

ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ГЕЛИЙ-НЕОНОВОГО ЛАЗЕРА НА СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК
ЛИМБАЛЬНОЙ ЗОНЫ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

С. Ю. КОПАЕВ*, В.Г. КОПАЕВА*, И.Н. САБУРИНА**,**, С.А. БОРЗЕНОК*

*Центр фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем
ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава,
Бескудниковский бульвар, 59А, Москва, Россия, 127486

**ФГБНУ «НИИ общей патологии и патологической физиологии» РАМН,
ул. Балтийская, 8, Москва, Россия, 125315

***Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская Академия последипломного образования,
ул. Баррикадная, 2/1, Москва, Россия, 123995

Аннотация. В настоящее время гелий-неоновый лазер широко применяется в терапии дистрофических, воспалительных и сосудистых заболеваний глаза. Установлено, что при взаимодействии данного излучения с различными тканями в результате сложных фотохимических процессов проявляются противовоспалительный, десенсибилизирующий, рассасывающий эффекты, а также наблюдается стимулирующее влияние на процессы репарации и трофики. Однако, эти наблюдения касаются использования лазера при наружном облучении, когда свет идет через воздух и склеру или через роговицу. Исследование влияния эндолазерного прямого воздействия световода в полости глаза, где свет действует непосредственно на эпителиальные или лимбальные клетки не проводилось из-за объективных причин (сложность проведения таких исследований непосредственно на больных). В настоящее время нет данных о влиянии гелий-неонового лазера на лимбальную зону глазного яблока, обогащенную эндогенными стволовыми и прогениторными клетками, за счёт которых, как известно, происходит репарация повреждённых тканей глаза (как переднего, так и заднего отрезка) при различных повреждениях. Клеточные культуры, выращиваемые *in vitro*, свободные от влияний систем организма, привлекают исследователей как уникальная модель для изучения поведения клеток в норме, а также в ответ на внешние или внутренние факторы. В настоящее время научились получать и культивировать сложные культуры клеток, в том числе тканей глаза человека. Они представляют собой генетически однородную популяцию клеток, растущих в постоянных условиях. На культуре клеток можно изучать жизнеспособность и морфологию клеток, их ультраструктуру и различные молекулярно-биологические характеристики, и подбирать оптимальные условия лазерного воздействия, не повреждающие клетки. В настоящей работе мы изучали влияние низкоэнергетического гелий-неонового лазерного облучения (632 нм) на лимбальные стволовые клетки. Проведенные *in vitro* исследования показали, что использование низкоэнергетического гелий-неонового лазерного облучения (632 нм) оказывает положительное действие на монослой клеток культуры лимбальных стволовых клеток. Отсутствие изменения клеточного фенотипа и высокая пролиферативная активность, указывают на стимулирующее действие исследуемых излучений на стволовые и прогениторные клетки, приводящее в результате активации восстановления и снижению патологических изменений как на клеточном, так и органно-тканевом уровнях.

Ключевые слова: лазер, лимбус, стромальные клетки, регенерация.

EFFECT OF HELIUM-NEON LASER ON THE LIMBAL ZONE CELLS OF HUMAN EYE

S.Y. KOPAEV*, V.G. KOPAEVA*, I.N. SABURINA**,**, S.A. BORZENOK*

*Center of fundamental and applied biomedical problems of the Interbranch Scientific and Technical Complex "Eye Microsurgery" named after. Acad. S. N. Fedorova", Beskudnikovsky Boulevard, 59A, Moscow, Russia, 127486

