

# **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

## **Partener 1**

*Universitatea de Medicina si Farmacie "Carol Davila"*

*Biofizica*

**Contract 42139/20.09.2008 – REUMALAS**

**DEZVOLTAREA SI PERFECTIONAREA TERAPIEI LASER ANTI-INFLAMATORII PRIN  
STUDIUL ACTIUNII RADIATIEI LASER LA NIVEL MOLECULAR SI CELULAR SI  
STANDARDIZAREA METODEI DE TRATAMENT**

## **ETAPA DE EXECUTIE NR. 1**

**"Evaluarea informațiilor fundamentale și aplicate privind  
interactia radiatiei laser cu tesuturile"**

**1.2. Colectarea si evaluarea datelor existente privitoare la  
efectele celulare /subcelulare /moleculare ale radiatiilor laser  
de mica putere din domeniul 600-1000nm, de uz terapeutic.**

Echipa:

CS.I. Dr. Eva Katona

Asist. Dr. Magdalena Mocanu

Asist.Drd. Adrian Iftime

MD rezident Andrei Bobocea

Student Livia Vlaicu

○ Cuprins	2
○ Obiectivele generale	3
○ Obiectivele etapei de executie	3
○ Rezumatul etapei	4
○ Descrierea stiintifica si tehnica 1.2.	6
○ Anexe	11
○ Concluzii	12
○ Bibliografie 1.2	14

\* pentru Programul 4 "Parteneriate in domeniile prioritare" se va utiliza modelul din Anexa 1

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

### **Obiective generale ale proiectului**

Obiectivul specific al proiectului este **dezvoltarea si standardizarea terapiei laser anti-inflamatorii existente in Romania.**

Obiectivele generale ale prezentului proiect sunt:

**OG1. intelegerea fenomenelor fundamentale** implicate in interactia dintre fasciculul laser si biotesuturi si consecintele acestora la nivel celular/molecular,

**OG2. dezvoltarea unui parteneriat multidisciplinar competitiv** in domeniul prioritar al sanatatii,

**OG3. Optimizarea terapiilor** utilizate in tratamentul anti-inflamator pentru **eficientizarea serviciilor de sanatate** in acest domeniu.

**OG4. incercarea unei metode de tratament nouate mondiale,** folosind proprietatile exceptionale ale pulsurilor laser ultracurte.

### **Obiectivele etapei de executie**

Etapa 1, actuala, a proiectului abordeaza OG1, OG2, si tinteste in mod specific **evaluarea informațiilor fundamentale și aplicate privind interactia radiatiei laser cu tesuturile.** In acest context obiectivul partenerului 1 al proiectului in aceasta etapa a fost **colectarea si evaluarea datelor existente privitoare la efectele celulare /subcelulare /moleculare ale radiatiilor laser de mica putere din domeniul 600-1000nm, de uz terapeutic** tintand aducerea la zi a informatiilor privind datele publicate in literatura stiintifica, analiza si corelarea acestora cu date proprii obtinute in cadrul unor proiecte anterioare in cadrul unui studiu monografic, precum si **studiul algoritmilor de prelucrare a imaginilor,** in mod particular identificarea algoritmilor (sub)optimali adecvati prelucrării imaginilor de claritate scazuta, cum sunt cele obtinute prin termografie, punand bazele obtinerii unor informatii obiective in vederea evaluarii efectivitatii protocoalelor de terapie laser anti-inflamatorii existente, conditie indispensabila realizarii OG3.

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

### **Rezumatul etapei**

#### **1.2. Colectarea si evaluarea datelor existente privitoare la efectele celulare /subcelulare /moleculare ale radiatiilor laser de mica putere din domeniul 600-1000nm, de uz terapeutic.**

Dupa aproape 40 de ani de dezbateri si controverse, terapia laser de joasa putere (TLJP, LPLT), cunoscuta si ca LLLT (low level laser therapy) este, la ora actuala, utilizata in intreaga lume. Se apeleaza la aceasta metoda terapeutică mai ales atunci cand se urmareste accelerarea proceselor de regenerare tisulară, inhibarea reactiilor inflamatorii locale sau atenuarea durerii. Cu toate acestea LLLT nu este inclusa printre ramurile medicinei bazate pe dovezi. Motivul este lipsa unor scheme de tratament fundamentate stiintific, bazate pe studii sistematice complete: studii fundamentale privind mecanismele moleculare/celulare implicate in efectele benefice urmarite si dependenta acestora de parametrii de expunere (lungimea de unda, doza, protocol de expunere), studii pe animale planificate in consecinta si studii clinice privind dependenta efectivitatii de durata si ritmicitatea tratamentului, lungimea de unda optima, doza, locul de aplicare.

In cadrul etapei prezente a proiectului am colectat si evaluat date publicate privind mecanismele moleculare/subcelulare/celulare implicate in efectele radiatiilor laser de mica putere din domeniul 600-1000nm, de uz terapeutic.

Am constatat cresterea numarului de studii fundamentale privind dependenta actiunii benefice a radiatiilor laser din domeniul rosu-infrarosu de putere mica de parametri de iradiere (lungime de unda, doza, durata si regim de iradiere), fara insa posibilitatea indicarii unor parametri optimi. Dependenta raspunsului celular la iradiere de starea redox si energetica a celulei iradiata, confirmata in studii pe celule variate, ar putea fi una din cauze. De asemenea, datele arata ca majoritatea efectelor celulare descrise apar indiferent de gradul de coerenta a radiatiilor si doar efectivitatea creste in cazul iradierii laser.

In celulele mamaliene fotoacceptorul principal identificat al radiatiilor din domeniul rosu-infrarosu apropiat este enzima terminala a lantului respirator din mitocondrii, citocrom C oxidaza (CCO). Desi rolul de generator si traducator de semnal al acestei enzime ramane inca incomplet elucidata, se descriu din ce in ce mai multe elemente ale cascadei de mecanisme moleculare implicate in lantul de traducere si amplificare a fotosemnalului. Se demonstreaza activarea de catre lumina din domeniul rosu-infrarosu apropiat a semnalizarii mitocondriale retrograde, afectarea proprietatilor membranelor celulare, stimularea adeziunii celulare, afectarea starii redox a celulelor, stimularea productiei ATP, afectarea homeostaziei fisiune-fuziune si a biogenezei mitocondriale, modularea producerii speciilor active de oxigen (ROS) si NO•, a nivelului si semnalului de Ca<sup>2+</sup>, a pH<sub>i</sub>, stimularea transcriptiei genice inclusiv a transcriptiei genelor implicate in proliferarea si apoptoza celulara, precum si stimularea regenerarii celulare. Totusi multe detalii ale caii de semnalizare mitocondrie ⇒ citoplasma ⇒ (membrana plasmatica ⇒ citoplasma) ⇒ nucleu, raman inca incomplet elucidate.

Analiza corelata a rezultatelor proprii si a datelor publicate confirma proliferarea celulara, progresia ciclului celular, viabilitatea si apoptoza celulara, nivelul de calciu intracelular si semnalizarea prin calciu in conditii normale si in conditii de stres drept parametri biologici relevanti in evaluarea efectivitatii dependente de lungime de unda, doza si regim de iradiere, stare celulara a iradierii cu radiatii laser din domeniul rosu-infrarosu apropiat.

