы
Внеклеточная кальцификация	405	2,5	180	9, 18, 27, 36	[11]
Пролиферация	630	15	270	4	[12]
Трансмембранная миграция	630, 850	15	270	4	[13]
Пролиферация	633	3	10	0,3	[14]
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	[15]
Пролиферация, активация K^+- и Ca^{2+}-каналов	635	—	—	—	[16]
Пролиферация, активация генов *Akt1, Ptpn6, Stk17b, Ccnd1* и *Pik3ca*	635	—	—	—	[17]
Активация сигнальной РНК (miR-193)	635	6,61	75	0,5	[18]
Остеогенная дифференцировка (повышение уровня щелочной фосфатазы, коллагена I типа, экспрессия мРНК, остеопонтина, транскрипционного фактора Runx2 и др.)	647	9,3 мВт	10, 30 и 90 с	0,093; 0,279 и 0,836 Дж	[19]
Пролиферация, ослабление цитотоксического действия препаратов	660	76—156	25—12	1,9	[20]
Пролиферация	804	50	20, 60	1, 3	[21]
Управление ростом	810	—	—	1	[22]
Дифференцировка и распространение	810	—	—	3-6	[23]
Дифференцировка и пролиферация	1064	15 Гц, 100—150 мДж, 1,5—2,25 Вт	—	—	[24]
Продукция АФК	405 664 808	100	60 и 120	6 и 12	[25]

рованное согласие. Забор, транспортировка и обработка материала проводились в течение 24 ч с момента родов. МСК получены методом эксплантов с последующим культивированием фрагментов.

Культивирование проводили в течение 6 сут, с использованием стандартных питательных сред: Minimum Essential Medium Eagle, Alpha Modification with $NaHCO_3$ («Sigma-Aldrich», Германия), 2 mM L-глютамина («ПанЭко», Россия), 10% сыворотки плодов коровы (MSC FBS, Gibco, Австралия). Культивирование проводилось на чашках Петри площадью 11,78 см^2 (EasyGrip, «Beckton Dickinson», США). Также использовались: раствор Дальбекко (DPBS, «Биолот», Россия), раствор трипсина-ЭДТА («ПанЭко», Россия), центрифужные пробирки объемом 50 мл (CentriStar, «Corning Inc.», 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», США).

Исследование проводилось в пяти группах, при трех чашках (повторениях) в каждой группе. Опытные группы освечивались НИЛИ (параметры представлены в **табл. 2**), время экспозиции 5 мин на 1 чашку. Контрольные чашки не подвергалась 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 рассчитывалась ПМ и ЭП для каждого варианта освечивания. В режиме многочастотной модуляции Лазмик используется сложная многочастотная модуляция [8]. Требование к равномерному освечиванию всей поверхности плашки (лунки) связано с тем, что в этом случае обеспечивается лучший эффект, чем при локальном, точечном воздействии на часть культуры клеток [18, 35].

Непосредственно перед освечиванием МСК были инокулированы в количестве $3{,}7 \cdot 10^3$ живых клеток/см^2 поверхности культуральной посуды в каждую чашку Петри исследуемых и контрольной групп. Дальнейшее культивирование осуществлялось при +37 °С, CO_2 5% в течение пяти дней. Визуальное наблюдение за морфологией и ростом культуры проводилось ежедневно методом световой микроскопии до достижения монослоя в одной из групп. После этого был проведен подсчет общего



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

количества клеток в каждой группе. Статистическая обработка результатов проводилась 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 веретенообразную или треугольную форму. При изучении морфологии отдельных клеток на 1-е сутки культивирования можно было заметить, что подавляющая часть клеток имела схожие признаки — цитоплазма клеток светлая, хорошо структурированная, края четкие, ядра с однимдвумя ядрышками без каких-либо нетипичных включений.

При дальнейшем культивировании отмечался относительно равномерный рост культуры по всей поверхности пластика. Значимых изменений в морфологии клеток среди изучаемых и контрольной групп выявлено не было. На 5-й 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 различий 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 оценивалось визуально с учетом показателя процент 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 наблюдалось 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.

Оценка монослоя (площадь, занимаемая клетками) визуально проводилась в течение пяти 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 [36] и производство ангиогенных факторов, таких как васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) [37], предполагает возможность создания среды, которая является оптимальной для роста стволовых клеток *in vivo* [38]. Уже есть несколько работ, в которых проводили ос-

Таблица 2. **Параметры НИЛИ освечивания (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 восьми лазерных диодов.