**Research Institute of General pathology and pathophysiology of RAMS,
the Baltic St., 8, Moscow, Russia, 125315

***Russian Medical Academy of postgraduate education, Barrikadnaya str., 2/1, Moscow, Russia, 123995

Abstract. Currently, a helium-neon laser is widely used in the treatment of degenerative, inflammatory and vascular diseases of the eye. It was found that the interaction of this radiation with different tissues, as a result of complex photochemical processes, is manifested by anti-inflammatory, desensitizing, resolving effects. Also, there is a stimulating effect on the processes of reparation and trophism. However, these observations relate to the use of laser for external irradiation, when the light goes through the air and the sclera or through the cornea. Research of the effect of endo-laser direct exposure of the fiber in the cavity of the eye, where light acts

Библиографическая ссылка:

Копаяев С.Ю., Копаяева В.Г., Сабурин И.Н., Борзенок С.А. Влияние излучения гелий-неонового лазера на состояние клеток лимбальной зоны глаза человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 2-16. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5127.pdf> (дата обращения: 26.03.2015).

directly on epithelial or limbal cells, wasn't carry out due to objective reasons (difficulty of conducting such research directly to patients). There is currently no data on the effect of helium-neon laser on the limbal area of the eyeball, enriched endogenous stem and progenitor cells. They help repair damaged tissues in the eye (anterior and posterior segment) at various injuries. Cell culture, grown *in vitro*, are free from the influences of body systems, attract researchers as a unique model to study the behavior of cells in normal but also in response to external or internal factors. Currently, scientists have learned how to obtain and difficult to cultivate a culture of cells, including tissues of the human eye. They are genetically homogeneous population of cells growing in constant conditions. The viability and morphology of cells and their ultra-structure and various molecular biological characteristics can be studied in cell culture, and to find the optimal conditions of laser irradiation, does not damage the cells. In the present work the authors studied the effect of low-energy helium-neon laser irradiation (632 nm) on limbal stem cells. Conducted *in vitro* studies have shown that the use of low-energy helium-neon laser irradiation (632 nm) has a positive effect on the monolayer culture of limbal stem cells. Absence of changes in cell phenotype and high proliferative activity indicate a stimulating effect of the investigated radiation on stem and progenitor cells, leading to the result of the activation of recovery and reduction of pathological changes at the cellular and organ and tissue levels.

Key words: laser, limbus, stromal cells, regeneration.

В настоящее время гелий-неоновый лазер (ГН) широко применяется в терапии [1,3], дистрофических, воспалительных и сосудистых заболеваний глаза. Установлено, что при взаимодействии данного излучения с различными тканями в результате сложных фотохимических процессов проявляются противовоспалительный, десенсибилизирующий, рассасывающий эффекты, а также наблюдается стимулирующее влияние на процессы репарации и трофики. Однако, эти наблюдения касаются использования лазера при наружном облучении, когда свет идет через воздух и склеру или через роговицу. Исследование влияния эндолазерного прямого воздействия световода в полости глаза, где свет действует непосредственно на эпителиальные или лимбальные клетки не проводилось из-за объективных причин (сложность проведения таких исследований непосредственно на больных). Не известно, возникает ли при этом фототоксический эффект, в какой мере и в каких внутриглазных структурах он может проявиться? В настоящее время ни в отечественной, ни в зарубежной литературе нет данных о влиянии гелий-неонового лазера на лимбальную зону глазного яблока, обогащенную эндогенными стволовыми и прогениторными клетками, за счет которых, как известно, происходит репарация поврежденных тканей глаза (как переднего, так и заднего отрезка) при различных повреждениях. Клеточные культуры, выращиваемые *in vitro*, свободные от влияний систем организма, привлекают исследователей как уникальная модель для изучения поведения клеток в норме, а также в ответ на внешние или внутренние факторы. В настоящее время научились получать и культивировать сложные культуры клеток, в том числе тканей глаза человека. Они представляют собой генетически однородную популяцию клеток, растущих в постоянных условиях. На культуре клеток можно изучать жизнеспособность и морфологию клеток, их ультраструктуру и различные молекулярно-биологические характеристики, и подбирать оптимальные условия лазерного воздействия, не повреждающие клетки [2,4-6].

