

LASER PARTNER



Oficiální orgán
Společnosti pro využití
laseru v medicíně CLS JEP



Official paper
of the Czech Society for
the Use of Laser in Medicine



Vydáváno s oficiální odbornou podporou EMLA



Edited under official scientific support of EMLA

www.laserpartner.cz
On-line česká verze: ISSN 1213-1156

www.laserpartner.org
On-line English version: ISSN 1213-3027

Clinixperience - všechny ročníky
2003

64. Poškozuje nízkovýkonová laserová terapie DNA? (7.4.2003)

Poškozuje nízkovýkonová laserová terapie DNA?

K. O. Greulich, IMB Jena, Německo

E-mail: kog@imb-jena.de

Společně uveřejněno v Laser Partner a Laser World (www.laser.nu)

Abstrakt

Nízkovýkonová laserová terapie (LLLT) prokázala svůj přínos v celé řadě terapeutických aplikací. Objevily se však určité obavy, pokud jde o možnosti poškození DNA. Je vůbec možné, že by LLLT pacientovi prospívala pouze na první pohled, ale poškozováním DNA by ozařování mohlo vést ke zhoršení stavu až ke zvýšenému riziku rakoviny?

Jaká jsou fakta? LLLT se obvykle provádí s červeným (630 nm) nebo blízkým infračerveným (830 nm) laserovým světlem. Typické akumulované dávky energie v ozařované oblasti jsou v řádu několika Joulů na čtvereční centimetr. Jaký účinek může takové ozařování mít na DNA? Většina studií o účinku záření na DNA je prováděna s ionizujícím zářením (alfa, beta, gama paprsky) nebo s UV světlem. V těchto případech může jít o dramatické poškození DNA, ačkoliv tyto studie odhalily u jinak zdravých lidských buněk překvapivě silnou reparační kapacitu DNA. A i když je celková integrita buněčného genomu vážně zhoršená, poškozená DNA může být obnovena bez přímo zjizvitelných následků (ačkoliv dlouhodobé mutační poškození nelze zcela vyloučit).

Jednou účinnou a srovnatelně jednoduchou technikou ke zkoumání poškozené DNA, která v zásadě vyžaduje pouze fluorescenční mikroskop a gelovou elektroforézu, je Single Cell Gel Electrophoresis (SCGE). Buňky jsou uloženy do elektroforézního gelu, jejich buněčná jádra se chemicky perforují a pak se na ně aplikuje elektrické pole (2-5). Jelikož DNA má za vhodných fyziologických podmínek negativní náboj, migruje ve směru k elektricky pozitivní straně gelu. V daném čase se malé zlomky DNA přesunují na relativně velkou vzdálenost (10 - 20 mikronů), velké molekuly se pohybují na adekvátně kratší vzdálenost. Velké molekuly DNA nemohou opustit buněčné jádro. Když je DNA buňky nepoškozená, zůstává v jádru, což je viditelné pod mikroskopem jako koule, případně dvourozměrně jako kruh, jestliže je obarvíme fluorescenčním barvivem. Když je však část DNA poškozená, migruje z jádra. Po obarvení se pak jeví taková buňka jako kometa s jasnou hlavou a ohonem, jehož délka (nebo při použití více kvantitativního parametru jeho tail moment) je měřítkem stupně poškození. Proto se metoda SCGE nazývá také kvantitativním rozbořením typu COMET.

Při COMET rozboru bylo světlem vyvolané poškození DNA zkoumáno v pásmu vlnových délek od 308 nm (UV) do cca 450 nm (modrá) (6). Zatímco na vlnové délce 308 nm (UV) postačovalo 0,0001 J/cm² na vyvolání zjizvitelného poškození DNA, u vlnové délky 450 nm už bylo potřeba 1 J/cm². Poškození klesalo exponenciálně s vlnovou délkou. Jestliže to vztáhneme k vlnovým délkám, užívaným v laserové terapii, lze odhadnout, že by bylo zapotřebí tisícinásobných dávek u 630 nm a milionkrát vyšších dávek u 830 nm, abychom navodili takové poškození DNA, které by bylo zjizvitelné rozbohem COMET. Tyto účinky jsou však pravděpodobně ještě nižší, protože v odkazu č. 6 bylo použito pulsního laseru, který obvykle vyvolává větší poškození než dosáhne odpovídající laser s kontinuálním vyzařováním.

