

Wirkung von sichtbarem Licht auf einige Zell- und Immunparameter

TAMARA KUBASOVA¹, MAGDOLNA HORVÁTH¹, KATALIN KOCSIS¹ und MÁRTA FENYŐ²

¹Frédéric Joliot-Curie Nationales Forschungsinstitut für Radiobiologie und Radiohygiene und ²Bioptron Health Centre Ltd., Budapest, Ungarn

Zusammenfassung In dieser Studie wurde die biologische Wirkung von sichtbarem Licht mit niedriger Energiedichte untersucht. Die Effekt von diffusem (DL) und linear polarisiertem (LPL) Licht wurden in *in vitro*- und *in vivo*-Modellen miteinander verglichen.

in vitro-Experimente wurden an humanen Lymphozyten durchgeführt, um deren Fähigkeiten zur Blastentransformation und Rosettenbildung zu untersuchen. Sowohl bei DL- als auch bei LPL-Licht erhöhte sich die Anzahl der in Blasten transformierten Zellen, und zwar auch in einer Lymphozytenkultur ohne PHA, und bei der Rosettenbildung von T-Lymphozyten wurde ein Rückgang verzeichnet. Die Wirkung von LPL war ausgeprägter.

Die *in vivo*-Exposition der tumortragenden Milz von Mäusen mit DL und LPL verursachte das Auftauchen von Faktoren in deren Serum, welche die *in vitro*-Inkorporation von [³H]-Thymidin in von nicht bestrahlten Tieren gewonnenen Tumorzellen hemmte. In einer anderen Experimentreihe wurden tumortragenden Tieren nach der Bestrahlung ihrer Milz mit LPL Serumproben entnommen. Nach der Verabreichung dieser Seren an eine andere Gruppe von nicht bestrahlten tumortragenden Mäusen konnte ein Rückgang der Mitose des Aszites-Tumors beobachtet werden.

Die Applikation von sichtbarem (perfekt linear polarisiertem) Licht zur Stimulation der humanen immunkompetenten Zellen und klinische Versuche mit der extrakorporalen Bestrahlung von Blut zur Förderung der natürlichen Resistenz eines immunsuppressiven Organismus werden empfohlen.

Schlüsselwörter: [³H]-Thymidin, Aszites-Tumor, Blastentransformation, Humanlymphozyten, Mitoseindex, Rosettenbildung, Serumbehandlung, Milzbestrahlung, sichtbares Licht.

Einleitung

In den frühen 1980er Jahren wurde die Hypothese aufgestellt, dass durch Laserlicht im sichtbaren Spektrum induzierte Veränderungen in der Zellmembran eine wichtige Rolle bei der Förderung der Wundheilung spielen¹. Diese biostimulierende Wirkung von Laserlicht wird dessen polarisierten Charakter zugeschrieben. Ähnliche biostimulierende Effekte konnten auch mit polarisiertem Licht erreicht werden. So wurde die durch polarisiertes Licht induzierte verbesserte Wundheilung durch die Vermehrung von Immunproteinen im Exsudat von Wunden erklärt². Positive biologische Wirkungen von sichtbarem Licht wurden in großem Umfang in der Chirurgie, Gynäkologie, Rheumatologie und Dermatologie festgestellt³⁻⁵.

Während des letzten Jahrzehnts wurden auf der Zellebene beobachtete Daten zur biologischen Wirkung von sichtbarem Licht gesammelt⁶⁻¹². Außerdem wurden Veränderungen an der Zelloberfläche festgestellt: Die Behandlung von kultivierten humanen Fibroblasten mit Laserlicht, diffusem Licht oder polarisiertem Licht verursachte die Akkumulation von negativen Ladungen in unterschiedlichen Ausmaßen^{13,14}.

Es gibt jedoch auch einige Ergebnisse, die hierzu im Widerspruch stehen und gegenteilige Wirkungen beschreiben. Mehrere Autoren fanden heraus, dass sichtbares Licht eine hemmende Wirkung auf das Zellwachstum^{7,12} und die Stimulation von humanen Lymphozyten hatte⁹. Im Kontrast hierzu wiesen andere wiederum die biostimulierende Wirkung von sichtbarem Licht niedriger Intensität auf die Proliferation von HeLa-Zellen⁶ oder auf die Beschleunigung des Wachstums von Ehrlich-Tumoren nach¹¹. Darüber hinaus wurde in verschiedenen Tumorzellen eine erhöhte Fähigkeit zur Bildung von Kolonien *in vitro* gefunden¹⁵. Diese Ergebnisse waren der Grund für die Fortführung der Studien zur Bestimmung der Reaktion auf die Lichtbestrahlung von Zellen, einschließlich von immunkompetenten Zellen.