Цель исследования – исследовать влияние излучения низкоинтенсивного гелий-неонового лазера 632 нм на стромальные клетки лимбальной зоны – части глаза, отвечающей за физиологическую и репаративную регенерацию [7-10].

Материалы и методы исследования. Первичные культуры стромальных клеток лимбальной зоны глазного яблока человека были получены из постмортального материала, предоставленного криобанком центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н.Федорова Минздрава РФ. Глазные яблоки освобождали от окружающих тканей и промывали в 70% спирте и в холодном растворе Хэнкса с антибиотиками в стандартной концентрации – пенициллин 100 Ед/мл, стрептомицин 100 мкг/мл. Промытые глазные яблоки надрезали по границе роговицы и лимбальной зоны, выделяли кусочки лимба и помещали их в среду Борзенков-Мороз. Изолированные кусочки лимба переносили в 100 мм чашки Петри в раствор Хэнкса, тщательно отмывали, механически измельчали и ферментативнодиссоциировали в 0,25%-ном растворе трипсина. После ферментативной обработки клетки центрифугировали и высевали в пластиковые чашки Петри в высокой плотности (100 000 кл./мл) в среду DMEM/F12 с добавлением глутамина (2 мМ/L), гентамицина (50 мкг/мл), и 10%-ной сыворотки крови плодов коровы. Культивировали в CO₂-инкубаторе (37°C, 5%CO₂) со сменой среды каждые 2-3 дня. Культивируемые клетки ежедневно просматривали под инвертированным микроскопом SKX41 (Olympus, Япония) и оценивали фенотип клеток и степень конfluентности.

После достижения первичными культурами конfluентного состояния, клетки снимали с культуральных чашек с помощью растворов версена и 0,25%-ного трипсина, суспензию клеток осаждали методом центрифугирования (7 мин, $g=100$ см²/с), часть клеток высевали на 96-луночный планшет (Corning-Costar) в плотности 10 000 кл./лунку, который разделяли на три группы по 32 лунки. Оставшиеся клетки использовали для иммунофенотипического анализа клеточных культур. Через 2 сут клетки подвергали

Библиографическая ссылка:

Копаяев С.Ю., Копаяева В.Г., Сабурин И.Н., Борзенков С.А. Влияние излучения гелий-неонового лазера на состояние клеток лимбальной зоны глаза человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 2-16. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5127.pdf> (дата обращения: 26.03.2015).

облучению лазером по схеме: 1) 32 лунки – 3 мин; 2) 32 лунки – 10 мин; 3) 32 лунки – не облучали (контроль). После облучения планшеты помещали на 1 сутки в термостатируемую камеру прибора Cell-IQ (ChipMan Technologies, Финляндия) для изучения клеток в области облучения. Через 1 сут. клетки снимали с лунок планшетов с помощью растворов версена и 0,25%-ного трипсина. Считали, что это культуры клеток первого пассажа – P1. Часть клеток оставляли на лунках планшетов в плотности 10 000 кл./лунку и продолжали культивировать в термостатируемой камере прибора Cell-IQ в стандартных условиях (37⁰C; 5% CO₂) в течение 3 суток для изучения фенотипа и пролиферации исследуемых клеток. Оставшиеся клетки пассировали на чаши Петри и культивировали в CO₂ инкубаторе в стандартных условиях в течение 3 суток. Через 3 суток все экспериментальные и контрольные группы клеток, считали, что это культуры клеток второго пассажа – P2, снимали с культурального пластика, подсчитывали и исследовали методом проточной цитофлуориметрии. Время облучения – 3 мин и 10 мин. были выбраны, исходя из интервала времени, которое используется в клинике, от 3 до 10-15 мин.