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

### **Descrierea stiintifica si tehnica**

#### **I.2. Colectarea si evaluarea datelor existente privitoare la efectele celulare /subcelulare /moleculare ale radiatiilor laser de mica putere din domeniul 600-1000nm, de uz terapeutic.**

**cu următoarele sub-obiective majore:**

- I. Determinarea stadiului actual al cunoasterii in domeniu**
- II. Identificarea unor parametri biologici relevanti in studiul comparativ al efectelor celulare ale radiatiilor laser de mica putere din domeniul 600-1000nm, de uz terapeutic**

Primele aplicații medicale ale laserului au apărut imediat după descoperirea acestuia în 1960. Aceste aplicații exploatau efectul termic al laserelor de mare putere inducând fotocoagulare, ablațiune. Terapia cu lasere de mică putere (TLMP, low level laser therapy, LLLT) a apărut și ea curând [65, 2], dar în lipsa unor explicații privind mecanismele moleculare/celulare ce mediază efectele benefice obținute în condiții uneori nu foarte bine definite, această aplicație nici astăzi nu este unanim acceptată. Marea majoritate a publicațiilor apărute în reviste dedicate domeniului în primii 15 ani ai utilizării metodelor de terapie pe baze pur empirice, suferă de deficiențe comune: insuficienta caracterizare a condițiilor de lucru, necomunicarea sau calculul greșit al parametrilor caracteristici iradierii (densitate de energie, densitate de putere = intensitate, doză totală, frecvența aplicațiilor) în cazul raportării studiilor clinice, la care se adaugă lipsa precizării condițiilor de lucru în cazul studiilor pe celule. Controversele izvorite din această stare de lucru au dus la creșterea neîncrederii în eficacitatea LLLT. Schimbări în situația domeniului au început să apară deja în anii 80 ai secolului trecut, când grupul condus de prof. Tiina Karu de la Institutul de Tehnologii Laser și Informaționale al Academiei de Științe Ruse a inițiat studii sistematice privind efectele celulare și moleculare ale laserelor de mică putere. Grupul măsoară spectrele de acțiune a unui mare număr de efecte, sugerând ca fotoacceptorii principali ai radiațiilor laser din domeniul roșu-infraroșu sunt enzimele lanțului respirator și indicând stimularea/modularea lanțului respirator, drept mecanism al schimbării stării redox și al controlului rezervelor celulare de ATP, putând induce pe această

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

cale și proliferare celulară. Alt mecanism posibil de acțiune regulatorie evidențiată este creșterea sau scăderea – în funcție de starea inițială a celulei – radicalilor de oxigen, ceea ce este sugerată că ar putea sta la baza efectelor imunomodulatorii. Rezultatele studiilor, împreună cu o trecere în revistă exhaustivă a literaturii existente la acea oră, sunt prezentate în cartile prof.Karu apărute în 1989 [35] și 1998 [36]. Calitatea publicațiilor în domeniu în general se schimbă încet. În 2001 Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery dedică un volum (Vol. 19, Number 1, 2001) publicării unor referate generale, rezultate din studii internaționale, care să definească un set minimal de parametri de iradiere a căror precizare să permită compararea și reproducerea efectelor observate în laboratoare diferite. Cu toate acestea în 2003 referatul Cochran – privind aplicațiile LLLT în tratamentul osteoartritei – declară rezultatele din literatură neconcludente, recomandând studii suplimentare privind efectele lungimii de undă, duratei, dozei totale, a densității de energie și intensității (tipul aparatului, configurația sistemului de iradiere), punctelor de iradiere și refuză să includă LLLT a osteoartritei printre ramurile medicinei bazate pe dovezi (MBD).

Totuși, ultimii ani au marcat schimbare în cantitatea, calitatea și distribuția pe reviste a publicațiilor din domeniu, probabil cel puțin parțial datorat și inițierii de către NASA a unui program medical de aplicații ale diodelor emițătoare de lumină (LED). În consecință apar articole de calitate în revistele dedicate [3, 13, 24, 30, 32, 33, 42 - 46, 49 - 51, 63, 67, 73, 87, 96, 97, 100, 102], monografii și capitole de cărți [37, 39, 40, 41, 47, 72, 90, 98], publicații în reviste dedicate tehnologiilor spațiale [86, 91, 92], articole științifice [22, 23, 31, 60, 62, 76, 83, 84, 94, 95] și referate invitate [49] în reviste de prim rang, volume și cărți în edituri bune [48, 85, 88, 89, 93] abordând problematica efectelor moleculare/celulare induse de radiațiile laser de mică putere.

În consecința studiilor pe animale de experiență [12, 15, 59, 68], precum și studiilor clinice pe loturi impresionante [1, 4, 11, 14, 16, 21, 24, 29, 58, 64, 74, 96, 99] validează LLLT într-un număr crescând de condiții patologice. Totuși chiar și ultimele rapoarte Cochran [9, 10, 101], deși recomandă utilizarea unor proceduri LLLT pe termen scurt, subliniază lipsa standardizării procedurilor de terapie ca principala cauză a neincluzerii LLLT printre ramurile medicinei bazate pe dovezi, precum și necesitatea imperioasă a întreprinderii unor studii clinice

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

sistematice, controlate privind dependenta eficacitatii LLLT de lungime de unda, durata terapiei, doza si locul aplicarii, precum si necesitatea raportarii exacte a caracteristicilor instrumentului LLLT si a parametrilor de expunere utilizati in toate tipurile de studii.

In acest studiu ne referim la LLLT cu radiatii din domeniul rosu – infrarosu apropiat, efecte moleculare/celulare ale radiatiilor din acest domeniu. Trecem in revista sumar date din literatura si rezultate proprii privind efectele unor radiatii cu lungimi de unda in domeniul 600-1000nm, emise de lasere cu gaz si semiconductoare cu putere nominala in domeniul 20-150mW, cu emisie in unda continua sau in pulsuri, limitandu-ne la doze de radiatie incidenta in domeniul 0.1-120 kJ/m<sup>2</sup> (1-1200 J/cm<sup>2</sup>).

La nivel celular efectele sunt determinate de absorbtia luminii de molecule fotoacceptoare [48-49], proprietatea de coerenta a luminii laser nu este importanta in cazul straturilor monocelulare, respectiv in cazul unor straturi subtiri de suspensii celulare, efectele biologice ale radiatiilor coerente si necoerente (aceeasi doza, intensitate, lungime de unda) sunt aceleasi [40-41, 48-49], singura diferenta constand in intensitatea efectelor observate. Studiile fundamentale concluzioneaza ca efecte aditionale ale radiatiei coerente/polarizate pot aparea in straturi mai adanci ale tesuturilor [41].

In celulele mamaliene fotoacceptorul principal identificat al radiatiilor din domeniul rosu-infrarosu apropiat este enzima terminala a lantului respirator din mitocondrii, citocrom C oxidaza (CCO) [30, 44 - 46, 50, 51, 70]. Laser-ul rosu sau infrarosu determina fotoexcitarea unor grupari cromofore ale CCO, si anume excitarea centrilor CuA si CuB, influentand astfel statusul redox al acestor centri si, in consecinta, fluxul de electroni la nivelul moleculei. Conform unor ipoteze aceasta activare a fluxului de electroni in molecula de CCO poate inversa actiunea inhibitorie a NO asupra centrului catalitic si, in acest mod, se produce legarea O<sub>2</sub> si cresterea ratei respiratorii (ipoteza NO). Acesta poate fi un factor important ce conduce la cresterea concentratiei formei oxidate a centrului CuB al moleculei de CCO (13). Oricare ar fi etapa initiala, absorbtia luminii determina in final o schimbare a starii redox a moleculei de CCO spre o stare mai oxidata, oxidarea de scurta durata a NADH si, in consecinta, modificare starii redox a intregii citoplasme, cu deplasarea tranzitorie a statusului redox celular catre o faza oxidata (stres oxidativ moderat). Banda de

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

absorbție în jur de 825-nm este asociată formei oxidate a centrului CuA, banda 760-nm formei reduse a centrului CuB, banda 680-nm formei oxidate CuB, iar banda 620-nm formei reduse CuA. Analiza formei și a rapoartelor intensităților benzilor din spectrele de acțiune sugerează că molecula CCO poate îndeplini rolul ei de fotoacceptor în starea ei parțial redusă și nu în starea complet redusă sau complet oxidată, ceea ce poate explica dependența amplitudinii răspunsului celular la lumina laser de joasă putere de potențialul redox celular, de pH-ul intracelular și de cantitatea de ATP celular din momentul iradierii. Celulele caracterizate de un pH scăzut, un status redox deplasat spre zona redusă sau având un bagaj energetic diminuat răspund mult mai intens comparativ cu celulele a căror parametri sunt normali sau aproape-normali [35-37, 41-42, 48-49, 52-54].