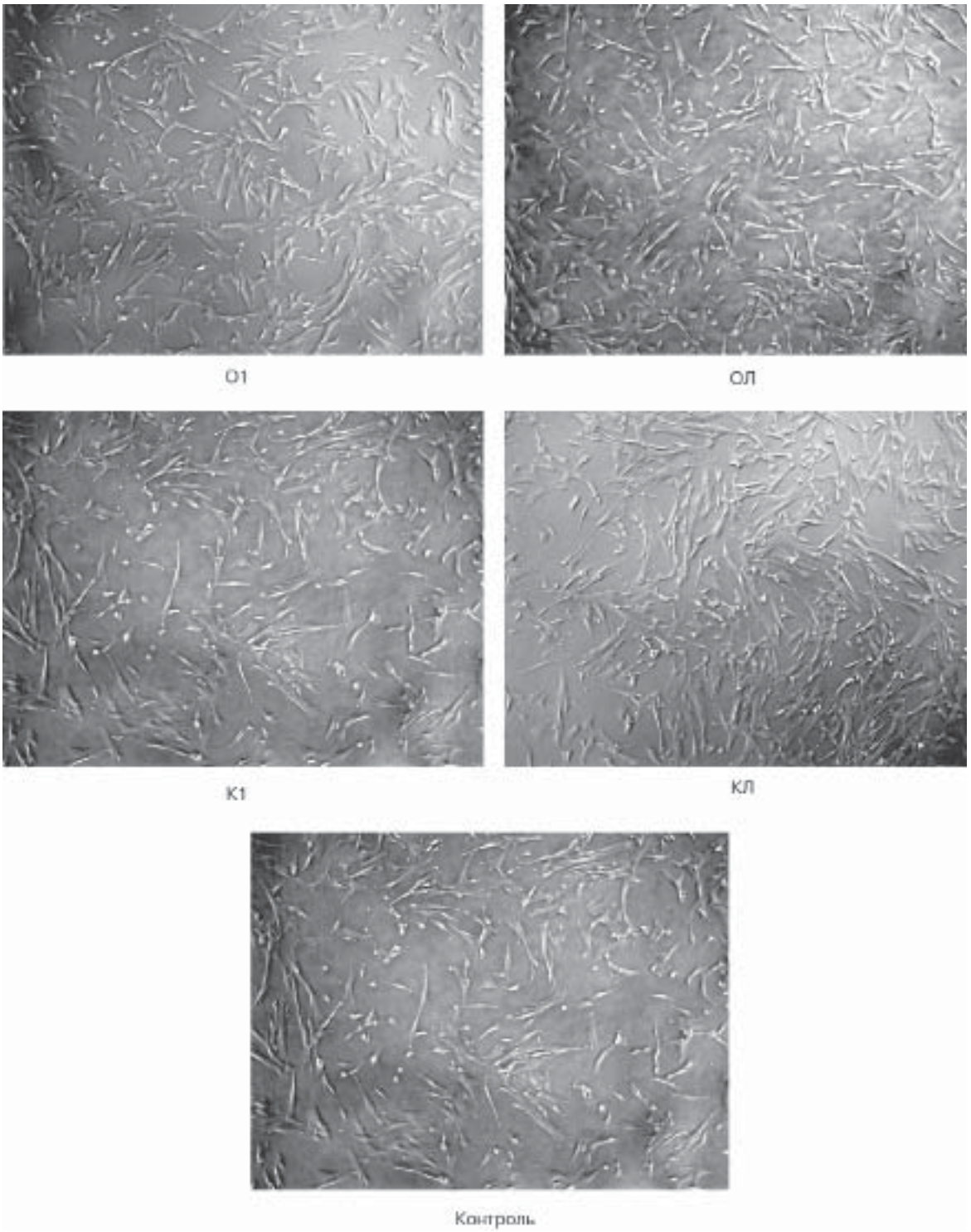


Рис. 2. **Культура МСК в группах через сутки после освечивания.**

вечивание 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 изучалась.

В пользу необходимости последовательного варианта лазерного воздействия могут свидетельствовать положительные результаты технологии им-