Цейтраферную фоторегистрацию клеточных культур осуществляли на приборе Cell-IQ с покадровым интервалом 20 мин в течение 1 суток непосредственно после облучения и с покадровым интервалом 30 мин. в течение 3 суток после пассирования контрольной и экспериментальных (после 3 мин. и 10 мин. облучения) культур. Цейтраферную фоторегистрацию осуществляли с помощью программного обеспечения Cell-IQ Imagen. Фотоматериалы анализировали с помощью программного обеспечения Cell-IQ Analyzer. Дополнительно визуализацию морфологии клеток осуществляли с помощью светового инвертированного микроскопа с фазовым контрастом СКХ41 (Olympus, Япония), фоторегистрацию производили перед облучением, через 1 час, 1 сутки и 4 суток после облучения цифровой камерой Invenio3S (Olympus, Япония) в программе DeltaPix (Olympus, Япония).

Количество жизнеспособных клеток подсчитывали с помощью автоматического счетчика клеток CellCounter (Invitrogen, США) перед пассированием на культуральные планшеты (0-ой пассаж), через 1 сутки после облучения перед пассированием (1-ый пассаж) и через 4 суток после облучения (2-ой пассаж) перед иммунофенотипическим анализами. Для подсчета перед центрифугированием суспензии снятых с культурального пластика клеток из общего объема суспензии отбирали 10 мкл, которые смешивали с 10мкл 4%-ого раствора трипанового синего, способного окрашивать нежизнеспособные клетки. Смесь суспензия-краситель наносили на рекомендованное производителем стекло-слайд, помещали в счетчик клеток. Прибор анализировал количество и диаметр жизнеспособных и нежизнеспособных клеток, представляя результаты в цифровом и графическом видах.

Исследование иммунофенотипа культур клеток проводили с помощью проточной цитофлуориметрии. Анализировали экспрессию следующих поверхностных белков: CD14, CD45, CD34, CD90 и CD105 в первичных культурах клеток 0-ого пассажа и 2-ого пассажа в контрольной и экспериментальных группах (через 3 суток после 3 мин и 10 мин облучения). Для проведения анализа культивированные клетки снимали с чашек Петри с использованием растворов версена и 0,25%-ного трипсина, центрифугировали (7мин, g=100см²/с), к полученному осадку добавляли 700 мкл раствора фосфатно-солевого буфера (pH=7,4) с добавлением 1% эмбриональной сыворотки крови плодов коровы и аликвотировали по 100 мкл. К каждой пробе согласно рекомендованным производителями протоколам добавляли антитела, конъюгированные с флуоресцентными метками FITC *fluoresceinisothiocyanate*, PE – *phycoerythrin*, PC5 *Phycoerythrin-Cyanin 5.1*, ECD – *Phycoerythrin-TexasRed-X* (BeckmanCoulter, США) и инкубировали 15 мин. при комнатной температуре в темноте. После этого пробы центрифугировали (5 мин, 400g), осадок ресуспендировали в 1 мл раствора фосфатно-солевого буфера (pH=7,4) с добавлением 1% эмбриональной сыворотки крови плодов коровы и переносили в пробирки для проточного цитофлуориметра. Результаты оценивали на проточном цитофлуориметре FC500 (BeckmanCoulter, США) с помощью программы CXP Software.

Результаты и их обсуждение. Первичные культуры *стромальных клеток лимбальной зоны* (СКЛ) были гетерогенными и содержали многие типы клеток: стромальные, фибробластоподобные, мезенхимоподобные и в небольшом количестве ангиогениторные клетки. При дальнейшем культивировании на полной ростовой среде в культуре возрастало количество стромальных фибробластоподобных клеток. Доля клеток СКЛ, экспрессирующих CD90 и CD105, маркеров, характерных для мезенхимных клеток составила 99-100% и оставалась неизменной при дальнейшем культивировании. Доля клеток, экспрессирующих CD 34, CD 14, CD 45 ко второму пассажу уменьшилась до 1-2%. Фибробластоподобный фенотип СКЛ сохранялся в течение всего эксперимента, не изменяясь после 3мин и 10 мин воздействия He-Ne лазера.