Evenimentul primar de absorbție a radiației este urmat de o cascada de evenimente moleculare/subcelulare/celulare implicate în semnalizarea celulară, denumită în primele studii monografice [35-36] lanț de traducere și amplificare a fotosemnalului. Specificitatea răspunsului celular se manifestă numai în timpul acestor reacții secundare. Se presupune că traducerea și amplificarea fotosemnalului sunt inițiate la nivelul lanțului respirator, implică mai departe citoplasma, apoi membrana celulară și nucleul. Modul de transmitere a semnalului se consideră a fi o cascada de modificări rapide a parametrilor homeostaziei celulare, dintre care, cu importanță majoră fiind potențialul redox, conținutul de ATP celular și stările de fosforilare a anumitor molecule semnal, modularea acestor parametri celulari putând afecta expresia genică, inclusiv a transcripției genelor implicate în proliferarea și apoptoza celulară [102] prin intermediul factorilor de transcripție redox-dependenți, precum factorul nuclear kappa B (NF-kB) [73]. În multe celule producția și eliberarea de citokine și factori de creștere sunt fenomene terminale ale cascadei de traducere de semnal [73, 76, 84, 90, 100, 102], ceea ce poate explica efectele indirecte ale iradierii induse prin comunicare intercelulară [26, 41, 48, 79, 81].

Studii pe celule diferite pun în evidență o dinamică în timp a răspunsului celular, dependentă de tipul și starea celulei [31, 40].

Deși multe detalii ale căii de semnalizare mitocondrie ⇒ citoplasma ⇒ (membrana plasmatică ⇒ citoplasma) ⇒ nucleu, rămân încă incomplet elucidate, se descriu din ce în ce mai multe elemente ale cascadei de

## PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013

mecanisme moleculare implicate in lantul de traducere si amplificare a fotosemnalului [47-49].

S-au demonstrat efecte ale radiatiilor laser de mica putere din domeniul rosu – infrarosu apropiat asupra proprietatilor membranei plasmatice, afectand proprietatile de aderare celulara [38, 43, 47]. In cercetari anterioare noi am contribuit la dezvoltarea domeniului, datele noastre fiind primele care demonstreaza fara echivoc modificarea parametrului de ordine lipidica in membranele plasmatice ale celulelor sanguine iradiate cu radiatii laser de de 680nm si 830nm, precum si modularea metabolica a efectelor observate [52, 53, 55]. Efecte asupra potentialului membranelor mitocondriale au fost de asemenea semnalate de catre noi [6, 17, 19, 25] si de catre altii [15, 49].

S-au pus in evidenta schimbari in morfologia [42, 72] si in homeostazia de fuziune-fisiune mitocondriala [49], iar noi am prezentat date privind inducerea unor modificari dependente de doza in volumul relativ al rețelei mitocondriale de catre radiatia laser de 830nm [20]. S-a descris semnalizarea mitocondriala retrograda ca unul din mecanismele posibile de traducere si amplificare a fotosemnalului indus de radiatii laser de mica putere din domeniul rosu – infrarosu apropiat (Fig.1.2.1) [42, 49, 75].

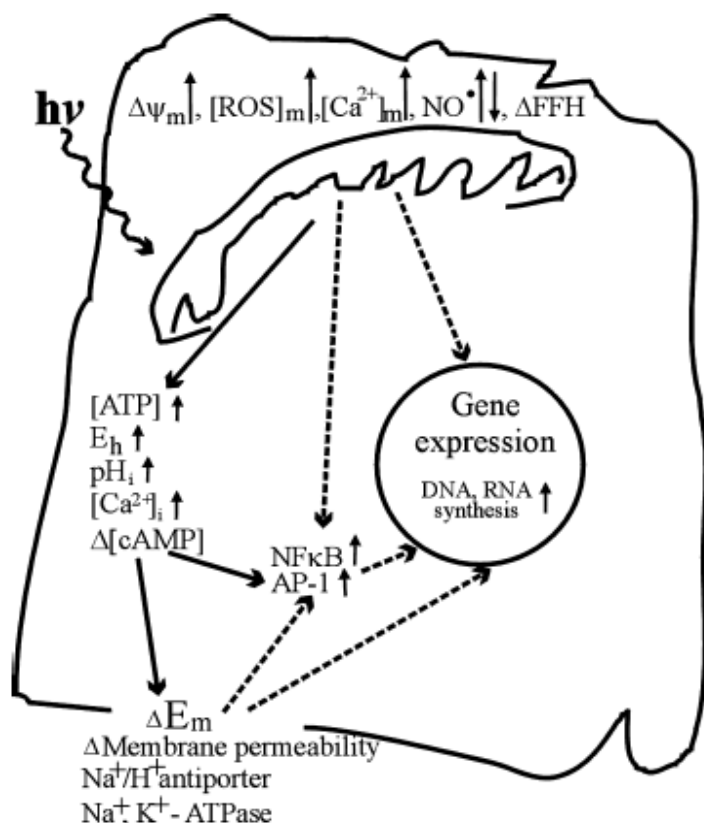


Fig.1.2.1. Ilustrarea schematica a cailor implicate in semnalizarea mitocondriala retrograda activata de absorbtia de catre citocrom C oxidaza a radiatiei din domeniul rosu – infrarosu apropiat [49]

↓ ↑ - descrestere/crestere  
 $E_h$ ,  $\Delta\Psi_m$  - potential redox celular, respectiv potential membranelor mitocondriale  
 ROS - specii active de oxigen  
 $[Ca^{2+}]_i$ ,  $[Ca^{2+}]_m$  - calciu intracelular / intramitocondrial  
 AP-1 - activator protein 1  
 NF- $\kappa$ B - factor nuclear B  
 $\Delta$ FFH - schimbari in homeostazia de fuziune-fisiune mitocondriala  
 → - cai demonstrate experimental, respectiv sugerate de studii teoretice



## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

S-a evidenciat afectarea semnalului [49, 100] si nivelului de calciu [55] in diverse celule, fotobiomodularea supravietuirii [57, 83] si proliferarii [13, 28, 34, 56, 83, 87, 97] celulare. S-a demonstrat implicarea semnalizarii mitocondriale retrodrage in supravietuirea si proliferarea celulara [34,] precum si in analgezie [15] si regenerare tisulara [23].

Date obtinute de noi in cercetari anterioare au evidenciat fotobiomodularea viabilitatii si ponderii modalitatilor de moarte celulara [5, 7], proliferarii si progresiei ciclului celular [66, 82], fotobiomodularea efectelor celulare induse de factori de stres, ca restrictie de energie/nutrienti (deprivare de ser, deprivare de glucoza, respectiv blocarea lantului respirator cu si fara blocarea glicolizei) [54, 81], prezenta de metale grele [5, 8], polifenoli (hipericina) [27], oxidanti [61, ] sau antioxidanti (flavonoide, galatul de epigallocatechina, quercetina) [7, 18, 69, 71, 80], precum si prevenirea/inversarea/eliminarea efectelor toxice ale unor concentratii moderate de cianuri [77, 78].