Postadresse: Dr. Tamara Kubasova, Frédéric Joliot-Curie National Research Institute for Radiobiology and Radiohygiene, Budapest, PO Box 101, H-1775 Ungarn.

Eingang : 4. Juli 1994; Abnahme: 2. Februar 1995.

Das Ziel der aktuellen Experimente war die Beantwortung der Frage, ob die Exposition von immunkompetenten Zellen mit Licht zu Veränderungen des Funktionszustands und als Folge davon der Stimulation des Immunsystems führt, was sich in einer erhöhten Immunabwehr des Organismus ausdrückt. Biostimulation durch diesen physikalischen Faktor würde einen besonderen praktischen Wert in Fällen von immunsuppressiven Systemen (maligne Prozesse, Radiotherapie usw.) besitzen. Es wurden Ansätze mit vielversprechenden Ergebnissen bei Laser-^{2,10} und UV-Bestrahlung¹⁶⁻¹⁹ dokumentiert.

Daher wurden in einer unserer Experimentreihen die Wirkungen von diffusem Licht (DL) und linear polarisiertem Licht (LPL) mit einer Energiedichte von 4 J/cm² auf den Funktionszustand von Humanlymphozyten untersucht.

Die andere Reihe umfasste *in vitro*- und *in vivo*- Experimente an tumortragenden Mäusen, deren Milz DL und LPL ausgesetzt wurde. Nachdem dieser Gruppe entnommene Seren einer anderen Gruppe von Mäusen verabreicht wurden, wurden in der zweiten Gruppe die Proliferationsparameter von Aszites-Tumoren bestimmt.

Materialien und Methoden

Separation von Humanlymphozyten

Der Funktionszustand von nicht bestrahlten (Kontrollgruppe) und mit Licht bestrahlten Humanlymphozyten wurde *in vitro* untersucht. Die Wirkung von Licht auf die Fähigkeit zur Blastentransformation von Zellen wurde anhand von morphologischen Kriterien festgestellt. Änderungen an der Oberfläche von T-Lymphozyten wurden durch einen Rosettenbildungstest ermittelt.

Gesunden Spendern und Patienten mit kleinzelligem Lungenkarzinom wurde Blut entnommen und heparinisiert. Die Lymphozyten wurden durch die Zentrifugierung der Blutproben mit einem Ficoll-Uromiro-Gradienten der Dichte 1,077 g/mL separiert. Der Gradient wurde vorbereitet durch die Mischung von Ficoll 400 (Pharmacia, Uppsala, Schweden) und Uromiro 60% (Bracco, Mailand, Italien), um über eine Vorratslösung mit einer Dichte von 1,120 g/mL zu verfügen. Dazu wurden 33,7 g Ficoll 400 in 250 mL warmen (50-60°C) destilliertem Wasser gelöst, dann wurden 88,3 mL Uromiro 60% hinzugefügt, und das Endvolumen von 340 mL wurde durch Hinzufügen von destilliertem Wasser vorbereitet.

Für die Experimente wurde die Vorratslösung auf eine Dichte von 1,077 g/mL verdünnt. Die Lymphozyten wurden unter isosmotischen Bedingungen und bei einem pH-Wert von 7,2-7,3 separiert. Nach drei Spülungen wurden die Zellen in Parker-Medium 199 (Nationalinstitut für Hygiene, Budapest, Ungarn) erneut suspendiert und in den Blastentransformations- und Rosettenbildungstests verwendet.