Жизнеспособность клеток в 1 и 2 сериях опытов не изменялась и составляла от 97 до 100%. Это было подтверждено при подсчете с помощью автоматического счетчика клеток Cell Counter. Результаты исследования жизнеспособности клеточных культур СКЛ представлены на гистограммах на рис. 1.

Библиографическая ссылка:

Копаяев С.Ю., Копаяева В.Г., Сабурова И.Н., Борзенков С.А. Влияние излучения гелий-неонового лазера на состояние клеток лимбальной зоны глаза человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 2-16. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5127.pdf> (дата обращения: 26.03.2015).

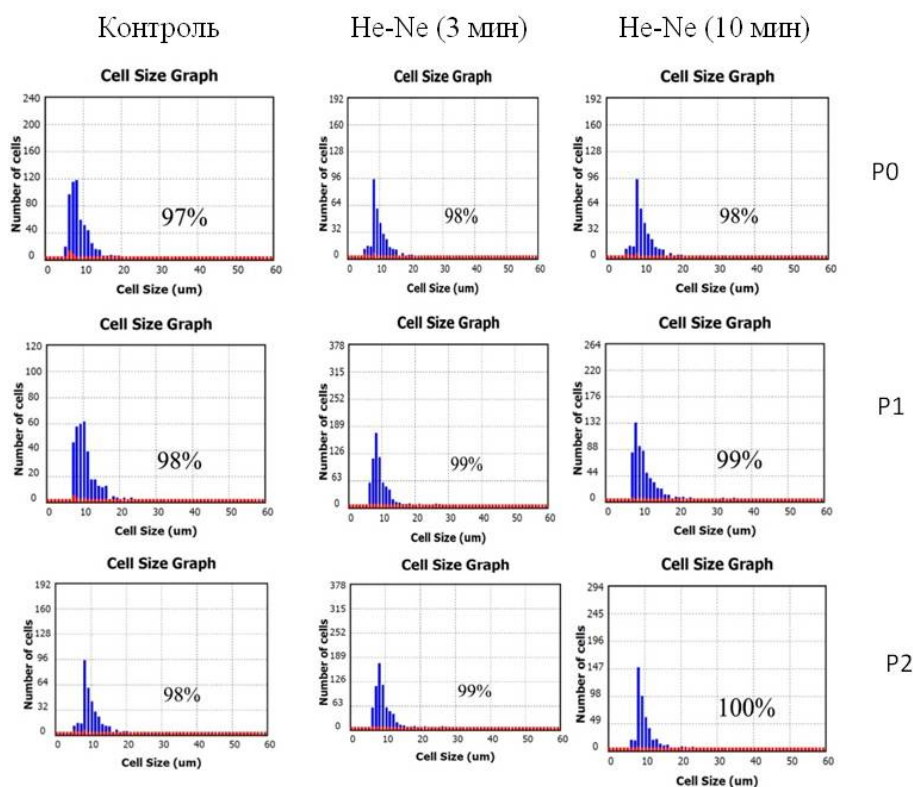


Рис. 1. Количественное распределение стромальных клеток лимбальной зоны по размеру и жизнеспособности

