

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Marie Dokoupilová

Principy biomodulačních účinků světla o různých vlnových délkách na funkci sítnice oka

Principles of biomodulating effects of light of different wavelengths on retinal function

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: doc. RNDr. Zdeňka Bendová, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část, nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 15. 08. 2024

Podpis

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zaměřuje na porovnání studií, zejména preklinického a klinického výzkumu, které zkoumají fotobiomodulační efekt světelného záření na sítnici oka. Základními parametry pro srovnání byly typ světelného zdroje, vlnová délka, ozáření, energie, hustota energie, délka ozáření, interval ozáření, vzdálenost od místa působení a typ biologického systému. Ve většině studií byl zkoumán retinální pigmentový epitel, který obsahuje velké množství mitochondrií, jejichž aktivita je nezbytná pro správné fungování oka. Výsledkem práce bylo ověření hypotézy, že parametry světla používaného při fotobiomodulaci se mezi studii liší natolik, že je obtížné na jejich základě vyvinout spolehlivou metodologii vedoucí k dlouhodobým pozitivním účinkům a navrhnout pravděpodobný fotoakceptor světelného záření. Porovnání studií ukázalo, že parametry ozáření jsou si ve vybraných studiích podobné, přesto je nutný další výzkum pro volbu jejich nejvhodnější kombinace. Klíčovými fotoakceptory se jeví být cytochrom c oxidáza obsažená v mitochondriích a oxid dusnatý, nemusejí však být jedinými fotoakceptory v sítnici. Vzhledem k velkému terapeutickému potenciálu fotobiomodulace jako neinvazivní metody léčby různých onemocnění sítnice se ukazuje důležité pokračovat ve studiu buněčných mechanismů a vhodných kombinací parametrů léčby fotobiomodulací.

Klíčová slova: fotobiomodulace, laser, světelné diody, sítnice, cytochrom c oxidáza, retinální pigmentový epitel

Abstract

This bachelor's thesis focuses on a comparison of studies mainly preclinical and clinical research that investigate the photobiomodulatory effect of radiation on the retina. The main parameters for comparison were the type of light source, wavelength, irradiance, energy, energy density, irradiation time, treatment interval, distance from the point of exposure and type of biological system. In most studies the retinal pigment epithelium was examined. The retinal pigment epithelium contains a large number of mitochondria which activity is essential for the proper function of the eye. A result of this thesis was to verify the hypothesis that the parameters of light used in photobiomodulation vary between studies so much that it is difficult to develop a reliable methodology leading to long-term positive effects and to propose a plausible photoacceptor of light radiation. Comparison of the studies showed that the irradiance parameters are similar in the selected studies yet further research is needed to select the most appropriate combination of these parameters. Cytochrome c oxidase contained in mitochondria and nitric oxide appear to be the key photoacceptors but they may not be the only photoacceptors in the retina. Given the great therapeutic potential of photobiomodulation as a noninvasive treatment of various retinal diseases, it appears to be important to continue to study cellular mechanisms and appropriate of parameters for photobiomodulation therapy.

Key words: Photobiomodulation, Laser, Light-emitting diode, Retina, Cytochrome c oxidase, Retinal pigment epithelium

Poděkování:

Tímto bych ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce, doc. RNDr. Zdeňce Bendové, Ph.D. za odborné vedení, připomínky, cenné rady a především trpělivost, ochotu a veškerý čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině za podporu během celé doby studia.