Analiza datelor publicate in literatura in corelatie cu rezultatele proprii obtinute in cercetari anterioare sugereaza alegerea proliferarii celulare, progresiei ciclului celular, a viabilitatii si extensiei apoptozei celulare, precum si a nivelului de calciu intracelular si caracteristicilor semnalizarii prin calciu in conditii normale si in conditii de stres, drept parametri biologici relevanti in evaluarea eficacitatii dependente de lungime de unda, doza si regim de iradiere si de stare celulara a iradierii cu radiatii laser din domeniul rosu-infrarosu apropiat.

# PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013

## Anexe

### 2 rezumate de comunicari afisate trimise la reuniune stiintifica internationala:

#### **Soft Laser Radiation Effects On Polyphenol Exposed Human T Leukemic Jurkat Cells.**

Livia Vlaicu<sup>1</sup>, A. Bobocea<sup>1</sup>, Magdalena Mocanu<sup>1</sup>, Judit Horvath<sup>2</sup>, Ervin Tanos<sup>2</sup>, Eva Katona<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania  
<sup>2</sup>LASEUROPA, Budapest, Hungary

Beneficial effects in various pathological conditions of low power laser irradiation within the tissue transparency window of 600–1000 nm are yet far from being explained, as there are many aspects of polyphenols cellular effects. The aim of this study was to supply new data concerning changes occurring in viability and proliferation of Jurkat cells under the influence of various concentrations of hypericin or coumarin, as well as soft laser irradiation effects thereon. Jurkat cells were cultured in standard conditions, in presence/absence of Hypericin or Coumarin. We used radiations emitted by semiconductor lasers, and exposed the T cell suspensions to doses and irradiation regimes of therapeutic significance. Selecting appropriate molecular probes (JC-1, PI, Hoechst, AnnexinV-FITC, 7-AAD) the mitochondrial reticulum state, cell viability, proliferation rate, cell cycle progression, and percentage of apoptotic and necrotic cells were assessed by conventional, phase contrast, fluorescence microscopy, and flow cytometry. The data obtained demonstrate cell state, radiation wavelength, radiation dose, and irradiation regime dependent soft laser irradiation effects, as well as dose-dependent hypericin and coumarin influence on Jurkat cells behavior.

*Partial financial support of the Romanian Ministry of Education and Research (grants CNCSIS 924/2006, CEEEX 6109/2005 and PN2-42139/2008) is gratefully acknowledged.*

#### **Flavonoid And Low Level Long Wavelength Laser Irradiation Effects Seen In Human T Cells.**

A. Bobocea<sup>1</sup>, Magdalena Mocanu<sup>1</sup>, Mihaela Pislea<sup>1</sup>, Teofila Seremet<sup>1</sup>, Gyöngyvér Katona<sup>1</sup>,  
I. O. Doaga<sup>1</sup>, E. Radu<sup>1</sup>, Judit Horvath<sup>2</sup>, E. Tanos<sup>2</sup>, Eva Katona<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania  
<sup>2</sup>LASEUROPA, Budapest, Hungary

The goal of present studies was to investigate human T cells death / survival / proliferation balance in response to low power far-red (FR) and near-infrared (NIR) laser irradiation doses and/or various concentrations of flavonoids Quercetin (QUE) or Epigallocatechin gallate (EGCG). Changes induced in mitochondrial reticulum state in correlation with apoptosis induction were additionally monitored. Peripheral blood derived lymphocytes and human T leukemic Jurkat cells were cultured in standard conditions. QUE or EGCG were introduced in the culture media in various concentrations (1 - 150  $\mu$ M) for various time periods (6 - 136 h). Therapeutic lasers with emission wavelengths in the range 600– 900 nm were used to expose cells to single irradiation doses of 0.8-1.8  $\mu$ J/cell, with irradiation regimes of once per day, or every second day, realizing total irradiation doses of 1-15  $\mu$ J/cell. Using appropriate fluorophore-conjugated surface markers (AnnexinV-FITC for dying cells), mitochondrial (JC1 and MitoTracker dyes) and nuclear probes (7-AAD, Hoechst and PI as DNA stains), mitochondrial membrane depolarization / hyperpolarization related apoptosis induction, cell cycle blockade/progression, cell survival/death rates and cell death style choices were followed up by fluorescence/confocal microscopy and flow cytometry. The obtained data reveal significant, laser wavelength, dose, irradiation regime and cell state dependent photobiomodulation of flavonoid effects in human T cells.

*Partial financial support of the Romanian Ministry of Education and Research (grants CNCSIS 924/2006, CEEEX 74/2006 and PN2-42139/2008) is gratefully acknowledged.*

=====

#### **7F Mitochondria in Cell Life and Death**

#### **10 Apoptosis**

**53<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Biophysical Society, February 28 – March 2, 2009, Boston, Massachusetts, USA**

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

### **Concluzii**

In aceasta etapa a proiectului s-au colectat date publicate in literatura stiintifica sau/si comunicate la reuniuni stiintifice internationale, privitoare la efectele celulare /subcelulare /moleculare ale radiatiilor laser de mica putere din domeniul 600-1000nm, de uz terapeutic si s-au evaluat aceste date comparativ cu cele obtinute anterior in laboratoare proprii in cadrul altor proiecte. Ca rezultat al acestor activitati s-au trimis doua rezumate de comunicari afisate la a 53-a Reuniune Anuala a Societatii Americane de Biofizica si s-a realizat un studiu monografic (studiu de interes local), contribuind astfel la crearea bazelor stiintifice ale **intelegerii fenomenelor fundamentale implicate in interactia dintre fasciculul laser si biotesuturi si consecintele acestora la nivel celular/ molecular (OG1)**.

Concluziile acestui studiu (1.2) se pot rezuma dupa cum urmeaza:

- ❖ Studii pe animale de experienta, precum si studii clinice pe loturi impresionante valideaza LLLT intr-un numar crescand de conditii patologice. Totusi chiar si ultimele rapoarte Cochrane, desi recomanda utilizarea unor proceduri LLLT pe termen scurt, subliniaza lipsa standardizarii procedurilor de terapie ca principala cauza a neincluserii LLLT printre ramurile medicinei bazate pe dovezi, precum si necesitatea imperioasa a intreprinderii unor studii clinice sistematice, controlate privind dependenta efectivitatii LLLT de lungime de unda, durata terapiei, doza si locul aplicarii, precum si necesitatea raportarii exacte a caracteristicilor instrumentului LLLT si a parametrilor de expunere utilizati.
- ❖ Se constata o crestere impresionanta a numarului de articole stiintifice si referate invitate in reviste de prim rang, volume si carti in edituri bune abordand problematica efectelor moleculare/celulare induse de radiatiile laser de mica putere. Creste numarul studiilor fundamentale privind dependenta actiunii benefice a radiatiilor laser din domeniul rosu-infraros de putere mica de parametri de iradiere (lungime de unda, doza, durata si regim de iradiere), precum si a celor demonstrand implicarea unor mecanisme moleculare / celulare, structuri subcelulare, cai de semnalizare.