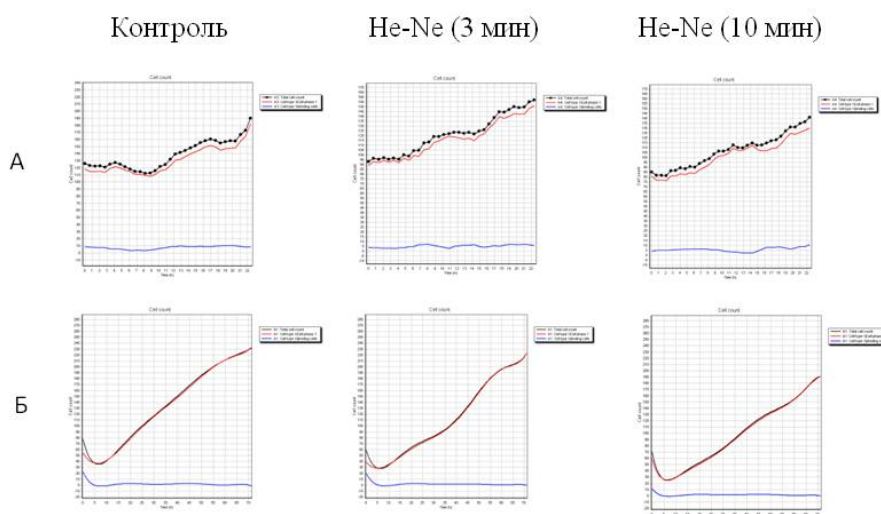


Рис. 2. Изменение количества СКЛ. Цейтраферный анализ на приборе Cell-IQ. А. Изменение количества клеток СКЛ в течение 1 сут после облучения клеточной культуры во второй серии опытов. Б. Изменение количества клеток в культуре СКЛ в течение 3 суток после облучения

Цейтраферный анализ количества клеток на приборе Cell-IQ показал, что после 3 мин и 10 мин воздействия ГН лазера пролиферация СКЛ увеличивается по сравнению с контролем. Результаты воздействия ГН лазера на пролиферативную активность культуры клеток СКЛ представлены в виде отдельных гистограмм на рис. 2 и на графике индекса пролиферации через 1 час, 1 сутки и 4 суток (рис. 3).

Через 1 час индекс пролиферации составлял 2,7 для контрольной группы и для клеточных культур после 3 мин облучения, 2,6 для клеточных культур после 10 мин облучения. Через 1 сутки индекс пролиферации в контроле остался на прежнем уровне – 2,7, поднялся в опытных группах после облучения до

Библиографическая ссылка:

Копаев С.Ю., Копалева В.Г., Сабурова И.Н., Борзенков С.А. Влияние излучения гелий-неонового лазера на состояние клеток лимбальной зоны глаза человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 2-16. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5127.pdf> (дата обращения: 26.03.2015).

3,3 и 3,2. Через 4 суток индекс пролиферации практически не изменился и остался на прежнем уровне для всех клеточных культур.

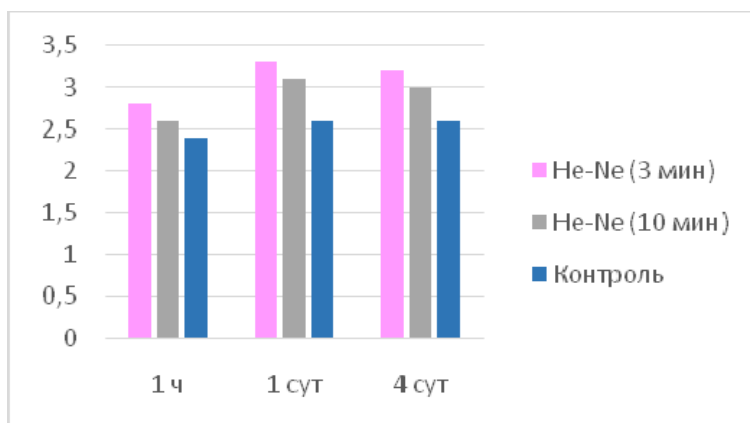


Рис. 3. Изменение индекса пролиферации в монослойной культуре клеток СКЛ после воздействия He-Ne лазера через 1 час, 1 и 4 суток