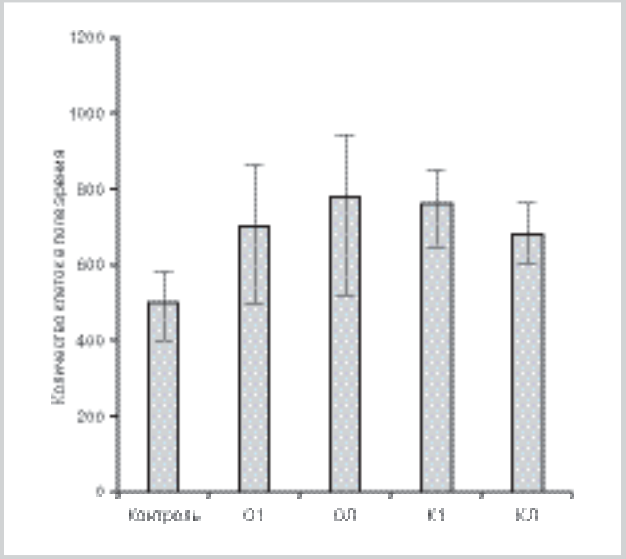


Рис. 3. **Количество клеток в поле зрения через сутки после освечивания.**

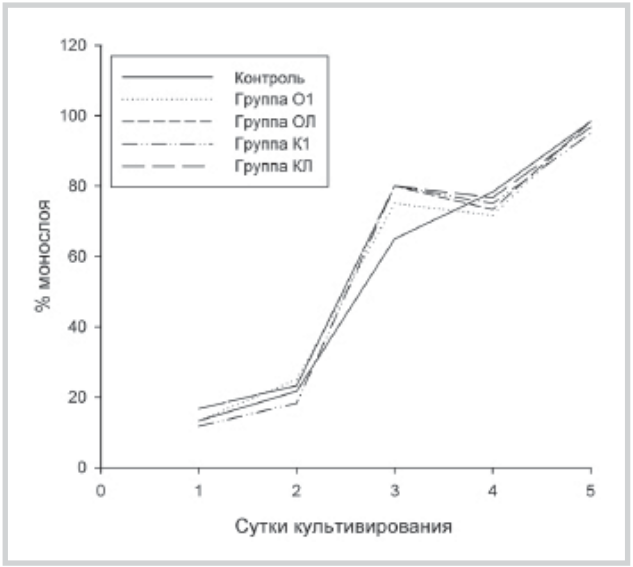


Рис. 4. **Процент площади поверхности, занимаемый клетками в процессе культивирования.**

Таблица 3. **Результаты воздействия НИЛИ с разной длиной волны на МСК *in vivo***

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	[39]
Ускоренная регенерация печени крыс	804	—	—	—	[40]
Ускоренная регенерация травмированного периферического (седалищного) нерва у крыс Sprague—Dawley, повышение электрофизиологической функции и экспрессия S100	—	—	—	—	[41]
Устранение рубцевания миокарда крыс Sprague—Dawley после инфаркта	—	10	100	1	[42]

плантации эмбриональных нервных клеток в полностью рассеченный спинной мозг с последующим освечиванием НИЛИ (780 нм, 100 мВт, 30 мин) участка регенерации, когда намного лучшие результаты достигались после предварительного лазерного освечивания культуры клеток (780 нм, 50 мВт, 1 мин) [43, 44]. По аналогии можно было бы предположить, что и с МСК лучше было бы проводить предварительное освечивание 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 воздействий) чрескожно на область сердца экспериментальных крыс Вистар и системное введение аутологичных МСК, полученных культивированием клеток костного мозга, повышает пролиферативную активность клеток стромы, полнокровие мышцы сердца, усиливает ангиогенез, активизирует процессы репаративной регенерации миокарда [45]. Накопленные в настоящее время данные актуализируют научные исследования по выявлению специфических механизмов влияния НИЛИ на скорость миграции, пролиферативную активность и дифференцировку стволовых клеток, повышение физиологической устойчивости и жизнеспособности стволовых клеток при их трансплантации, индукцию выработки факторов роста, что позволит в полной мере использовать регенераторный потенциал лазерного излучения [46].

Заключение

Результаты предварительного изучения возможного влияния импульсного НИЛИ инфракрасного (904 нм) и красного (635 нм) спектров, 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 наблюдалось небольшое превышение количества клеток относительно контроля, лучший эффект после освечивания инфракрасным (904 нм) импульсным НИЛИ в режиме многочастотной модуляции Лазмик [8]. Эффект проявлялся в наибольшей степени в период с 1-го по 3-й день культивирования.

Необходимо проведение дополнительных исследований для оптимизации параметров воздействия (длина волны, мощность, время и пр.) с возможным расширением методики с освечиванием МСК не только предварительно, в культуре, но также после имплантации *in vivo*.

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов:

Концепция, дизайн и редактирование: С.М., Д.К.

Сбор и обработка материала, статистическая обработка данных: С.М., Д.К., Е.А., С.В., О.К.

