

# Laserakupunktur

## 2. Mitteilung: Molekular- und photobiologische Grundlagen der Low-Level-Laser-Therapie (LLLT)

R. Muxeneder

**ZUSAMMENFASSUNG:** In der vorliegenden Arbeit werden gesicherte molekular- und photobiologische Grundlagen der LLLT beschrieben. Als morphologisches Hauptsubstrat der LLL-Wirkung im lebenden Organismus stellt sich dabei die durch Photonen induzierte ATP-Synthese dar.

*Schlüsselwörter:* Laserakupunktur, Low-Level-Laser-Therapie

**Laser-acupuncture. 2<sup>nd</sup> communication: molecular and photobiological basis of Low-Level-Laser-Therapy (LLLT)**

**SUMMARY:** In this work scientifically proven molecular and photobiological basics of Low-Level-Laser-Therapy (LLLT) are described. As a morphological main substrate of LLL-effects in living organisms ATP-synthesis induced by photons is shown.

*Key words:* Low-Level-Laser-Therapy, molecular and photobiological basics

### Einleitung

Die LLLT wird als eine rein physikalische Behandlungsform angesehen. Eine erfolgreiche LLLT setzt neben dem Verständnis des Funktionsprinzips und des Systemaufbaus eines LLL auch die Kenntnis der molekular- und photobiologischen Grundlagen voraus.

Bereits 1922 wurde von Gurwitsch (1959) zum ersten Mal Licht bei der Zellteilung von Zwiebelwurzelzellen als mitogenetische Strahlung vermutet und postuliert. 1975 konnte dieses Postulat von deutschen Biophysikern unter der Leitung von Popp (1984) mit Hilfe modernster Labormethoden bewiesen werden.

Die vorliegende Arbeit soll einen Überblick über die derzeit gesicherten Fakten der molekular- und photobiologischen Wirkungen der LLLT im behandeltem Körpergewebe aufzeigen und so zu einer Entmystifizierung dieser Therapiemethode führen.

### Molekular- und photobiologische Grundlagen

Verfolgt man den Weg des Lichtes in den Körperzellen, so erkennt man, dass die Zelle im Laufe der Evolution eigene Strukturen ausgebildet hat, die prädisponiert sind, elektromagnetische Impulse (= Photonen) aufzunehmen, über einen längeren Zeitraum in Form eines Hohlraumresonators verlustfrei zu speichern (Abb. 1) und schließlich bei Bedarf an den Ort ihres Wirkens weiter zu leiten.

Die helikale Struktur der Proteine, insbesondere der DNA, wirkt als Hohlraumresonator bzw. als Hohlraumspeicher. Biologische Systeme sind demnach in der Lage, zugeführte Photonen in einer Größenordnung von Sekunden bis Stunden zu speichern.

Diese von der Zelle ausgebildeten Strukturen werden hauptsächlich dem Zellkern und dem Cytoskelett zugeordnet.

Van Wijk und van Aken (1992) stellten fest, dass Zellkerne gegenüber dem Zytoplasma ca. 75 Prozent der zelleigenen Biophoto-