Lichtbehandlung von Humanlymphozyten

Die Zellen wurden mit DL und LPL behandelt. Dazu wurde eine für experimentelle Zwecke geeignete Halogenlampe (Bild-system AB, Malmö, Schweden) verwendet, die ein breites Spektrum von 400 bis 800 nm ausstrahlt. Das LPL wurde mit Hilfe eines Polarfilters (Typ HN 38 nach E. Käsemann; der dichroitische Polarisator wurde in Schweden hergestellt) erzeugt. Der Verlust der Energiedichte durch den Filter wurde durch elektronische Steuerung kompensiert, so dass die für DL und LPL erzeugte Energiedichte gleich hoch war. Zellsuspensionen von 1 mL Volumen (1 x 10⁷ Zellen/mL) wurden in Petrischalen von 3,5 cm Durchmesser dem Licht ausgesetzt, wobei der Abstand zwischen dem Polarfilter und dem Boden der Petrischalen 6,5 cm betrug¹⁴. Auf diese Weise wurde die gesamte Oberfläche der Petrischale dem Lichtstrahl der polarisierten bzw. diffusen Lichtquelle ausgesetzt. Die Höhe der Nährlösung betrug 2,5 mm. Während der Bestrahlung wurden die Abdeckungen entfernt. Die Bestrahlungsdauer betrug 7 Minuten. Die Stromleistung wurde für den Boden der Petrischalen mit einem Stromzähler gemessen (Quantronix Modell 502, Smithtown, NY, USA), und die gemessenen Werte wurden durch die Oberfläche des bestrahlten Bereichs dividiert, um die Leistungsdichte zu ermitteln. Die Leistungsdichte wurde unter Berücksichtigung der Bestrahlungsdauer berechnet. Unter diesen Bedingungen betrug sie 4 J/cm².²⁰

Bestimmung der Fähigkeit zur Blastentransformation von Humanlymphozyten

In den Experimenten zur Blastentransformation wurden Lymphozyten von drei gesunden Probanden untersucht. Es handelte sich um junge männliche Spender im Alter von 21-23 Jahren. Die DL und LPL exponierten und die nicht exponierten Lymphozytensuspensionen wurden bei 37°C, 5% CO₂, in Eagle MEM Medium unter Zusatz von 10% autologem Serum, 2 mol/L L-Glutamin, 100 IU/mL Penicillin und 100 µg/mL Streptomycin inkubiert. Ein Teil der Zellsuspensionen wurde mit 5 µg/mL PHA (Difco, Detroit, MI, USA) stimuliert, der andere Teil wurde ohne PHA kultiviert. Die Blastentransformation von Lymphozyten wurde anhand von morphologischen

Kriterien durch die Untersuchung unter einem Lichtmikroskop ermittelt. Für jeden Fall erfolgte eine dreifache Parallelbestimmung, und für jeden Zeitpunkt wurden 500 Zellen untersucht. Die entsprechenden Ergebnisse wurden zusammengefasst und statistisch analysiert (Tab. 3).

Rosettenbildungstest bei humanen T-Lymphozyten

Beim Rosettentest wurden T-Lymphozyten von vier gesunden Probanden und vier Patienten mit Lungentumoren untersucht. Die gesunden und onkologischen Spender waren Männer mittleren Alters zwischen 47 und 65 Jahren.

Die Fähigkeit der humanen T-Lymphozyten zur Bildung von Rosetten mit Schaferythrozyten wurde mit einer bereits beschriebenen Methode untersucht²¹. Im Rahmen unserer Tests war eine Rosette ein mindestens drei Erythrozyten bindendes Lymphozyt. Für alle Messungen wurden drei bis vier Parallelmessungen durchgeführt, für jede Variante und für jeden Zeitpunkt wurden 500 Zellen gezählt und der Anteil der rosettenbildenden Zellen bestimmt. Die entsprechenden Ergebnisse wurden zusammengefasst und statistisch analysiert (Tab. 4).

In Vitro-Untersuchung der Wirkung der Seren auf die [³H]-TdR-Inkorporation

Erwachsene männliche DBA₂-Mäuse (LATI, Gödöllő, Ungarn) mit einem Gewicht von 22-25 g wurden in sechs Gruppen von 10-12 Tieren eingeteilt (Tab. 1). Die Mäuse in den Gruppen II-V wurden operiert, um die Milz zu erreichen. Serumproben wurden von den Gruppen I-V entnommen und am 1., 3. und 7. Tag nach der Operation gepoolt. Das bedeutet, dass jedes Mal drei bis vier Tiere getötet und ihre Seren gepoolt wurden. Den Tieren in Gruppe IV wurden Aszites-Tumorzellen entnommen. In diese Zellen wurde in Anwesenheit der entsprechenden Serumproben [³H]-TdR (Amersham, Buckinghamshire, England) *in vitro* inkorporiert.