OBSAH

ÚVOD	8
1 CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA	10
1.1 Cíl práce.....	10
1.2 Hypotéza.....	10
2 ZDROJE ZÁŘENÍ PRO FOTOBIMODULACI	11
2.1 Laser	11
2.2 Světelné diody	11
2.3 Porovnání vlastností světelných diod a laserů.....	12
2.4 Volba parametrů pro experimenty využívající fotobiomodulaci.....	13
3 ODPOVĚĎ SYSTÉMU NA DÁVKU	15
3.1 Bifázická odezva na dávku.....	15
3.2 Modely odezvy na dávku v toxikologii	16
4 BUNĚČNÝ MECHANISMUS FOTOBIMODULACE.....	17
4.1 Chromofory	18
4.1.1 Cytochrom c oxidáza	18
4.1.2 Oxid dusnatý	19
4.2 Reaktivní formy kyslíku	19
4.2.1 Reaktivní formy kyslíku indukované červeným zářením	19
4.2.2 Reaktivní formy kyslíku indukované modrým světlem.....	20
5 APLIKACE FOTOBIMODULACE NA SÍTNICI.....	21
5.1 Fyziologické studie vlivu fotobiomodulace na lidské oko	22
5.2 Fyziologické studie léčby onemocnění sítnice fotobiomodulací	22
5.3 Buněčný mechanismus působení fotobiomodulace na sítnici	24
5.3.1 Role cytochrom c oxidázy v buněčném mechanismu.....	25
5.3.2 Role retinálního pigmentového epitelu v buněčném mechanismu	25
6 SROVNÁNÍ STUDIÍ PBM EFEKTU NA SÍTNICI.....	27
6.1 Srovnání studií na sítnici lidského oka	27
6.2 Srovnání studií na sítnici zvířecího oka.....	30
ZÁVĚR.....	32
LITERATURA.....	34

SEZNAM ZKRATEK

AMD	věkem podmíněná makulární degenerace, tj. z angl. Age-Related Macular Degeneration
ATP	adenosintrifosfát
BCVA	nejlepší korigovaná zraková ostrost, tj. z angl. Best-Corrected Visual Acuity
COX	cytochrom c oxidáza
DNA	deoxyribonukleová kyselina, tj. z angl. Deoxyribonucleic Acid
HeNe	helium-neonové
LED	světelná dioda, tj. z angl. Light-emitting Diode
LLLT	nízkoúrovňová laserová terapie, tj. z angl. Low Level Laser Therapy
NIR	blízké infračervené záření, z angl. Near-Infrared Radiation
PBM	fotobiomodulace, tj. z angl. Photobiomodulation
ROS	reaktivní sloučeniny kyslíku, tj. z angl. Reactive Oxygen Species
RPE	retinální pigmentový epitel

ÚVOD

Již déle než 50 let od vynálezu laseru je známé, že nízkourovňové viditelné světlo a blízké infračervené záření (NIR, z angl. „Near-Infrared Radiation“)¹ podporují hojení ran hlubokých tkání a nervů, snižují záněty a otoky, a také napomáhají předcházet buněčné smrti. Od té doby bylo publikováno velké množství klinických a laboratorních studií zabývajících se jak primárními mechanismy, tak kaskádami sekundárních účinků NIR, které jsou spojovány s dalšími systémovými a lokálními tkáňovými efekty (Huang et al., 2009). Pozitivní účinky NIR byly dokumentovány randomizovanými dvojitě zaslepenými studiemi v mnoha oblastech, jako jsou onemocnění pohybového aparátu, např. osteoporóza (Shokri et al., 2023), tendinopatie (Bjordal et al., 2006; Stergioulas et al., 2008) a svalová únava (Leal Junior et al., 2009; Tomazoni et al., 2019) nebo také v neurologii, např. při poranění periferních nervů (Salari et al., 2022; Yiğit & Ordahan, 2023), u mrtvice (das Neves et al., 2020; Paolillo et al., 2023) ale i při bolestech zad (Tomazoni et al., 2021; Nardin et al., 2022), krku (Gur et al., 2004) nebo poranění kůže a sliznic (Schubert et al., 2007; Ozcelik et al., 2008; Elmelegy, 2023).

Při nízkourovňové světelné terapii (LLLT, tj. z angl. Low Level Laser Therapy) je využívána oblast viditelného červeného světla nebo NIR k léčbě zranění nebo patologických stavů u lidí či zvířat. V tomto procesu probíhá fotochemická reakce, která se podobá fotosyntéze v rostlinách, kde pohlcené světlo následně vyvolává chemické změny v buňkách. Světlo vytvořené laserem nebo systémem světelných diod (LED, tj. z angl. Light-Emitting Diode) má obvykle spektrální rozmezí 600–1000 nm a hustotu energie 1–20 J/cm². Ozáření se pak velmi liší dle využití terapie a použití zdroje záření. Obecně může nabývat hodnot 0,005–1 W/cm² (Huang et al., 2011).