Написание текста: С.М.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Freshney R.I., Stacey G.N., Auerbach J.M.* Culture of human stem cells. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2007. 256 p.
2. *Соколова И.Б., Павличенко Н.Н.* Механизмы воздействия экзогенных мезенхимных стволовых клеток на ишемизированную ткань при сердечно-сосудистых заболеваниях. Цитология. 2010; 52 (11): 911—7.
3. *Friedenstein A.J., Gorskaja J.F., Kulagina N.N.* Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. Exp. Hematol. 1976; 4 (5): 267—74.
4. *Шахбазов А.В., Космачева С.М., Картель Н.А., Потапнев М.П.* Нейрогенная дифференцировка мезенхимных стволовых клеток: трансгенный подход. Цитология. 2010; 52 (4): 301—4.
5. *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): 4411—22.
6. *Kim S., Honmou O., Kato K.* Neural differentiation potential of peripheral blood- and bone-marrow-derived precursor cells. Brain Res. 2006; 1123 (1): 27—33.
7. *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): 65—9.
8. *Москвин С.В.* Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия». т. 2. М., Тверь: Триада; 2014. 896 с.
9. *Москвин С.В.* Подсчет дозы низкоинтенсивного лазерного излучения: необходимость или вред? Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2012; 6: 54—5.
10. *Hode L.* The DOSE: a minute to learn, a lifetime to master. In: World Association for Laser Therapy Conference. 27—30 September, Gold Coast; 2012: 50.
11. *Kushibiki T., Awazu K.* Blue laser irradiation enhances extracellular calcification of primary mesenchymal stem cells. Photomed. Laser Surg. 2009; 27 (3): 493—8.
12. *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; 2007: 5830—3.
13. *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; 2013: 4121—4.
14. *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 Med. Sci. 2005; 20 (3—4): 138—46.
15. *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 Surg. Med. 2008; 40 (10): 726—33.
16. *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): 172—81.
17. *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): 509—19.
18. *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): 2508—19.
19. *Kim H.K., Kim J.H., Abbas A.A. et al.* Red light of 647 nm enhances osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. Lasers Med. Sci. 2009; 24 (2): 214—22.
20. *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 Surg. Med. 2009; 41 (6): 463—9.
21. *Tuby H., Maltz L., Oron U.* Low-level laser irradiation (LLLI) promotes proliferation of mesenchymal and cardiac stem cells in culture. Lasers Surg. Med. 2007; 39 (4): 373—8.
22. *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. Laser Surg. 2009; 27 (2): 227—33.
23. *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): 423—30.
24. *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): 125—32.
25. *Kushibiki T., Hirasawa T., Okawa S., Ishihara M.* Blue laser irradiation generates intracellular reactive oxygen species in various types of cells. Photomed. Laser Surg. 2013; 31 (3): 95—104.

26. *Eduardo F.P., Bueno D.F., de Freitas P.M. et al.* Stem cell proliferation under low-intensity laser irradiation: a preliminary study. Lasers Surg. Med. 2008; 40 (6): 433—8.

27. *Чайлахян Р.К., Юсупов В.И., Свиридов А.П., Герасимов Ю.В., Тамбиев А.Х., Воробьева Н.Н., Куралесова А.И., Москвина И.Л., Баграташвили В.Н.* Акустическое и КВЧ-воздействия на стволовые стромальные клетки костного мозга in vitro. Биомедицинская радиоэлектроника. 2013; 2: 36—42.

28. *Москвин С.В.* Системный анализ эффективности управления биологическими системами низкоэнергетическим лазерным излучением: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Тула; 2008. 38 с.

29. *Осипенко М.А., Жерелова О.М., Петрова П.П. и др.* Влияние ионов свободного кальция на пролиферативную активность и жизнеспособность эмбриональных стволовых клеток. Доклады Академии наук. 2007; 412 (1): 123—5.

30. *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. J. Stem Cells Regen. Med. 2014; 10 (1): 14—26.

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): 1113—7.

32. *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): 645—53.

33. *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. Laser Surg. 2010; 28 (Suppl. 1): S157—65.

34. *Hashmi J.T., Huang Y.Y., Osmani B.Z. et al.* Role of low-level laser therapy in neurorehabilitation. PMR. 2010; 2 (12, Suppl. 2): S292—305.

35. *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): 466—73.

36. *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): 334—6.

37. *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 Surg. Med. 2001; 28: 355—64.

38. *Lin F., Josephs S.F., Alexandrescu D.T. et al.* Lasers, stem cells, and COPD. J. Transl. Med. 2010; 8 (16): http://www.translational-medicine.com/content/8/1/16

39. *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): 149—54.

40. *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): 149—54.

41. *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.

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): 401—9.

43. *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): 355—60.

44. *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): 277—81.

45. *Поповкина О.Е.* Инфракрасное лазерное излучение и кардиомиобласты в лечении хронической сердечной недостаточности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Обнинск; 2013. 18 с.

46. *Кончугова Т.В., Орехова Э.М., Кульчицкая Д.Б.* Основные достижения и перспективы развития аппаратной физиотерапии. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2013; 1: 18—22.

Поступила 11.06.2014