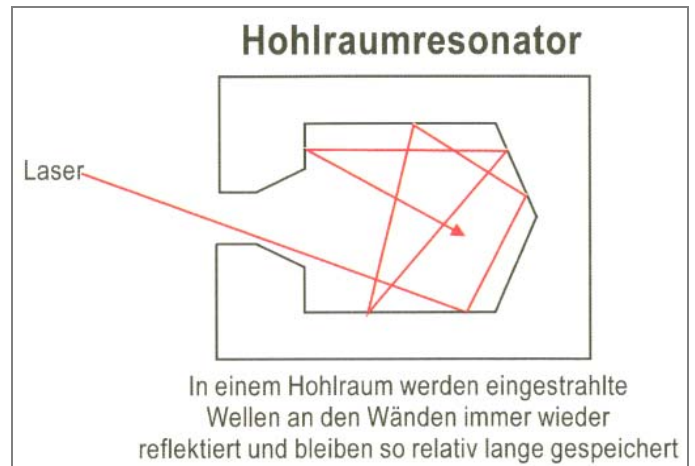


Abb. 1: Schematisch-funktionelle Darstellung eines Hohlraummodells

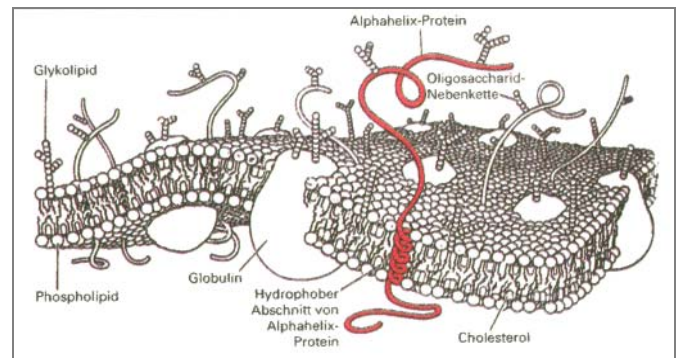


Abb. 2: Helikale Strukturen der Membranproteine

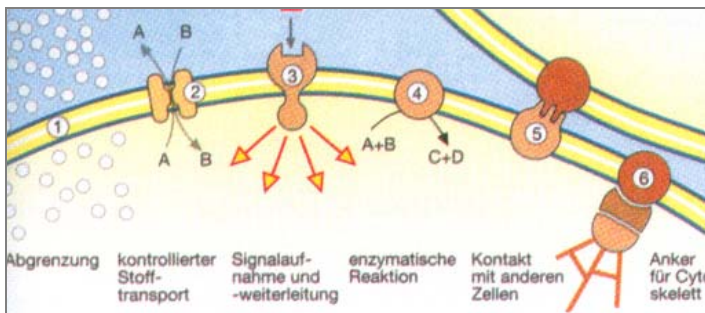
nenstrahlung abgeben. Isoliertes Chromatin lieferte noch höhere Werte als der isolierte Zellkern selbst. Reine DNA hingegen strahlt überhaupt nicht. Die Strahlungsaktivität entsteht im Zusammenhang und im Zusammenwirken von DNA und Histon-Strukturproteinen, welche die räumliche und strukturelle Anordnung der DNA im Chromatin organisieren.

Bevor anregende Photonen im Zellinneren bzw. im Zellkern gespeichert werden können, müssen sie die relativ dichte Barriere der Zellmembran und das optisch dichte Medium des Zytoplasmas passieren.

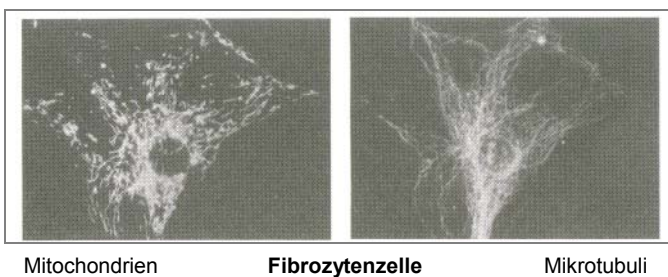
Biologische Membranen bestehen aus einer kontinuierlichen etwa 6 nm dicken Lipid-Doppelschicht, in der Proteine und teilweise auch Kohlenhydrate eingebunden sind (Abb. 2).

Alpha-helix-Membranproteine durchspannen als integrale Membranproteine die Lipid-Doppelschicht einfach oder mehrfach. Ihre Fortsätze an der Zelloberfläche dienen als Antennen für elektromagnetische Signale. Die Funktion dieser biologischen Membranen und der darin eingebetteten Strukturen werden in Abb. 3 graphisch dargestellt.

1 Abgrenzung und Isolierung von Zellen und Zellorganellen und damit verbunden mechanischer und chemischer Schutz gegenüber der Umgebung.