Dříve se předpokládalo, že terapeutických účinků světla laserů, které byly hojně používány do konce devadesátých let minulého století, bylo dosahováno pomocí jejich specifických vlastností spojených s koherencí, monochromaticností, kolimací a směrovostí. Přestože již v této době byly známy LED, které byly levnější než lasery, při použití v terapii nejprve nedosahovaly očekávaných výsledků, a to zejména kvůli nízkým nestabilním výkonům a širokým vlnovým pásmům. Starým LED tehdy chyběly specifické dlouhé vlnové délky, jako např. 633 nm, která je typická pro moderní helium-neonový (HeNe) laser. S nástupem nové generace LED došlo k velkému rozmachu jejich využití ve světelné terapii a od zastaralých

¹ NIR záření se nachází v blízkosti viditelného světla v infračerveném spektru, přičemž jeho vlnové délky jsou obvykle mezi 0,7 a 2,5 μm (Beć et al., 2020).

laserů se začalo postupně ustupovat (Kim & Calderhead, 2011). Důvodem popularity LED bylo zlepšení jejich vlastností díky interferenci, ke které v nových zdrojích záření docházelo.

V září roku 2014 bylo organizováno zasedání pod záštitou Severoamerické asociace pro světelnou terapii a Světové asociace pro laserovou terapii, kde byly diskutovány klíčové body použití správného názvosloví spojeného se světelnou terapií. Mezinárodní konsenzus vedl k zavedení termínu fotobiomodulace (PBM, tj. z angl. Photobiomodulation) a odklonu od výrazu „nízkoúrovňová“ tedy zkratky LLLT (Anders et al., 2015), a to zejména ze tří důvodů:

- a) termín „nízkoúrovňová“ nebyl definován a nikdo přesně nevěděl, co znamená;
- b) postupně se zaváděly světelné zdroje na principu LED, termín „laser“ se tedy stal nevhodným;
- c) PBM může mít jak inhibiční, tak stimulační účinky při použití světla o stejné vlnové délce, ale vyšší hustotě energie, což ukazuje bifázická odezva na dávku (Hamblin, 2018).

Nedílnou součástí dnešní doby jsou elektronická zařízení a světelné zdroje, jako jsou např. LED lampy, žárovky, zářivky, ale i monitory televizí, počítačů, tabletů nebo telefonů. Ty jsou zdrojem zejména tzv. modrého světla. Světlo okolo 460–480 nm je pro nás jedním ze signálů, abychom zůstali vzhůru, bdělí a neusnuli (Oh et al., 2015a; Dong et al., 2019). Toto spektrum však těsně navazuje na spektrum, které může poškozovat sítnici oka (420–440 nm), a to indukováním produkce reaktivních sloučenin kyslíku (ROS, tj. z angl. Reactive Oxygen Species) v mitochondriích buněk retinálního pigmentového epitelu (RPE). Produkce ROS může vést ke změnám v deoxyribonukleové kyselině (DNA, tj. z ang. Deoxyribonucleic Acid) a následně apoptóze. Věkem podmíněná makulární degenerace (AMD, tj. Age-Related Macular Degeneration) je příkladem závažného degenerativního onemocnění očí, které může být způsobeno zvýšenou expozicí modrému světlu (Rezai et al., 2008; Chamorro et al., 2013).

1 CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA

1.1 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je provést důkladnou analýzu studií zaměřených na PBM a její účinky na sítnici oka s důrazem na metodické přístupy. Srovnání bude zahrnovat klíčové parametry, jako jsou vlnová délka světla, intenzita a dávka světla, doba expozice, typ biologického systému (buňky, tkáně, zvířecí modely či dobrovolníci a pacienti) a sledované biologické a molekulární parametry.

Výsledkem práce bude identifikace optimálních hodnot jednotlivých parametrů a stanovení nejpravděpodobnějších tkáňových fotoakceptorů zodpovědných za fotobiomodulační účinky světla.

1.2 Hypotéza

Hypotéza formulovaná pro tuto práci předpokládá, že parametry světla používaného při PBM, stejně jako doba a frekvence expozice, se mezi studii liší natolik, že je obtížné na jejich základě vyvinout spolehlivou metodologii vedoucí k dlouhodobým pozitivním účinkům. S tím souvisí ověření hypotézy, že za fotobiomodulační účinky světla jsou zodpovědné konkrétní tkáňové fotoakceptory.