Stále ještě existuje možnost, že rozbor COMET není dostatečně citlivý ke zjištění menších avšak již škodlivých poškození DNA. Můžeme však srovnávat množství záření s intenzitou záření slunečního. Jasný sluneční svit dává na plochu výkon (= intenzita) 0,1345 W/cm², což dává při ozáření po dobu pouze 10 sekund dávku energie na plochu 1,345 J/cm², což je srovnatelné s dávkami používanými v LLLT, vztaženo na celý spektrální rozsah slunečního světla. Jestliže odfiltrujeme pás vlnových délek +/- 10 nm, potřebujeme k tomu, abychom dostali pár Joulů energie na čtvereční centimetr, několik minut slunečního záření. Takové ozáření se obecně nepovažuje za schopné způsobit chorobu. Jelikož se pohybuje v červené oblasti spektra, které, jak už bylo uvedeno, poškozuje DNA méně než běžné sluneční světlo, nacházíme se na bezpečné půdě, když si uvědomíme, že dávky na plochu, jaké se používají při laserové terapii, se rovnají škodlivým účinkům, které má na DNA několikaminutové opalování na slunci. A jestli by takové ozařování vedlo k jakémukoliv poškození DNA, dojde k okamžité nápravě, jinak by i běžné krátké opalování na slunci způsobilo mutace a vedlo k rakovině.

Znamená to, že LLLT nemá vůbec žádný účinek, že vše je jen placebo? Zde nám opět pomáhají najít pravdu experimenty s kvantitativním rozbohem COMET: jestliže ozáříme buňky bakterie *Escherichia coli* (7) nebo lidských lymfocytů (8) červeným (He-Ne) laserovým světlem (0,054 - 0,27 J/cm²) a pak se pokusíme poškodit DNA UV zářením, je DNA fragmentace mnohem nižší než bez tohoto před-ozáření červeným světlem. Vysvětlení tohoto účinku spočívá v tom, že před-ozáření aktivuje enzymy reparačního mechanismu DNA, které okamžitě napravují eventuální poškození v důsledku UV ozáření. Jelikož tento účinek funguje podobně u tak rozdílných buněk, jako jsou bakteriální buňky nebo buňky savců, můžeme učinit závěr, že jde o vývojový ochranný mechanismus. Navíc tyto experimenty naznačují, že ozařování nízkovýkonovým laserem může mít skutečně příznivé účinky.

Závěrem lze říci, že experimenty s kvantitativními rozbohy COMET odhalují možné terapeutické účinky LLLT, ale nenaznačují nebezpečí poškození DNA.

Reference

1. Simunovic et al.: Lasers in Medicine and Dentistry, EMLA 2000
2. O. Ostling, K. J. Johanson: Microelectrophoretic study of radiation induced DNA damages in individual mammalian cells, 1984, Bioch. Bioph. Res. Comm. 123, 291 - 292
3. N. Singh, M. McCoy, R. Tice, E. Schneider: A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells, 1988, Exp. Cell. Res. 175, 184 - 191
4. P. L. Olive, D. Wlodek, J. P. Banath: DNA double strand breaks measured in individual cells subjected to gel electrophoresis. 1991, Cancer Res. 51, 4671 - 4676
5. A. Rapp, C. Bock, H. Dittmar, K. O. Greulich: 2000 J. Photochem. Photobiol. in press UV-A breakage sensitivity of human chromosomes measured by COMET-FISH depends on gene density and is not dependent on chromosome size
6. A. de With, K. O. Greulich: Wavelength dependence of laser induced DNA damages in lymphocytes observed by single cell gel electrophoresis, 1995, J. Photochem. Photobiol. B. 30, 71 - 76
7. R. Kohli, P. K. Gupta, A. Dube: He-Ne laser pre-irradiation induces protection against UV-C radiation in wild type *E. coli* strain K12B1157, Rad. Res. 153, 181 - 185
8. A. Dube, C. Bock, E. Bauer, R. Kohli, P. K. Gupta, K. O. Greulich: HeNe laser protects B-lymphoblasts from UV induced DNA damage, 2000, Rad. Env. 2000, Rad. Env. Bioph.



Sponzorováno / Sponsored by: MediCom