## **PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013**

- ❖ In celulele mamaliene fotoacceptorul principal identificat al radiatiilor din domeniul rosu-infrarosu apropiat este enzima terminala a lantului respirator din mitocondrii, citocrom C oxidaza (CCO). Rolul de generator si traducator de semnal al acestei enzime ramane inca incomplet elucidata.
- ❖ Se descriu din ce in ce mai multe elemente ale cascadei de mecanisme moleculare implicate in lantul de traducere si amplificare a fotosemnalului. Se demonstreaza activarea de catre lumina din domeniul rosu-infrarosu apropiat a semnalizarii mitocondriale retrograde cu implicarea modularii potentialului membranelor mitocondriale  $\Delta\Psi_m$ , a producerii speciilor active de oxigen ROS,  $Ca^{2+}$  intracelular si intramitocondrial,  $NO\bullet$ ,  $pH_i$ , homeostazia fisiune-fuziune mitocondriala fiind alte elemente modulate. De asemenea se demonstreaza afectarea proprietatilor membranelor celulare, stimularea adeziunii celulare, afectarea starii redox a celulelor, stimularea productiei ATP, afectarea biogenezei mitocondriale, stimularea transcriptiei genice inclusiv a transcriptiei genelor implicate in proliferarea si apoptoza celulara, precum si stimularea regenerarii celulare. Totusi multe detalii ale caii de semnalizare mitocondrie  $\Rightarrow$  citoplasma  $\Rightarrow$  (membrana plasmatica  $\Rightarrow$  citoplasma)  $\Rightarrow$  nucleu, raman inca incomplet elucidate.
- ❖ Majoritatea efectelor celulare descrise apar indiferent de gradul de coerenta a radiatiilor. Eficacitatea creste in cazul iradierii laser. De asemenea se descriu mecanisme suplimentare ce ar putea fi activate in cazul iradierii laser.
- ❖ Dependenta raspunsului celular la iradiere cu radiatii din domeniul rosu-infrarosu apropiat de starea redox si energetica a celulei iradiata este confirmata in studii pe celule variate.
- ❖ Analiza corelata a rezultatelor proprii si a datelor publicate confirma proliferarea celulara, progresia ciclului celular, viabilitatea si apoptoza celulara, nivelul de calciu intracelular si semnalizarea prin calciu in conditii normale si in conditii de stres drept parametri biologici relevanti in evaluarea eficacitatii dependente de lungime de unda, doza si regim de iradiere si de stare celulara a iradierii cu radiatii laser din domeniul rosu-infrarosu apropiat.

# PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013

## Bibliografie 1.2

1. Arora H, Pai KM, Maiya A, Vidyasagar MS, Rajeev A. Efficacy of He-Ne Laser in the prevention and treatment of radiotherapy-induced oral mucositis in oral cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 105(2):180-6, 2008
2. Baxter, G.D., *Therapeutic Lasers: Theory and Practice*, Churchill Livingstone, London, 1994.
3. Bisland, Stuart K.; Wilson, Brian C.: To begin at the beginning: the science of bio-stimulation in cells and tissues. *Mechanisms for Low-Light Therapy*. Edited by Hamblin, Michael R.; Waynant, Ronald W.; Anders, Juanita. *Proceedings of the SPIE* 6140, 13-22, 2006.
4. Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Joensen J, Couppe C, Ljunggren AE, Stergioulas A, Johnson MI. A systematic review with procedural assessments and meta-analysis of low level laser therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow). *BMC Musculoskelet Disord.* 29(9):75, 2008
5. Bobocea A., E. Fertig, M.Pislea, T.Seremet, Gy.Katona, I.O.Doaga, E.Radu, J.Horváth, E.Tanos, L.Katona, E.Katona: Cadmium And Soft Laser Radiation Effects On Human T Cells Viability And Death-Style Choices. *Rom. J. Biophys.* 18(3), 179-193, 2008
6. Bobocea A., E. Fertig, M. Mocanu, M. Pislea, T. Seremet, I. O. Doaga, E. Radu, J. Horvath, E. Tanos, L. Katona, E. Katona: Photobiomodulation Of Flavonoid Effects On Human T Cells Mitochondrial Network State, *Biochem.Biophys.Acta, Bioenergetics* 1777, Supplement EBEC2008, S50, 2008
7. Bobocea A., E.Fertig, M.Pislea, T.Seremet, I.O.Doaga, E.Radu, J.Horvath, E.Tanos, L.Katona, Eva Katona: Photobiomodulation Of Epigallocatechine Gallate Cellular Effects, Seen In Human T Leukemic Jurkat Cells. *FEBS Journal* 275, Supplement1, 248, 2008
8. Bobocea A., E.Fertig, M.Pislea, T.Seremet, I.O.Doaga, E.Radu, J.Horváth, E.Tanos, L.Katona, E.Katona: Photobiomodulation Of Cadmium Cellular Effects in Stress Conditions. *Biophysical Journal* 94, 2842-pos, 2008
9. Brosseau L, Robinson V, Wells G, Debie R, Gam A, Harman K, Morin M, Shea B, Tugwell P. Low level laser therapy (Classes III) for treating osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Iss.1:CD002046, 2007
10. Brosseau L, Robinson V, Wells G, deBie R, Gam A, Harman K, Morin M, Shea B, Tugwell P. Low level laser therapy (Classes I, II and III) for treating rheumatoid arthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 4. Art. No.: CD002049., 2008
11. Byrnes, K.R., et al. Cellular invasion following spinal cord lesion and low power laser irradiation, *Lasers Surg. Med.*, S14, 11-16, 2002.
12. Castro-E-Silva T, Castro-E-Silva O, Kurachi C, Ferreira J, Zucoloto S, Bagnato VS: The use of light-emitting diodes to stimulate mitochondrial function and liver regeneration of partially hepatectomized rats. *Braz J Med Biol Res* **40**, 1065-1069, 2007
13. Cheng, Lei; Liu, Timon C.; Chi, Jin-Quan; Li, Yan; Jin, Hua, Photobiomodulation on the proliferation and collagen synthesis of normal human skin fibroblast cells. *Proceedings of the SPIE*, **6026**, 63-72, 2006
14. Chow RT, Heller GZ, Barnsley L: The effect of 300 mW, 830 nm laser on chronic neck pain: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pain* **124**, 201-10, 2006
15. Chow R. T., M. A. David, and P. J. Armati: 830 nm laser irradiation induces varicosity formation, reduces mitochondrial membrane potential and blocks fast axonal flow in small and medium diameter rat dorsal root ganglion neurons: implications for the analgesic effects of 830 nm laser. *Journal of the Peripheral Nervous System* 12:28-39, 2007
16. Djavid GE, Mehrdad R, Ghasemi M, Hasan-Zadeh H, Sotoodeh-Manesh A, Pouryaghoub G: In chronic low back pain, low level laser therapy combined with exercise is more beneficial than exercise alone in long term: A randomized trial. *Aust J Physiother* **53**, 155-160, 2007.
17. Doagă I.O., E. Radu, T. Şeremet, A. Bobocea, E. Fertig, Gy. Katona, J. Horváth, E. Tanos, L. Katona, E. Katona: Soft laser irradiation effects on human mononuclear cells mitochondrial network in stress conditions. *European Biophysics Journal* 36, S138, 2007
18. Doaga I.O., T. Şeremet, E. Panait, Gy. Katona, E. Radu, J. Horvath, E. Tanos, V. Atanasiu, L. Katona, E. Katona: Photobiomodulation Of Flavonoids Cellular Effects, Seen In Human Mononuclear Cells. *FEBS Journal* 274, Supplement1, 208, 2007
19. Doaga I.O., E.Radu, T.Seremet, M.Pislea, M. Dumitrescu, S. Radesi, Gy.Katona, J.Horváth, E.Tanos, L.Katona, E.Katona: Low Level Laser Irradiation Effects On Mitochondrial Membrane Potential In Human Mononuclear Cells, Seen By Flow Cytometry. *Rom. J. Biophys.* 18(1): 1-17, 2008

## PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013

20. Doaga I.O., E.Radu, Gy.Katona, M.Mocanu, J.Horváth, E.Tanos, E.Katona: Low Level Long Wavelength Laser Irradiation Effects On Human T leukemic Lymphoblasts Mitochondrial Reticulum Size, Rom. Biotechnol.Lett. submitted, 2009
21. Dundar U, Evcik D, Samli F, Pusak H, Kavuncu V: The effect of gallium arsenide aluminum laser therapy in the management of cervical myofascial pain syndrome: a double blind, placebo-controlled study. Clin Rheumatol. 26, 930-4, 2007
22. Eells J.T., M.M.Henry, P. Summerfelt, M.T.T. Wong-Riley, E.V.Buchmann, M.Knae, N.T.Whelan, and H.T.Whelan, Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity, Proc.Natl.Acad.Sci. USA, **100**, 3439-3444, 2003
23. Eells, J., M. T. Wong-Riley, J. VerHoeve, M. Henry, E. V. Buchman, M. P. Kane, L. J. Gould, R. Das, M. Jett, B. D. Hodgson, D. Margolis and H. T. Whelan, Mitochondrial signal introduction in accelerated wound and retinal healing by near-infrared light therapy. Mitochondrion 4, 559-567, 2004
24. Enwemeka, C.S., J.C. Parker, D.S. Dowdy, E.E. Harkness, L.E. Sanford, L.D. Woodruff, The efficacy of low power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study, Photomed. Laser Surg., 22, 323-329, 2004.
25. Fertig E., A. Bobocea, M. Mocanu, Gy. Katona, T. Seremet, E. Radu, J. Horvath, E. Tanos, L. Katona, E. Katona: Low Power Long Wavelength Laser Irradiation Effects On Human Mononuclear Cells Mitochondrial Membrane Potential. Biochem.Biophys.Acta, Bioenergetics 1777, Supplement EBEC2008, S51, 2008
26. Fertig E., A. Bobocea, G. Katona, T. Seremet, M. Dumitrescu, E. Radu, J. Horvath, E.Tanos, L.Katona, Eva Katona: Low Power Long Wavelength Effects On Signalling And Crosstalk In Stress Exposed Human Mononuclear Cell Populations. FEBS Journal 275, Supplement1, 258, 2008
27. Fertig E., A.Bobocea, M.Pislea, T.Seremet, E.Radu, J.Horváth, E.Tanos, L.Katona, E.Katona: Hypericin And Soft Laser Radiation Effects Seen In Human T Cells. Biophysical Journal 94, 2847-pos, 2008
28. Gao, Xuejuan; Wang, Fang; Da, Xing Molecular imaging of low-power laser irradiation induced cell proliferation Biophotonics and Immune Responses. Edited by Chen, Wei R. Proceedings of the SPIE 6087, 127-133, 2006
29. Gur A, Sarac AJ, Cevik R, Altindag O, Sarac S. Efficacy of 904 nm gallium arsenide low level laser therapy in the management of chronic myofascial pain in the neck: a double-blind and randomize-controlled trial. Lasers Surg Med. 35(3):229-35, 2004.
30. Hamblin, Michael R.; Demidova-Rice, Tatiana N.: Cellular chromophores and signaling in low level light therapy. Mechanisms for Low-Light Therapy II. Edited by Hamblin, Michael R.; Waynant, Ronald W.; Anders, Juanita. Proceedings of the SPIE, 6428, 642802, 2007
31. Hawkins DH, Abrahamse H: Time-dependent responses of wounded human skin fibroblasts following phototherapy. J Photochem Photobiol B Jul 28, 2007
32. Hawkins, D., Heidi Abrahamse, Phototherapy – a treatment modality for wound healing and pain relief, Afr. J. Biomed. Res., 10, 99-109, 2007.
33. Hode L, Tunér J. Wrong parameters can give just any results. Lasers Surg Med. **38**, 343, 2006
34. Hu, W.-P., J. J. Wang, C.-L. Yu, C.-C. E. Lan, G. S. Chen and H.-S. Yu, He-Ne laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria. J. Invest. Dermatol. 127, 2048-2057, 2007
35. Karu, T.I., Photobiology of Low-Power Laser Therapy, Harwood Academic, London, 1989.
36. T.Karu: The Science of Low Power Laser Therapy, Gordon and Breach Science Publishers, London, 1998
37. Karu Tiina, Mechanisms Of Low-Power Laser Light Action On Cellular Level. In: *Lasers in Medicine and Dentistry*. Ed. by Z.Simunovic, Vitgraf, Rijeka, Chapter IV, pp. 97-125, 2000
38. Karu T.I., L.V.Pyatibrat, G.S. Kalendo "Cell attachment modulation by radiation from a pulsed semiconductor light diode ( $\lambda = 820 \text{ nm}$ ) and various chemicals". Lasers in Surgery and Medicine, 28(3) 227-236, 2001
39. Karu T.I., Low-power laser effects. In: *Lasers in Medicine*, Ed. by R.Waynant, Boca Raton, CRC Press, 171-209, 2002
40. Karu T.I., Cellular mechanism of low power laser therapy: new questions. In: *Lasers in Medicine and Dentistry*, Vol. 3., Ed by Z. Simunovic, Vitgraf: Rieka, Ch.IV., pp.79-100, 2003
41. Karu T.I., Low power laser therapy. In: *Biomedical Photonics Handbook.*, Tuan Vo-Dinh, ed., CRC Press, Boca Raton, Ch. 48, pp 48-1-48-25, 2003
42. Karu, T. I., L. V. Pyatibrat and N. I. Afanasyeva: A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. Photochem. Photobiol. 80, 366-372, 2004

## PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013

43. Karu T., L.V. Pyatibrat, G.S. Kalendo, Photobiological modulation of cell attachment *via* cytochrome c oxidase. *Photochem. Photobiol. Sci.* **3**, 211-216, 2004
44. Karu, T.I., S.F. Kolyakov: Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed. Laser Surg.* **23**, 355-361, 2005
45. Karu, T.I., L.V. Pyatibrat, S.F. Kolyakov, N.I. Afanasyeva: Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: reduction of cytochrome c oxidase under near IR radiation. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **81**, 98-106, 2005
46. Karu T and S.F. Kolyakov, Exact Action Spectra for Cellular Responses Relevant to Phototherapy, *Photomedicine and Laser Surgery* **23**, 355-361, 2005
47. Karu T. Attachment of cells can be increased by monochromatic light in the red-to-near-IR region: a novel mitochondrial signaling pathway. In "Photodynamic Therapy at the Cellular Level" A.B. Uzdensky, pp. 1-39, Research Signpost, Kerala, India, 2007
48. Karu T., Ten Lectures on Basic Science of Laser Phototherapy. Prima Books AB, Grangesberg, Sweden, 2007
49. Karu Tiina I., Mitochondrial Signaling in Mammalian Cells Activated by Red and Near-IR Radiation. *Photochemistry and Photobiology*, **84**: 1091-1099, 2008
50. Karu, T. I., L. V. Pyatibrat, S. F. Kolyakov and N. I. Afanasyeva Absorption measurements of cell monolayers relevant to laser phototherapy: Reduction or oxidation of cytochrome c oxidase under laser radiation at 632.8 nm. *Photomed. Laser Surg.* **26**, 2008.
51. Karu, T.I., L.V. Pyatibrat, S.Kolyakov, N.I. Afanasyeva: Absorption measurements of cell monolayers relevant to mechanisms of laser phototherapy: reduction or oxidation of cytochrome c oxidase under laser radiation at 632.8 nm. *Photomed. Laser Surgery*, **26**, 2008
52. Katona E., Gy. Katona, A. Caplanusi, I. O. Doaga, D. Ionescu, R. Matei, J. Horvath, E. Trutia, E. Tanos, L. Katona - Low Power Red Laser Irradiation Effects, as seen in Metabolically Intact and Impaired Human Blood Cells. *Rom. J. Biophys.*, **13**, 1-14, 2003
53. Katona E., Gy. Katona, I. O. Doagă, T. Seremet, M. Dumitrescu, S. Radesi, R. Matei, J. Horvath, E. Tanos, L. Katona - Membrane Effects of Low Level Infrared Laser Irradiation, as seen in Metabolically Intact and Impaired Human Blood Cells. *Rom. J. Biophys.*, **14**, 92-100, 2004
54. Katona, Gy., T. Şeremet, M. Pişlea, I.O. Doagă, S. Radeşi, M. Dumitrescu, R. Matei, J. Horváth, E. Tanos, L. Katona, E. Radu, E. Katona, Metabolic modulation of low power long wavelength laser irradiation effects, seen in human T cells, *European J. Biophys.*, **34**, 759, 2005
55. Katona E., Gy. Katona, I. O. Doagă, D. Ionescu, R. Matei, J. Horváth, E. Tanos, L. Katona: Multiple Low Level Laser Irradiation Effects On Human Peripheral Blood Lymphocytes And Platelets, Revealed By Fluorimetric Techniques. *Rom. J. Biophys*, **16**(4), 221-228, 2006.
56. Kreisler M., A.B. Christoffers, B. Willershausen and B. d'Hoedt, Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study, *Journal Of Clinical Periodontology* **30**, 353, 2003
57. Lage, C., Teixeira, P.C.N., Leitao, A.C., Non-coherent visible and infrared radiation increase survival to UV (354 nm) in *Echerichia coli* K 12, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **54**, 155-161, 2000.
58. Lampl, Yair; Zivin, Justin A.; Fisher, Marc; Lew, Robert; Welin, Lennart; Dahlof, Bjorn; Borenstein, Peter; Andersson, Bjorn; Perez, Julio; Caparo, Cesar; Ilic, Sanja, Oron, Uri: Infrared Laser Therapy for Ischemic Stroke: A New Treatment Strategy. Results of the NeuroThera Effectiveness and Safety Trial-1 (NEST-1) *Stroke* **38**, 1843-1849, 2007
59. Lapchak PA, Salgado KF, Chao Ch, Zivin JA: Transcranial near-infrared light therapy improves motor function following embolic strokes in rabbits: An extended therapeutic window study using continuous and pulse frequency delivery modes. *Neuroscience* **140**, 339-49, 2007
60. Liang HL, Whelan HT, Eells JT, Meng H, Buchmann E, Lerch-Gaggl A, Wong-Riley M., Photobiomodulation partially rescues visual cortical neurons from cyanide-induced apoptosis. *Neuroscience* **139**, 639-49, 2006
61. Lixandru D., M. Pişlea, E. Panait, T. Şeremet, E. Radu, J. Horvath, E. Tanos, I. Stoian, V. Atanasiu, E. Katona: Flavonoid And Soft Laser Radiation Effects On Oxidative Stress Exposed Mononuclear Cell Populations. *FEBS Journal* **274**, Supplement1, 208, 2007
62. Lopez-Lluch G., N. Hunt, B. Jones, M. Zhu, H. Jamieson, S. Hilmer, M.V. Cascajo, J. Allard, D.K. Ingram, P. Navas, and R. de Cabo, Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergies efficiency, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 1768-1773, 2006
63. Lubart R, Eichler M, Lavi R, Friedman H, Shainberg A., Low-energy laser irradiation promotes cellular redox activity. *Photomed Laser Surg.* **23**, 3-9, 2005

## PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013

64. Martin Richard, Laser-Accelerated Inflammation/Pain Reduction And Healing Practical PAIN MANAGEMENT, 20-25, Nov/Dec 2003
65. Mester, E., Spiry, T., Szende, B., and Tota, J.G. Effect of Laser Rays on Wound Healing. *Am.-J.-Surg.* 122 (4), 532-5, 1971
66. Mocanu M., Gy.Katona, E.Radu, J.Horváth, E.Tanos, E.Katona: Epigallocatechin Gallate And Soft Laser Radiation Effects On Cell Cycle Progression Of Human T leukemia Lymphoblasts, in preparation, 2009
67. Mochizuki-Oda, Noriko; Kataoka, Yosky; Yamada, Hisao; Awazu, Kunio Effects of Near-Infrared Laser on Neural Cell Activity, International Symposium on Portable Synchrotron Light Sources and Advanced Applications. AIP Conference Proceedings, Volume 716, pp. 192-195, 2004.
68. Oron, Amir, Oron, Uri, Chen, Jieli, Eilam, Anda, Zhang, Chunling, Sadeh, Menachem, Lampl, Yair, Streeter, Jackson, DeTaboada, Luis, Chopp, Michael, Low-Level Laser Therapy Applied Transcranially to Rats After Induction of Stroke Significantly Reduces Long-Term Neurological Deficits, *Stroke*, **37**, 2620-2624, 2006
69. Panait E., D. Lixandru, T. Şeremet, Gy. Katona, E. Radu, J. Horvath, E. Tanos, L. Katona, V. Atanasiu, E. Katona: Epigallocatechin Gallate And Low Power Near Infrared Laser Irradiation Effects Seen In Human T Cells. *FEBS Journal* 274, Supplement1, 183, 2007
70. Pastore, D., M. Greco, S. Passarella: Specific helium-neon laser sensitivity of the purified cytochrome c oxidase. *Int. J. Rad. Biol.* 76, 863-870, 2000
71. Pişlea M., T. Şeremet, E. Panait, Gy. Katona, I.O. Doagă, E. Radu, J. Horváth, E. Tanos, L. Katona, V. Atanasiu, E. Katona: Photobiomodulation of flavonoid effects in energy and/or nutrient restricted human T cells. *European Biophysics Journal* 36, S143, 2007
72. Ranji, Mahsa; Jaggard, Dwight L.; Chance, Britton: Observation of mitochondrial morphology and biochemistry changes undergoing apoptosis by angularly resolved light scattering and cryoimaging. *Biophotonics and Immune Responses*. Edited by Chen, Wei R. Proceedings of the SPIE 6087, 108-116, 2006
73. Rizzi, C. F., J. L. Mauriz, D. S. F. Corre´a, A. J. Moreira, C. G. Zettler, L. I. Filippin, N. P. Marroni and J. Gonza´lez- Gallego Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-κB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg. Med.* 38, 704-713, 2006
74. Rochkind, Shimon; Drory, Vivian; Alon, Malvina; Nissan, Moshe; Ouaknine; Georges E.: Laser Phototherapy (780 nm), a New Modality in Treatment of Long-Term Incomplete Peripheral Nerve Injury: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Photomedicine and Laser Surgery* **25**, 436-442, 2007.
75. Schroeder, P., C. Pohl, C. Calles, C. Marks, S. Wild and J. Krutmann Cellular response to infrared radiation involves retrograde mitochondrial signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 43, 128-135, 2007
76. Schwartz, F., C. Brodie, E. Appel, G. Kazimirsky and A. Schainberg, Effect of helium / neon laser irradiation on nerve growth factor synthesis and secretion in skeletal muscle cultures. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 66, 195-200, 2002
77. Şeremet T., Gy. Katona, I.O. Doaga, E. Radu, J. Horvath, E. Tanos, L. Katona, E. Katona: Low power long wavelength laser irradiation effects on cyanide intoxicated human mononuclear cells. *Biophysical Journal* 90, 1733-pos, 2006
78. Şeremet T., Gy. Katona, M. Dumitrescu, I.O. Doagă, J. Horváth, E. Tanos, L. Katona, E. Radu, E. Katona: Microenvironment dependent photobiomodulation of cyanide effects in human mononuclear cells. *European Biophysics Journal* 36, S145, 2007
79. Şeremet T., Gy. Katona, M. Dumitrescu, S. Radesi, I.O. Doaga, E. Radu, J. Horvath, E. Tanos, L. Katona, E. Katona: Photobiomodulation of Cellular Signalling and Crosstalk, Seen in Human Peripheral Blood Mononuclear Cell Populations. *Biophysical Journal* 92, 1200-pos, 2007
80. Seremet T., M. Dumitrescu, S. Radesi, Gy. Katona, I. O. Doaga, E. Radu, J. Horváth, E.Tanos, L.Katona, E.Katona: Photobiomodulation Of Quercetin Antiproliferative Effects Seen In Human Acute T Leukemic Jurkat Cells. *Rom. J. Biophys.* 17(1), 33-43, 2007
81. Şeremet T., M.Pislea, E.Fertig, A.Bobocea, Gyöngyvér Katona, I.O.Doagă, E.Radu, Judit Horváth, E.Tanos, L.Katona, Eva Katona: Microenvironment Dependent Signalling and Crosstalk in Stress Exposed Human Mononuclear Cell Populations. *Biophysical Journal* 94, 2964 pos, 2008
82. Seremet T., M. Pislea, Gy. Katona, M. Mocanu, I. O. Doagă, E. Radu, J. Horváth, E. Tanos and E. Katona: Low Level Long Wavelength Laser Irradiation Effects On Cell Cycle Progression Of Energy Restricted Human Acute T Leukemic Jurkat Cells. *Rom. J. Biophys.*, submitted, 2009