Fünf Tage alte P388-Aszites-Tumorzellen wurden in einer Konzentration von 0,5 x 10⁶ Zellen/mL Parker-Medium 199 verwendet. Das Endserum wurde 1:10 verdünnt. Die Markierung mit einem DNA-Vorläufer (1 µCi/mL, bei 37°C, 5% CO₂) dauerte 6 h. Nach dem Herausspülen des ungebundenen [³H]-TdR wurde in einem Flüssigkeitsszintillationsspektrometer die Höhe der in die Tumorzellen inkorporierten Radioaktivität gemessen. Die Ergebnisse wurden als Prozentwert der Werte für Gruppe V ausgedrückt, Durchschnittswerte ± Standardabweichung s_A. Gruppe V diente als Kontrollgruppe, in der die Tiere lediglich operiert wurden.

Tab. 1 Murine Gruppen in den [³H]-TdR-Inkorporationstests

Gruppennummer	Tumor*	Behandlung			Kommentar
		Operation**	LPL***	DL***	
I	+				Serumspender
II	+	+			Serumspender
III	+	+	+		Serumspender
IV	+	+		+	Serumspender
V		+			Serumspender
VI	+				Tumorzellenspender

*Intraperitoneale Injektion von murinen P388-Aszites-Tumorzellen (4 x 10⁶ lebende Zellen in 0,5 mL physiologischer Kochsalzlösung).

**Einen Tag nach der Einimpfung mit Tumorzellen wurde unter Narkose eine Operation durchgeführt, um die Milz zu erreichen.

***Die Behandlung der Milz mit DL und LPL mit einer Energiedichte von 4 J/cm².

In vivo-Untersuchung der Wirkung der Seren auf die Mitose

Die am 7. Tag nach der Operation von 10 Mäusen in den Gruppen I und II entnommenen Serumproben wurden gepoolt und bis zur Verwendung bei -20°C aufbewahrt (Tab. 2). Dieser Zeitpunkt wurde auf der Grundlage unseres früheren *in vitro*-Experiments gewählt, welches gezeigt hatte, dass die höchsten Inhibitionsindizes für die [³H]-TdR-Inkorporation in Anwesenheit der Seren des 7. Tages erreicht wurden (Abb. 1). P388-Aszites-Tumorzellen (4 x 10⁶ Zellen/mL) wurden bei 37°C, 5% CO₂, mit den Seren der Gruppen I und II (Endverdünnung 1:10) vorinkubiert, dann den Mäusen der Gruppen IVA und IVB in 0,5-mL-Volumina intraperitoneal injiziert. Gruppe IVC erhielt nur Tumorzellen von Gruppe III ohne weitere Serumbehandlung.

Die tumortragenden und serumbehandelten Mäuse wurden am 1., 3. und 7. Tag getötet. Es waren also für jeden Zeitpunkt und jede Behandlung drei bis vier Tiere in einer Untergruppe betroffen. Die Abstriche der Aszites-Tumore wurden vorbereitet, fixiert und gemäß May-Grünwald-Giemsa gefärbt. Durch die visuelle Untersuchung in einem Lichtmikroskop mit 1500 Tumorzellen wurden die Zellen in Mitose (Prophase, Metaphase, Anaphase und Telophase) gezählt, und die Mittelwerte \pm Standardabweichung s_A der Mitoseindizes wurden ermittelt und in Prozentwerten ausgedrückt.

Da die signifikant höhere Wirksamkeit von LPL im Vergleich zu DL bereits nachgewiesen war¹⁴, wurde in unseren Experimenten mit tumortragenden Mäusen *in vivo* nur LPL zur Behandlung verwendet.

Ergebnisse

Überprüfung der Fähigkeit zur Blastentransformation von Humanlymphozyten

In Tab. 3 sind die Ergebnisse der morphologischen Bewertung von DL und LPL ausgesetzten kultivierten Humanlymphozyten zusammengefasst. Unsere Ergebnisse zeigen, dass in Anwesenheit von PHA für die Kultivierungsdauern von 8 und 24 h ein Unterschied in der Fähigkeit zur Blastentransformation von Lymphozyten zwischen Kontrollgruppe und LPL ausgesetzten Kulturen festgestellt wurde. Die intensivierende Wirkung von LPL (0,35) und DL (0,23) wurde für ohne PHA kultivierte Proben nach 24 h im Vergleich zur entsprechenden Kontrollprobe beobachtet. Die Wirkung blieb nach 48 h erhalten, während die Kontrollwerte unverändert blieben.