Анализ культуры стромальных клеток лимбальной зоны (СКЛ) методом проточной цитофлуориметрии, представленный в табл., показал, что при культивировании и пассировании СКЛ в контрольной культуре количество клеток, экспрессирующих CD90 и CD105 – маркеров мезенхимных стромальных клеток – не изменялось и составляло для CD90 – 99,8-99,9%, для CD105 – 99,5-99,9%. Долевое количество клеток, экспрессирующих такие маркеры, как CD14, CD45, CD34, изменяется следующим образом. В культуре СКЛ на нулевом пассаже (P0) по сравнению с клетками на втором пассаже (P2) доля CD34⁺ клеток уменьшилась с 4,7 до 1,8%, доля CD45⁺ клеток уменьшалась с 2,3 до 0,9%, CD14⁺ с 1,7 до 1%. Эти небольшие изменения связаны с уменьшением количества клеток гемопоэтического ряда за счет пассирования культуры. Тем самым достигается большая однородность и гомогенность клеточной культуры в сравнение с исходной популяцией выделенных клеток.

Таблица

Иммунофенотипирование культуры стромальных клеток лимбальной зоны

	CD14	CD45	CD34	CD90	CD105
Контроль (P0)	1,7±0,34%	2,3±0,45%	4,7±0,67%	99,8±2,35%	99,9±2,7%
Контроль (P2)	1,0±0,25%	0,9±0,35%	1,8±0,25 %	99,9±0,5%	99,5±0,7%
ГН лазер – 3 мин (P2)	0,8±0,25%	1,2±0,2%	2,2±0,35%	100±1,5%	99,7±1,75%
ГН лазер – 10 мин (P2)	1,1±0,45%	1,3±0,5%	1,9±0,5%	99,8±1,75%	99,8±2,1%

Проведенное исследование *in vitro* показало, что использование биостимулирующего излучения низкоинтенсивного ГН лазера 632 нм оказывает положительное влияние на монослойную культуру стромальных клеток лимбальной зоны глазного яблока. Отсутствие изменения фенотипа клеток, высокая пролиферативная активность свидетельствуют о стимулирующем действии исследуемого излучения на стволовые и прогениторные клетки и приводит к активации репаративных процессов, снижению патологических изменений, как на клеточном, так и на органно-тканевом уровнях.

Литература

1. Бехтерева Т.Л., Карташова Н.М., Кидалов В.Н., Натарова Э.В., Филатова И.В., Фудин Н.А., Хадарцев А.А., Чуб С.Г. Электромиостимуляция и лазерофорез биологически активных веществ в восстановительном периоде при психоэмоциональном стрессе после спортивной травмы // Вестник новых медицинских технологий. 2004. № 4. С. 103–105.
2. Журавлева Е.С., Сабурин И.Н., Борзенков С.А., Дога А.В., Кошелева Н.В., Качалина Г.Ф., Магарамов Д.А., Тонаева Х.Д. Экспериментальное исследование безопасности применения диодного лазера IrisMedical IQ 810 в клинике при лечении возрастной дегенерации макулы // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2011. № 3. С. 16–21.

Библиографическая ссылка:

Копяев С.Ю., Копяева В.Г., Сабурин И.Н., Борзенков С.А. Влияние излучения гелий-неонового лазера на состояние клеток лимбальной зоны глаза человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 2-16. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5127.pdf> (дата обращения: 26.03.2015).