## PROGRAMUL 4 "PARTENERIATE IN DOMENIILE PRIORITARE" 2007-2013

83. Shefer G., T. A. Partridge, L. Heslop, J. G. Gross, U. Oron, O. Halevy, Low-energy laser irradiation promotes the survival and cell cycle entry of skeletal muscle satellite cells *J. Cell Science* **115**, 1461-1469, 2002
84. Shefer G., I. Barash, U. Oron, O. Halevy, Low-energy laser irradiation enhances de novo protein synthesis via its effects on translation-regulatory proteins in skeletal muscle myoblasts *Biochim. Biophys. Acta* **1593**, 131- 139, 2003
85. Simunovic, Z. (Ed.), Lasers in Medicine and Dentistry – Part One: Basic Science, and Up-to-date Clinical Application of Low Energy-Laser Laser Therapy LLLT, www.lasermedico.ch, ISBN 953-6059-30-4, 2000.
86. Sommer, A.P., Pinheiro, A.L.B., Mester, A.R., Franke, R.P., Whelan, H.T. Biostimulatory Windows in Low-Intensity Laser Activation: Lasers, Scanners, and NASA's Light-Emitting Diode Array System. *J. Clin.-Laser.-Med.-Surg.* 19 (1), 29-33; 2001
87. Tuby, Hana, Lidya Maltz, U. Oron, Low-level laser irradiation (LLLI) promotes proliferation of mesenchymal and cardiac stem cells in culture, *Lasers Surg. Med.*, 39, 373-378, 2007.
88. Tuner, J., L. Hode, Laser Therapy – Clinical Practice and Scientific Background, Prima Books, Grängesberg, 1999, 2002.
89. Vo-Dinh, T. (Ed.), Biomedical Photonics Handbook., CRC Press, Boca Raton 2003.
90. Wang, Fang; Chen, Tong-Sheng; Xing, Da: Imaging of Ras/Raf activity induced by low energy laser irradiation in living cell using FRET. *Optics in Health Care and Biomedical Optics: Diagnostics and Treatment II*. Edited by Chance, Britton; Chen, Mingzhe; Chiou, Arthur E. T.; Luo, Qingming. Proceedings of the SPIE 5630, 351-357, 2005
91. Whelan, H.T., Houle, J.M., Donohoe, D.L., Bajic, D.M., Schmidt, M.H., Reichert, K.W., Weyenberg, G.T., Larson, D.L., Meyer, G.A., and Caviness, J.A. Medical applications of space light-emitting diodes technology - space station and beyond. *Space Tech. & App. Int'l. Forum* 458, 3-15, 1999
92. Whelan, H.T., Houle, J.M., Whelan N.T., Donohoe, D.L., Cwilinski, J., Schmidt, M.H., Gould, L., Larson, D.L., Meyer, G.A., Cevenini, V., and Stinson, H. The NASA light-emitting diode medical program - progress in space flight and terrestrial applications. *Space Tech. & App. Int'l. Forum* 504, 37-43, 2000
93. Wilson, B.C., S. Tanev, V.V. Tuchin, *Advances in Biophotonics*, IOS Press, 2005.
94. Wong-Riley, M.T., X.Bai, E. Buchman, and H.T. Whelan: Light-emitting diode treatment reverses the effect of TTX on cytochrome c oxidase in neurons. *Neuroreport* 12, 3033-3037, 2001
95. Wong-Riley M.T.T., H.L.Liang, J.T. Eells, B. Chance, M.M. Henry, E. Buchanmann, M. Kane, and H.T.Whelan, Photobiomodulation directly benefits primary neurons functionally inactivated by toxins, *J. Biol. Chem.* **280**, 4761-4771, 2005
96. Woodruff, L., J. Bounkeo, W. Brannon, K. Dawes, C. Barham, D. Waddell, C. Enwemeka, The efficacy of laser therapy in wound repair: A meta-analysis of the literature, *Photomed. Laser Surg.*, 22, 241-247, 2004.
97. Xing, Da; Gao, Xuejuan: Single cell analysis of low-power laser irradiation-induced activation of signaling pathway in cell proliferation *Biophotonics and Immune Responses II*. Edited by Chen, Wei R.. Proceedings of the SPIE 6438, 64380E, 2007.
98. Xing, Da; Gao, Xuejuan; Wang, Fang: A mechanism of cell apoptosis by light irradiation *Biophotonics and Immune Responses*. Edited by Chen, Wei R. Proceedings of the SPIE, 6087, 97-107, 2006.
99. Yair Lampl, Justin A. Zivin, Marc Fisher, Robert Lew, Lennart Welin, Bjorn Dahlof, Peter Borenstein, Bjorn Andersson, Julio Perez, Cesar Caparo, Sanja Ilic, Uri Oron: Infrared Laser Therapy for Ischemic Stroke: A New Treatment Strategy. Results of the NeuroThera Effectiveness and Safety Trial-1 (NEST-1) *Stroke* 38,1843-1849, 2007
100. Yang WZ, Chen JY, Yu JT, Zhou LW: Effects of low power laser irradiation on intracellular calcium and histamine release in RBL-2H3 mast cells. *Photochem Photobiol* **83**, 979-984, 2007
101. Yousefi-Nooraie R, Schonstein E, Heidari K, Rashidian A, Pennick V, Akbari-Kamrani M, Irani S, Shakiba B, Mortaz Hejri SA, Mortaz Hejri SO, Jonaidi A. Low level laser therapy for nonspecific low-back pain. *Cochrane Database Syst Rev.* Iss.2:CD005107. 2008
102. Zhang, Y., S. Song, C.-C. Fong, C.-H. Tsang, Z. Yang and M. Yang: cDNA microarray analysis of gene expression proteins in human fibroblast cells irradiation with red light. *J. Invest. Dermatol.* 120, 849-857, 2003