Tab. 2 Murine Gruppen in den Mitosetests

Gruppen- nummer	Tumor*	Behandlung		Kommentar
		Operation**	LPL***	
I		+		Serumspender A
II	+	+	+	Serumspender B
III	+			Tumorzellenspender
IV	+			Empfänger A
V	+			Empfänger B
VI	+			Empfänger C*

*Empfänger C erhielten nur Tumorzellen von Gruppe III ohne weitere Serumbehandlung.

Inhibition index as % of control	Inhibitionsindex als % der Kontrollgruppe
Time after exposure (Days)	Zeit nach Exposition (in Tagen)

Abb. 1 Wirkung von Seren, die am 1., 3. und 7. Tag nach der Behandlung der verschiedenen Mausgruppen im Anschluss an die *in vitro*-Inkorporation von [³H]-Thymidin in die Tumorzellen von nicht behandelten Tieren entnommen wurden. Die inhibitorische Wirkung der Serumproben wird als prozentualer Anteil der Kontrollgruppe ausgedrückt. Durchschnittswerte \pm Standardabweichung (Muster1) P388; (Muster2) P388 + Operation; (Muster3) P388 + Operation + LPL; (Muster4) P388 + Operation + DL.

Rosettenbildungstest bei humanen T-Lymphozyten

Die Fähigkeit von humanen T-Lymphozyten zur Bildung von Rosetten mit Schaferythrozyten wurde nach der Bestrahlung der Zellen mit DL und LPL untersucht. Die Zellen stammten von gesunden Personen und unter Lungenkarzinom leidenden Patienten (Tab. 4). Wir fanden heraus, dass beide Arten von sichtbarem Licht die Anzahl von rosettenbildenden Lymphozyten reduzierten. Die Anteile für LPL und DL waren 0,51 bzw. 0,55, während er in der Kontrollgruppe 0,72 betrug. Eine ähnliche Tendenz wurde für onkologische Patienten festgestellt: Die Anteile der rosettenbildenden Zellen waren für LPL und DL 0,52 und 0,60, im Vergleich zu 0,68 als Wert der Kontrollgruppe.

Inkorporation von [³H]-TdR in die Tumorzellen

Serumproben wurden am 1., 3. und 7. Tag nach der Lichtbehandlung entnommen (Tab. 1). Wie untersuchten die Wirkung der Seren auf die *in vitro*-Inkorporation von [³H]-TdR in die Tumorzellen von nicht behandelten Mäusen (Abb. 1). Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Gruppe I entnommenen Seren während der gesamten Beobachtungsperiode einen inhibitorischen Effekt von 20-25% erzeugten. Die am 1. Tag aus den anderen drei Gruppen entnommenen Serumproben hemmten die Inkorporation des DNA-Vorgängers in einem größeren Ausmaß: Die Inhibitionsindizes schwanken zwischen 42 und 52%. Es gab praktisch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Wirkungen der Seren des 3. Tages aller Gruppen: die Durchschnittswerte betragen zwischen 27 und 40%. Für die Serumproben des 7. Tages war die inhibitorische Wirkung der den Gruppen I und II entnommenen Seren ähnlich; d. h., die Indizes betragen ungefähr 20%. Eine beachtliche Inhibition wurde jedoch in den Gruppen III und IV festgestellt (III und IV). Die Wirkung von DL schien ausgeprägter zu sein.