2 ZDROJE ZÁŘENÍ PRO FOTOBIMODULACI

Od nepaměti byly sluneční paprsky využívány v léčebných metodách. První zmínky o jejich silných účincích pocházejí již od starých Egyptanů, z indické ájurvědy a tradiční čínské medicíny. V současnosti je hojně využíváno k léčbě různých patologických stavů uměle vytvořené světelné záření (Heiskanen & Hamblin, 2018).

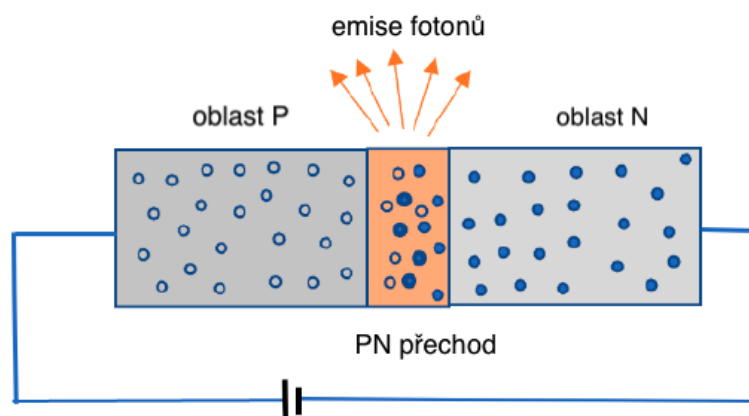
V této kapitole jsou popsány lasery a LED jako zdroje záření. Dále jsou uvedeny jejich zásadní rozdíly, a nakonec je zaměřena pozornost na volbu parametrů pro biologické experimenty, které tyto zdroje využívají.

2.1 Laser

Prvním, a také starším používaným zdrojem záření, je laser. Jeho název je zkratkou slovního spojení „Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation“, které popisuje jev, na jehož základě lasery pracují. Tento zdroj světla využívá stimulované emise aktivních částic buzených vnějším zdrojem energie (světlo, elektřina, chemická reakce). Elektrony se dostávají do excitovaného stavu, ale okamžitě přecházejí do nižší energetické hladiny. Foton vzniklý tímto jevem pak vede k emisi dalších fotonů o stejné energii a paprsek světla se tak zesiluje. Systémem zrcadel je světelný tok odrážen tam a zpět, což vede k dalšímu zesílení. Poslední zrcadlo neodráží paprsek zcela a světlo tak může unikat z dutiny laseru (Heiskanen & Hamblin, 2018).

2.2 Světelné diody

Druhým prozkoumaným zdrojem záření jsou LED, pracující na principu netepelného vyzařování světla pomocí tenké vrstvy polovodičů. Stejně jako u diodových laserů obsahují LED tzv. PN přechod. Průchodem proudu diodou přes PN přechod dochází k rekombinaci elektronů z části typu N (s přebytkem volných elektronů) do části typu P (s nedostatkem volných elektronů), což vyvolává vytvoření světelného paprsku (Doleček, 2005). Schéma LED je znázorněno na Obr. 1.



Obr. 1: Schéma LED popisující základní princip fungování diody. Po přívodu elektrického proudu do LED, dochází k reorganizaci elektronů z oblasti P, kde se nachází přebytek elektronů, do oblasti N, kde je nedostatek elektronů. Následně dochází k emisi fotonů z oblasti PN přechodu. Zdroj: Vlastní zpracování dle Bhattarai et al. (2024)

V roce 1998 představil Harry Whelan novou generaci diod tzv. „NASA LED“ (Whelan et al., 2000). Tyto světelné zdroje měly výrazně lepší vlastnosti a výzkumníkům se tak otevřely nové možnosti jejich využití.

2.3 Porovnání vlastností světelných diod a laserů

Fotobiomodulaci se ve spojitosti s lasery v minulosti věnovala velká pozornost a vzniklo mnoho studií zabývajících se pozitivními účinky červeného záření a NIR vytvořeného těmito zdroji. Proto se také předpokládalo, že jsou pozitivní účinky na cílové buňky spojené s vlastnostmi laseru, jako je koherence, monochromaticnost, polarizace a kolimace. Dalším důležitým jevem spojovaným s lasery je tzv. „speckle“ fenomén. Ten popisuje strukturu světelného paprsku, např. laserového ukazovátka. Při pečlivém zkoumání se paprsek pozorovateli jeví jako složený z jasných světelných bodů, které jsou neustále v pohybu a mohou být popsány určitými charakteristikami, např. polarizací. Právě tyto jednotlivé intenzivní paprsky (body) polarizovaného světla pak byly spojovány s reakcemi s příslušnou absorbující molekulou tkáně (Kim & Calderhead, 2011). Výhodou laserů je velmi úzká šířka pásma vzniklého paprsku, kdy může rozdíl dosahovat pouze zlomku nanometru.