**Abb. 3: Biologische Funktion von Zellmembranen**



Mitochondrien      Fibrozytenzelle      Mikrotubuli

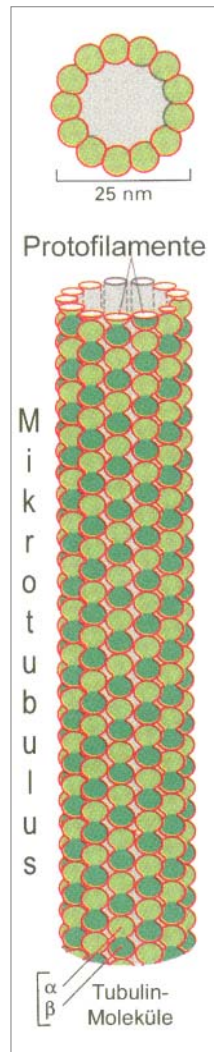
**Abb. 4: Beziehungen zwischen Mitochondrien und Mikrotubuli**

- 2 Kontrollierter und selektiver Stofftransport zur Aufrechterhaltung der Homöostase.
- 3 Aufnahme von extrazellulären Signalen und ihre Weiterleitung an das Zellinnere bzw. ebenso die Abgabe von zelleigenen Signalen an die Umgebung.
- 4 Enzymatische Katalyse von Reaktionen, z. B. die oxidative Phosphorylierung (= Atmungskette) und die Photosynthese zur Energieumwandlung.
- 5 Verknüpfung mit der extrazellulären Matrix und Interaktion mit anderen Zellen zur Fusion und Gewebebildung.
- 6 Ankerbildung für das Cytoskelett; dient dem Erhalt von Zell- und Organellenstruktur, ermöglicht Bewegungsvorgänge.

In der Zelle selbst übernehmen die zum Cytoskelett gehörenden Mikrotubuli den Hauptanteil im inter- und intrazellulären Stoff- und Informationsaustausch.

Die Mikrotubuli sind mit Aktin und Intermediärfilamenten an der Ausbildung der Zellgestalt beteiligt.

Mikrotubuli dienen als Leitschiene für den Transport von Zellorganellen. In Verbindung mit assoziierten Proteinen, wie Dynein oder Kinesin, leisten Mikrotubuli mechanische Arbeit wie z. B. beim Transport von Mitochondrien, beim Bewegen von Cilien (Lungen, Darmepithel) von Flagellen und Spermien. Eine Hauptrolle spielen die Mikrotubuli bei der Zellteilung durch den Aufbau des Zentrosoms.



**Abb. 5: Schematischer Aufbau eines Mikrotubuli**

Abbildung 4 zeigt die enge Verknüpfung von Mikrotubuli und Mitochondrien. Links eine lichtmikroskopische Aufnahme der kettenförmig organisierten, länglichen Mitochondrien einer lebenden Säugerzelle in Kultur.

Die Zelle wurde mit einem Vital-Fluoreszenz-Farbstoff (Rhodamin 123), der spezifisch Mitochondrien markiert, angefärbt. Rechts die Immunfluoreszenzmikroskopische Aufnahme der selben Zelle (nach der Fixierung), gefärbt mit fluoreszierenden Antikörpern, welche sich selektiv an Mikrotubuli binden. Grundbausteine der röhrenförmigen Mikrotubuli sind eng gekoppelte Polypeptide  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tubulin, zwei globuläre Proteine, die sich zu fadenförmigen Protofilamenten zusammenlagern.

Dreizehn Protofilamente bilden einen ringförmigen Komplex, der durch weitere Polymerisation zu einer langen Röhre wächst (Abb. 5). Der Außendurchmesser dieser Röhre beträgt 25 nm.

Mikrotubuli dienen neben dem Transport von Zellorganellen (Mitochondrien) auch dem Transport von gelösten Stoffen in deren Hohlraum zu und von den Zellorganellen. Daneben besitzen Mikrotubuli optimale Lichtleitereigenschaften (Hammeroff et al. 1984).

Im Gegensatz zum technischen Lichtleiter (Abb. 6) leiten Mikrotubuli Photonen nicht in ihrem Lumen, sondern in ihrem Mantel aus Protofilamenten.

Treten beim technischen Lichtleiter neben dem Verlust von Polarisation und Kohärenz auch Energieverluste von ca. 50 Prozent auf, sind Mikrotubuli in der Lage, Licht verlustfrei in hochkohärenter Form zu leiten und zu speichern (Del Guidice 1984; Giese 1976).