Tab. 3 Blastentransformation von Licht ausgesetzten Humanlymphozyten

Dauer der Kultivierung (h)	Behandlung	Anteil (a) von transformierte Zellen in Anwesenheit von PHA	Berechnete z -Statistik	P-Wert von α für s_A (*) zwischen den jeweiligen Anteilen	Anteil (a) von transformierte Zellen ⁹ in Abwesenheit von PHA	Berechnete z -Statistik	P-Wert von α für s_A (*) zwischen den jeweiligen Anteilen
8	Keine (Kontrolle)	0.17					*
	LPL	0.20	2.12	*P=0.042	0.13		
	DL	0.19	1.43	P=0.144	0.20	1.58	P=0.115
24	Keine (Kontrolle)	0.27					*
	LPL	0.34	4.17	*P=0.0001	0.15		*
	DL	0.27			0.35		
48	Keine (Kontrolle)	0.47			0.23		
	LPL	0.46			0.15		*
	DL	0.44	1.67	P=0.099	0.38		*
					0.35		*

Daten aus drei getrennten Experimenten mit Beobachtungen von jeweils 500 Zellen wurden gepoolt. Die angenommenen Differenzen zwischen den Mittelwerten der Kontrollgruppe und der exponierten Populationen wurden mit der normal verteilten z-Statistik auf ihre Signifikanz geprüft, d. h., mit dem Quotienten aus $\hat{P}_{\text{Kontrolle}} - \hat{P}_{\text{exponiert}}$ und der Standardabweichung der Differenz der binomialen Proportionen. Das statistische Signifikanzniveau lag bei $\alpha = 0,005$.

Tab. 4 Rosettenbildungstest bei humanen T-Lymphozyten

Behandlung	Anteil der Rosetten bildenden Zellen		Berechnete z -Statistik	P-Wert von α für s_A (*) zwischen den jeweiligen Anteilen
	Gesunde Probanden	Patienten mit Lungentumor		
Keine (Kontrolle)	0.72	0.68		
LPL	0.51	0.52		
DL	0.55	0.60	5.27	P<0.0001

Daten aus vier getrennten Experimenten mit Beobachtungen von jeweils 500 Zellen wurden gepoolt. Für Hinweise zu den Bedingungen und Kriterien der statistischen Analyse siehe Fußnote zu Tabelle 3.

Mitose

Am 7. Tag nach der Operation wurden den Gruppen I und II Serumproben entnommen (Tab. 2). Gruppe III entnommene P388-Tumorzellen wurden mit diesen Serumproben bei 37°C, 5% CO₂, vorinkubiert. Die

vorinkubierten Zellen wurden den Gruppen IVA und IVB intraperitoneal injiziert. An den folgenden 5 Tagen erhielten die Gruppen IVA und IVB jeden Tag 0,1 mL des entsprechenden Serums. Die Mitoseindizes der wachsenden Tumoren wurden anhand von am 1., 3. und 7. Tag präparierten Abstrichen bestimmt (Abb. 2). Am 1. Tag waren die für die Gruppen IVA und IVC gemessenen Werte gleich (ungefähr 21%). Am 3. und 7. Tag sanken die Mitoseindizes jeweils schrittweise auf 14% und 11%. Der Rückgang der Mitoseindizes in Gruppe IVB im Verhältnis zu den Gruppen IVA und IVC wurde über die gesamte Beobachtungsperiode festgestellt, d. h., 17, 11 und 8,5% am 1., 3. und 7. Tag.

Diskussion

Der positive Effekt von sichtbarem Licht auf die Wundheilung wurde bereits veröffentlicht^{3,22}. In unseren vorliegenden Experimenten wurde eine Lichtenergiedichte von 4 J/cm² eingesetzt, da in der aktuellen klinischen Praxis bei diesem Wert eine Förderung des Heilungsprozesses bei Verbrennungen, Ulcera cruris (Beingeschwüren) und anderen chronischen epithelialen Erkrankungen festgestellt wird.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass sich sichtbares Licht auch bei einer Exposition *in vitro* auf die an der Entwicklung der Immunantwort beteiligte Zellen auswirkt. So nahm die Fähigkeit zur Blastentransformation von Humanlymphozyten zu, wie durch morphologische Untersuchungen von ohne PHA inkubierten Kulturen nachgewiesen werden konnte. Die Inhibition der Induzierbarkeit von Lymphozyten durch Mitogene ist in der Literatur bereits beschrieben⁹. Einander widersprechende experimentelle Ergebnisse sind vermutlich auf das Alter der Kulturen zur Zeit der Untersuchung zurückzuführen. Die Ergebnisse zeigen außerdem, dass die Bestrahlung mit LPL eine ausgeprägtere stimulierende Wirkung verursachte als die Bestrahlung mit DL.