3. Зилов В.Г., Хадарцев А.А., Корягин А.А., Бехтерева Т.Л., Вигдорчик В.И., Фудин Н.А., Карташова Н.М. Электролазерная миостимуляция и устройство для ее осуществления // Вестник новых медицинских технологий. 2004. № 3. С. 100–101.
4. Копаева В.Г., Копаев С.Ю. Обобщение 15 летнего опыта лазерной хирургии катаракты // Практическая медицина. Офтальмология. 2013. № 1-3 (70). С. 7–9.
5. Панков О.П. Лазеры и аэроионы в биомедицине. Материалы науч.тр. Калуга-Обнинск, 1997. С. 126–136.
6. Пешев Л.П. Клиническая лазерология: Практическое руководство для врачей. Саранск-Калуга, 2008. С. 21–46.
7. Сабурин И.Н., Колокольцова Т.Д., Копаев С.Ю., Борзенков С.А. Опыт выделения и культивирования клеток переднего эпителия роговицы // Патологическая физиология и экспериментальная медицина. 2014. №4. С. 120–126.
8. Фатюхина О.Е., Колокольцова Т.Д., Трошкова Г.П. Оценка безопасности метода лазерно-индуцированной флуоресценции на модели культуры диплоидных клеток человека // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2007. № 4. С. 203–207.
9. Conlan M.J., Rapley J.W., Cobb C.M. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review // Journal of clinical periodontology. 1996. V. 23, № 5. P. 492–496.
10. Hu W.P., Wang J.J., Yu C.L., Lan C.C., Chen G.S., Yu H.S. Helium–Neon Laser Irradiation Stimulates Cell Proliferation through Photostimulatory Effects in Mitochondria // Journal of Investigative Dermatology. 2007. V. 127, № 8. P. 2048–2057.

References

1. Bekhtereva TL, Kartashova NM, Kidalov VN, Natarova EV, Filatova IV, Fudin NA, Khadartsev AA, Chub SG. Elektromiostimulyatsiya i lazeroforez biologicheskii aktivnykh veshchestv v vosstanovitel'nom periode pri psikhoemotsional'nom stresse posle sportivnoy travmy. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2004;4:103-5. Russian.
2. Zhuravleva ES, Saburina IN, Borzenok SA, Doga AV, Kosheleva NV, Kachalina GF, Magaramov DA, Tonaeva KhD. Eksperimental'noe issledovanie bezopasnosti primeneniya diodnogo lazera IrisMedical IQ 810 v klinike pri lechenii vozrastnoy degeneratsii makuly. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 2011;3:16-21. Russian.
3. Zilov VG, Khadartsev AA, Koryagin AA, Bekhtereva TL, Vigdorichik VI, Fudin NA, Kartashova NM. Elektrolazernaya miostimulyatsiya i ustroystvo dlya ee osushchestvleniya. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2004;3:100-1. Russian.
4. Kopayeva VG, Kopayev SYu. Obobshchenie 15 letnego opyta lazernoy khirurgii katarakty. Prakticheskaya meditsina. Oftal'mologiya. 2013;1-3(70):7-9. Russian.
5. Pankov OP. Lazery i aéroiony v biomeditsine. Materialy nauch.tr. Kaluga-Obninsk; 1997. Russian.
6. Peshev LP. Klinicheskaya lazerologiya: Prakticheskoe rukovodstvo dlya vrachey. Saransk-Kaluga; 2008. Russian.
7. Saburina IN, Kolokol'tsova TD, Kopayev SYu, Borzenok SA. Opyt vydeleniya i kul'tivirovaniya kletok perednego epiteliya rogovitsy. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya meditsina. 2014;4:120-6. Russian.
8. Fatyukhina OE, Kolokol'tsova TD, Troshkova GP. Otsenka bezopasnosti metoda lazerno-indutsirovannoy fluorestsentsii na modeli kul'tury diploidnykh kletok cheloveka. Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine. 2007;4:203-7. Russian.
9. Conlan MJ, Rapley JW, Cobb CM. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review. Journal of clinical periodontology. 1996;23(5):492-6.
10. Hu WP, Wang JJ, Yu CL, Lan CC, Chen GS, Yu HS. Helium–Neon Laser Irradiation Stimulates Cell Proliferation through Photostimulatory Effects in Mitochondria. Journal of Investigative Dermatology. 2007;127(8):2048-57.

Библиографическая ссылка:

Копаев С.Ю., Копаева В.Г., Сабурин И.Н., Борзенков С.А. Влияние излучения гелий-неонового лазера на состояние клеток лимбальной зоны глаза человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 2-16. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5127.pdf> (дата обращения: 26.03.2015).