Popp et al. (1988) sprechen in diesem Fall auch von sogenannten Biophotonen. Auf diese Art und Weise gelangen Photonen von der Zelloberfläche zu den Erfolgsorganen im Zellinneren (Abb. 7). Grundlage für diesen Photonentransport in der Zelle stellt die helikale Struktur der Protofilamente des Cytoskelettes dar.

Als Erfolgsorgan ist die Atmungskette in den Mitochondrien anzusehen (Abb. 10)

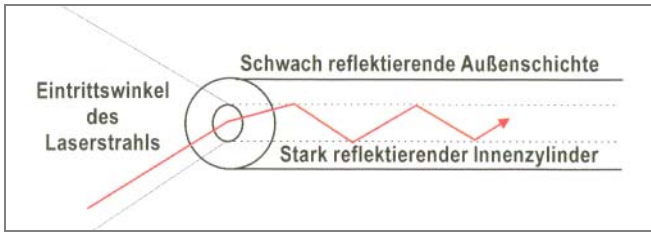


Abb. 6: Schematisch-funktionelle Darstellung eines technischen Lichtleiters

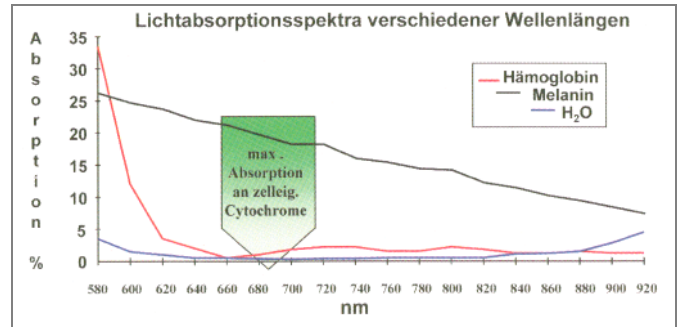


Abb. 8: Absorptionsverhältnisse im Gewebe gemessen an den körpereigenen Pigmenten, Hämoglobin, Melanin und Wasser bei verschiedenen Wellenlängen (Ambronn 1999).

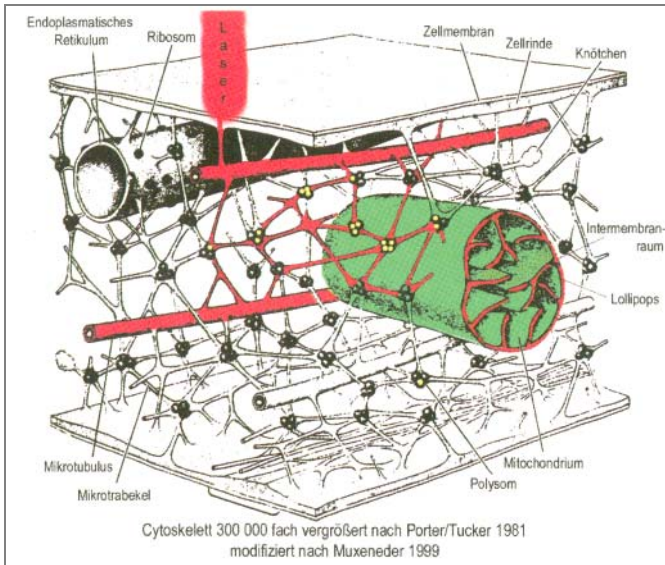


Abb. 7: Der Weg der Photonen im Zytoskelett der Zelle

Auf diesem Wege treten natürliche Barrieren der Zellen, wie eingelagertes Melanin, Hämoglobin und Wasser den Photonen entgegen (Abb. 8).

Abbildung 8 zeigt, dass in einem Wellenlängenbereich von 600-900 nm ein biologisches Absorptionsloch im Körpergewebe besteht, welches es zulässt, dass Licht dieses Wellenlängenbereiches tiefer ins Gewebe eindringen kann.

Abbildung 9 zeigt die Eindringtiefe von Licht verschiedener Wellenlängen in menschlicher Haut mit seiner prozentuellen Verteilung in Dermis und subcutanen Bindegewebe (Giese 1976). Dabei zeigt sich die Übereinstimmung mit den Absorptionskurven von Abbildung 8. Je höher der Wellenlängenbereich des Lichtes ist, desto geringer ist die Absorption am Melanin. Hämoglobin im Bereich unter 600 nm und Wasser im Bereich über 1000 nm begrenzen dieses natürliche Absorptionsloch im unteren und oberen Bereich.