Die Reaktion von Lymphozyten auf LPL und DL kann anhand der Rosettenbildung mit Schaferthrombozyten gemessen werden. Unsere Hypothese lautet, dass die Ursache für dieses Phänomen die lichtinduzierte Akkumulation von negativen Spannungen an der Oberfläche der Lymphozyten¹⁴ ist, die die Bindung von negativ geladenen roten Blutkörperchen hemmt.

Die Milz spielt im Immunsystem eine wichtige Rolle. Die Bestrahlung der Milz von Mäusen *in vivo* mit Licht verursachte die Freisetzung von einem oder mehreren Mediatoren in das Serum, der/die die *in vitro*-Inkorporation von [³H]-TdR in von nicht bestrahlten Tieren stammenden murinen Aszites-Tumorzellen hemmte(n). Aufgrund von Voruntersuchen kann TNF- α als möglicher Inhibitionsfaktor ausgeschlossen werden.

Die nächste Reihe von Experimenten zeigte, dass der Mittelwert des Mitoseindex in Serum von mit LPL behandelten Tumoren im Vergleich zu nicht exponiertem Serum und behandeltem Serum zurückging.

Andere Autoren beschrieben die Freisetzung von Substanzen durch Humanlymphozyten nach der Bestrahlung mit UV-Licht von 254 nm Wellenlänge¹⁶. Zur Feststellung der möglichen Mechanismen der stimulierenden Wirkung wurde humanen Knochenmarkszellen mit UV-Licht bestrahltes mit Leukozyten angereichertes Plasma hinzugefügt. Die Autoren beobachteten einen Anstieg der koloniebildenden Aktivität¹⁸ und die Stimulation der phagozytischen Aktivität von Monozyten und Granulozyten in der gesamten Menge von gemischtem Blut, das aus einer mit UV-Licht beleuchteten Probe und unbehandeltem Blut vom gleichen Spender zusammengesetzt war¹⁷.

Die *in vitro*-Bestrahlung von Blut mit UV-Licht und die anschließende Retransfusion zur Stimulation der regenerativen Prozesse in verschiedenen pathologischen Fällen ist in der klinischen Praxis bereits bekannt^{19, 23-25}. Zusammen mit positiven Erfahrungen in der Therapie wurde auch eine durch Bestrahlung mit UV-Licht induzierte Suppression der natürlichen Killerzellen beschrieben²⁶. Auf der Grundlage von *in vivo*-Experimenten mit UV-Licht, sichtbarem Licht und Infrarot-Licht stellten andere Autoren die Hypothese auf, dass Mediatoren eine entscheidende Rolle bei der Signalweiterleitung von der Haut zu den peripheren Blutzellen spielen²⁷. Als wahrscheinlichste Kandidaten für die Herstellung der Verbindungen wurden IFN- γ , Granulozyt-/Monozyt-CSF und -TNF genannt. Nach der HeNe-Laserbestrahlung von mononukleären Zellkulturen in humanem peripherem Blut konnte ein vorübergehender Anstieg von verschiedenen Zytokinen auch *in vitro* gemessen werden²⁸.

In unseren Experimenten konnten wir zeigen, dass die Wirkung von LPL auf einige untersuchte Parameter ausgeprägter als diejenige von DL ist. Auf der Grundlage von früher veröffentlichten Ergebnissen und unserer eigenen Daten stellen wir die Hypothese auf, dass sichtbares Licht die Freisetzung von einigen biologischen Mediatoren (Zytokinen) der immunkompetenten Zellen induziert und auf diese Weise die natürliche Resistenz eines Organismus stimuliert. Ähnlich zur UV-Bestrahlung und ohne die negative Wirkung der unterdrückten Aktivität von natürlichen Killerzellen wird die Anwendung von sichtbarem Licht, vorzugsweise LPL, für die extrakorporale Exposition von humanem Blut empfohlen.

Danksagungen

Unsere aktuellen Arbeiten wurden von Márta Fenyő, die das hypothetische Modell der Biostimulation bereits im Jahre 1982 vorschlug, begonnen und koordiniert. Die Finanzierung wurde von der Ungarischen Stiftung für die Behandlung von Immunkrankheiten mit Licht bereitgestellt. Darüber hinaus danken wir Iván Bojtor, der die statistische Analyse der experimentellen Daten durchführte, für seine Hilfe.

Literaturangaben