Laut Karu (1987) liegen die Hauptphotoakzeptoren der Körperzellen lokalisiert an den Enzymen der Atmungskette in den Mitochondrien. Hauptlokalisationsort dieser Komponenten der Atmungskette ist die innere Mitochondrienmembran. In ihr sind drei Proteinkomplexe (Komplexe I, III und IV) integriert. Zusätzlich werden zwei bewegliche Überträgermoleküle (Ubichinon und Cytochrom c) und die dem Citratcyclus zugehörige Succinat-Dehydrogenase (Komplex II) der Atmungskette zugeordnet (Abb. 10).

Die Polypeptide der Atmungskette enthalten proteingebunden eine Reihe von verschiedenen Redox- Coenzymen wie FMN oder FAD

in den Komplexen I und II, Eisen- Schwefelzentren in I, II und III, Häm- Gruppen in den Komplexen I, III und IV.

- Komplex I NADH-Dehydrogenase (Ubichinon)  
1 FMN, 2 Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, 4-5 Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>;
- Komplex II Succinat-Dehydrogenase  
1 FAD, 1 Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, 1 Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>, 1Fe<sub>3</sub>S<sub>4</sub>,  
2 Ubichinon, 1 Häm b;
- Komplex III Ubichinol-Cytochrom c-Reduktase  
2 Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, 2 Häm b, 1 Häm c<sub>1</sub>;
- Komplex IV Cytochrom c-Oxidase, 2 Cu, 1 Zn,  
1 Häm a, 1 Häm a<sub>3</sub>;
- Komplex V H<sup>+</sup>-transportierende ATP-Synthase

Diese Redox-Coenzyme stellen funktionelle Antennenpigmente in den Zellen dar, werden durch Photonenzufuhr stimuliert und initiieren so die Funktion der Atmungskette. In der Atmungskette selbst werden Elektronen von NADH oder Ubichinol (Komplex I) auf O<sub>2</sub> übertragen.

Die beim Elektronentransport entlang der Atmungskette frei werdende Energie wird in Gestalt eines elektrochemischen Protonengradienten über der inneren Mitochondrienmembran gespeichert. Dieser Protonengradient wird von der ATP-Synthase (Komplex V) zur ATP-Gewinnung genutzt. Die Synthese von ATP ist somit an den Rückfluss von Protonen aus dem Intermembran-Raum in den Matrix-Raum gebunden.

Die ATP-Synthase ist demnach eine reversible Koppelungsvorrichtung, die Energie aus dem elektrochemischen Protonengradienten und chemischen Bindungen ineinander umwandelt. Ihre Funktionsrichtung hängt vom Gleichgewicht zwischen elektrochemischen Protonengradienten und der ATP-Hydrolyse ab.

Die molekularbiologische Struktur der ATP-Synthase, die wegen ihrer gestielten Form auch als Lollipop bezeichnet wird, ist erforscht (Abb. 11).

Die Lollipop-ATPase besteht aus zwei Teilen, einem in die innere Mitochondrien-Membran integrierten Transmembran-Protonen-Carrier, ein Protonenkanal (F<sub>0</sub>) aus mindestens 13 Untereinheiten, und einer in den Matrix-Raum ragenden gestielten katalytischen Einheit (F<sub>1</sub>). Der Kopf des katalytischen Teiles besteht aus je 3 α- und 3 β-Untereinheiten, zwischen denen 3 aktive Zentren liegen.

Jedesmal, wenn Protonen durch das F<sub>0</sub>-Kanal-Protein in die Matrix fließen, kommt es zu Zustandsänderungen in den 3 aktiven Zentren und es wird ATP aus ADP und P<sub>a</sub> gebildet bzw. abgespalten.



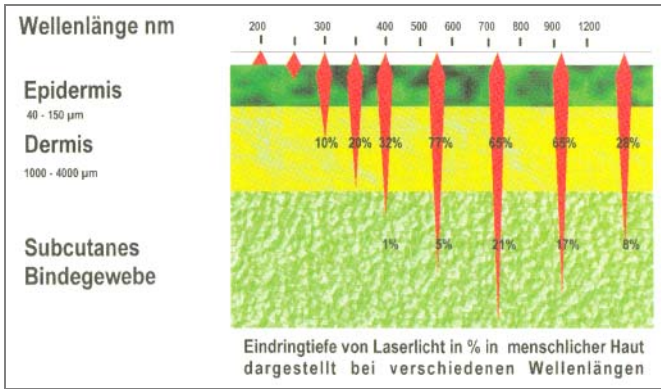


Abb. 9: Schematische Darstellung der Eindringtiefe von Photonen in menschliche Haut

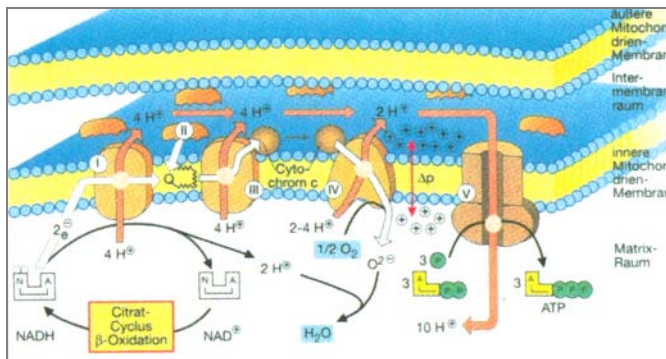


Abb. 10: Funktion der Atmungskette an der inneren Mitochondrienmembran

Um ein Molekül ATP zu bilden, benötigt die ATP-Synthase den Durchgang von 3 Protonen. Die Syntheseleistung eines Lollipop (ATPSynthase) beträgt pro Sekunde ca. 300 Moleküle ATP. Die Funktionsrichtung des Transmembran-Protonen-Carriers der ATP-Synthase hängt nicht alleine vom Potenzialgefälle des elektrochemischen Protonengradienten ab, sondern wird zusätzlich durch Photonen kathalysiert. Wird jedoch die  $F_1$ -ATP-Synthase vom  $F_0$ -Transmembran-Protonen-Carrier getrennt, dann arbeitet die  $F_1$ -ATP-Synthase rückwärts und kathalysiert nur noch die ATP-Hydrolyse (Abb. 12).

Die durch Photonen induzierte ATP-Synthese stellt somit das morphologische Hauptsubstrat der LLL-Wirkung im Organismus dar.

Karu (1987) stellte fest, dass der Redoxvorgang einiger Zwischenstufen der Atmungskette durch Photonen im Wellenlängenbereich von 670-690 nm besonders begünstigt wird (Abb. 8). Mester (1985) war einer der ersten, der den LLL für medizinische Zwecke eingesetzt und dessen biologischen Wirkungen in vivo und vitro an Hand von Reihenuntersuchungen forsch hat. Diese Ergebnisse seiner Untersuchungen können wie folgt zusammengefasst werden:

- Der Behandlungsstrahl ist **athermisch**, völlig **schmerzlos und aseptisch**.
- Die LOW LEVEL LASER (= LLL) wirken im Wundbereich blutungsstillend und antiexudativ.
- Die LLL wirken antiphlogistisch und antipruriginös durch die Veränderung der Proteinfractionen, des Prostaglandingehaltes

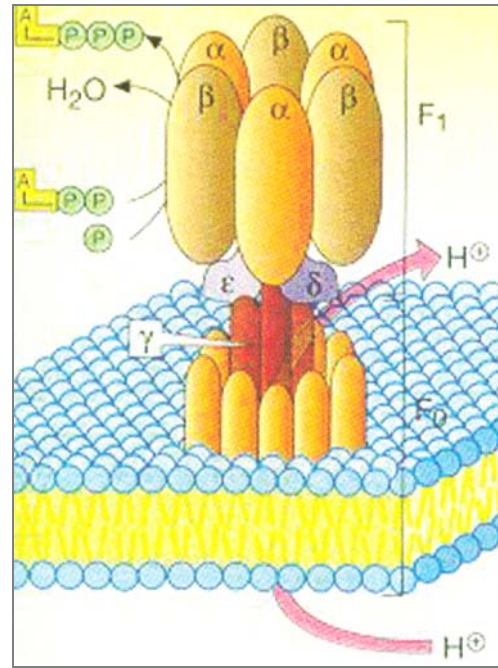


Abb. 11: ATP-Synthase („Lollipop“)

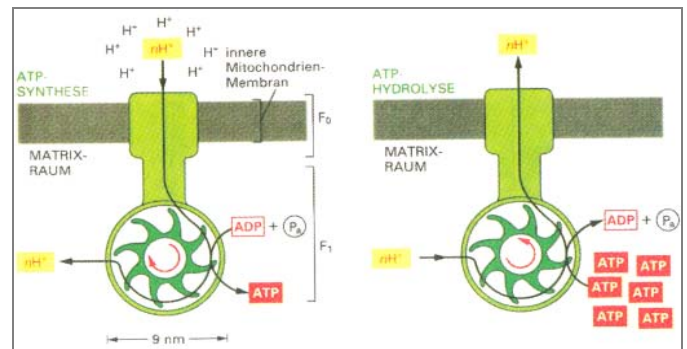


Abb. 12: Funktionsprinzip der ATP-Synthase

und durch humorale Veränderungen im traumatisierten Gewebsbereich. Bei der Veränderung des Prostaglandingehaltes werden  $PGE_2$  und  $PGF_2\alpha$  erhöht, nach einer Woche sinkt der  $PGE_2$  Gehalt und der  $PGF_2\alpha$  Gehalt steigt weiter an.

- Die LLL wirken **antiödematös** durch die Änderung des hydrostatischen intrakapillaren Druckes mit einer daraus resultierenden größeren Resorption der im Interzellularraum befindlichen Flüssigkeiten; Hand in Hand dazu geht die Steigerung des Lymphflusses, die Stimulation der Homöostase und eine gesteigerte Revascularisation.
- Damit verbunden kommt es zu einer Beschleunigung der Blutzirkulation durch die Erweiterung von Kapillaren und Arteriolen mit einer nachfolgenden **Neovaskularisierung** im behandelten Körperareal.
- Die LLL wirken **analgetisch** durch eine Erhöhung der Wahrnehmungsschwelle der algotrophischen Nervenendigungen. Dies wird in Form einer erhöhten ATP-Bildung und infolge dessen einer Steigerung der Atmungskettenphosphorylierung unterstützt. Das vermehrt bereitgestellte ATP verhindert eine Depolarisation von Neuronenstrukturen und bedingt so eine Hyperpolarisation mit einer Verringerung des Schmerzempfindens im Wundbereich. Zusätzlich wird durch eine gesteigerte Endorphin- und Enkephalinfreisetzung das Schmerzgeschehen im positiven Sinne beeinflusst.

- Die LLL bewirken eine direkte Stimulation der intrazellulär gelegenen Mitochondrien über deren Antennenpigmente (= Cytochrome, Flavine). Dadurch bedingt kommt es zum Anstieg des elektrochemischen Potentials der Zellen, zur hochsignifikant **gesteigerten ATP-Synthese**, zu einer gesteigerten  $Ca^{++}$ -Aufnahme der Zelle über die Zellmembran, bedingt durch eine vermehrte ATP-Synthase Tätigkeit, und schließlich kommt es über den gleichen Mechanismus zu einer Stimulierung der  $Na^+-K^+$ -Pumpe.
- Die LLL bewirken eine **Anregung lokaler Immunitätsvorgänge** mit einer Erhöhung des Antikörpertiters im Wundsekret (Tabelle 1) durch eine beschleunigte elektrolytische Erneuerung des zellulären Protoplasmas mit der daraus resultierenden Beschleunigung von Zellatmung, Zellstoffwechsel und der Stimulierung von Proteinsynthese (DNA-RNA Synthese) und Zellteilung. Die Laserstrahlung bewirkt außerdem eine Aktivierung von Lymphozyten und eine Stimulation der Makrophagen und Fibroblastenaktivität durch Chemotaxis, Haptotaxis, Chemogenese und Agglomeration. Zusätzlich kommt es zu einer gesteigerten Phagozytoserate durch Leukozyten im bestrahlten Gewebsbereich.
- Durch die **Vermehrung kollagener Fasern** und der gleichzeitigen Reduzierung zellulärer Substanzen kommt es zur Steigerung der Zugfestigkeit der Wundränder. Die beschleunigte Kollagenbildung, bedingt durch die verstärkte Fibrozytenaktivität, stellt das wesentliche morphologische Substrat der laserinduzierten Wundheilung dar.
- Es besteht ein direkter Einfluss der LLL-Strahlung auf die Mastzellen des behandelten Gewebes. Dadurch kommt es zur **Verringerung der Anzahl der Mastzellen**, aber auch zu einer starken Abnahme der Mastzellengranula. Infolge dessen kommt es zur
- Freisetzung von Histamin und Prostaglandin, sowie durch eosinophile und neutrophile chemotaktische Faktoren zur Abgabe von Mediatoren wie Heparin, Hyaluronsäure, Mukopolysacchariden u. a. Daraus erklärt sich die vasodilatatorische, die analgetische, die antiinflammatorische und antiödematöse Wirkung der LLL-Strahlung.
- Damit in Zusammenhang stehen auch **erhöhte histochemisch lokalisierbare Enzymaktivitäten** im unmittelbaren Wundbereich (Erhöhung von Succinyldehydrogenase, Laktatdehydrogenase, saurer Phosphatase und von nicht spezifischen Esterasen), die einen wesentlichen Einfluss auf die Initiierung der Wundheilung ausüben.

**Tab. 1: Veränderung von Proteinfractionen im Wundsekret nach LLL-Bestrahlung**

Proteinfractionen im Wundsekret	Anstieg in % nach LLL- Bestrahlung
Albumin	30 %
Ig G	35 %
Ig A	29 %
Ig M	49 %
Alpha 1 Antitrypsin	55 %
Alpha 2 Macroglobulin	74 %
Transferrin	59 %
Alpha 1 Lipoproteinfraktion	120 %

- Es kommt durch die LLL Bestrahlung zu einer raschen und sicheren **Abheilung** von großflächigen Wunden **ohne Rezidive** und zu einer minimalen und weichen Narbenbildung. Es entstehen keine störenden Keloide. Es tritt **keine Schädigung** des bestrahlten Gewebes auf, auch nicht bei längerer Dauerbestrahlung.

Die grundlegende Kenntnis des physikalischen Funktionsprinzips der molekular- und photobiologischen Wirkungen der LLL im Körpergewebe stellen eine absolut notwendige Voraussetzung für den richtigen Einsatz dieser modernen und effizienten Therapiemethode dar.

Durch dieses Wissen ergibt sich für die LLLT ein breites Indikationsspektrum, das vom Therapeuten ohne Angst vor Therapieversagern zum Wohle der Patienten eingesetzt werden kann.

## Literatur

1. AMBRONN, G.: Laser und Magnetfeldtherapie in der Tiermedizin. Grundlagen und Anwendung, 44 (1999).
2. DEL GUIDICE, E. et al.: Order and structure in living systems (1984).
3. DEL GUIDICE, E. et al.: Cellular and molecular processes driven by cell generated AC electric field (1987).
4. GIESE, A. C.: Living with our Sun's Ultraviolet Rays, New York: Plenum (1976).
5. GURWITSCH, A. G. und L. D. GURWITSCH: Die mitogenetische Strahlung (1959).
6. HAMMEROFF, S. R., S. A. SMITH und R. C. WATT: Nonlinear electrodynamics in cytoskeletal protein lattices (1984).
7. KARU, T. I.: Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. IEEE J. Quant. Electr., QE - 23, 1703-1717 (1987).
8. MESTER, E. und A. MESTER: The biomedical effects of laser application. Laser in Surgery and Medicine, 5, 31-39 (1985).
9. POPP, F. A.: Biologie des Lichtes, 36-38 (1984).
10. POPP, F. A. et al.: Multi-author review on biophoton emission, Experientia, Vol. 44. (1988).
11. VAN WIJK, R. und H. VAN AKEN: Spontaneous and light-induced photon emission by rat hepatocytes and by hepatoma cells (1992).

**Anschrift des Verfassers:**

**Dr. Roland Muxeneder, A-4230 Pregarten**