Paprsek produkovaný LED je naopak nekoherentní a jeho šířka pásma má zároveň větší rozsah (Heiskanen & Hamblin, 2018). Dalším rozdílem je pak fenomén zvaný interference, který se začal objevovat u LED nové generace. Přestože zdroje se starší generací LED sestávající se z jedné diody produkovaly výraznou intenzitu fotonů, nebyla taková intenzita z daleka dostatečná pro vyvolání fototerapeutických účinků v cílových buňkách. Pokud měly

ale světelné zdroje s novou generací LED umístěné diody v rovinném poli ve vhodné vzdálenosti od sebe, docházelo pak k interakci paprsků v místě, kde se vzájemně střetávaly. Následkem tohoto jevu, zvaného interference, docházelo při ozáření ke zvýšení hustoty fotonů a žádané fotochemické reakci (Calderhead, 2007).

Jednou z komplikací, která může nastat při zavedení většího množství LED do rovinného pole, je produkce tepla. LED mají účinnost přeměny energie na světlo přibližně 20–30 %, a zbývající energie se uvolňuje jako teplo, které je nutné odvádět například pomocí chladičů. Nicméně, LED umožňují aplikaci světla na větší plochu tkáně, což není možné s lasery. Dalším výrazným rozdílem mezi lasery a LED je nižší výrobní cena diod, což umožňuje dostupnost LED světelných zařízení pro domácí použití (Heiskanen & Hamblin, 2018). Vzhledem k rostoucímu využívání LED jako zdrojů záření je diskutabilní, zda účinnost PBM závisí na vlastnostech, jako je koherence paprsku.

2.4 Volba parametrů pro experimenty využívající fotobiomodulaci

Vzhledem k různým vlastnostem a variabilitě možných zdrojů záření používaných v PBM je zřejmé, že je správná volba parametrů v jednotlivých experimentech zásadní. Publikované studie často nemají jednotný přístup k výběru parametrů a někteří autoři zavádějí různé terminologie. Například Huang et al. (2009) navrhli způsob hodnocení a rozdělení specifikací světla pro léčbu pomocí PBM. Zaměřili se na rozdělení parametrů do dvou sad:

- a) popis z hlediska „léku“ v tomto případě specifik záření (Tab. 1);
- b) popis z hlediska „dávky“ tedy délky ozařování (Tab. 2).

Výzkumníci doporučují pro návrh léčby pomocí PBM následující postup: Nejprve jsou vybrány a definovány čtyři parametry z Tab. 1, které popisují záření jako „lék“ a následně se zvolí délka ozáření, která odpovídá popisu záření z hlediska „dávky“. Rozdělení ukazuje, že specifika záření jsou kvalitativním ukazatelem a délka ozařování je ukazatel kvantitativní.

Tab. 1 : Popis jednotlivých parametrů vztahujících se k označení záření z hlediska „léku“. Zdroj: Vlastní zpracování dle Huang et al. (2009)

Parametry záření „lék“		
Parametr*	Jednotka	Komentář
Vlnová délka	nm	Elektromagnetická energie šířící se v nespojitých svazcích.
Ozářenost	W/cm ²	Často zvaná jako intenzita nebo hustota výkonu, výpočet: ozářenost = výkon (W) × plocha (cm ²).
Struktura pulsu	Maximální výkon (W) Frekvence pulsu (Hz) Šířka pulsu (s) Pracovní cyklus (%)	Jestliže je paprsek pulsní, výkon je označován jako průměrný výkon a je počítán následovně: průměrný výkon (W) = maximální výkon (W) × šířka pulsu (s) × frekvence pulsu (Hz). Pracovní cyklus popisuje, kolik procent z celkového času jednoho cyklu je zařízení zapnuto a produkuje paprsek.
Koherence	Délka koherence závisí na spektrální šířce pásma.	Je známo, že koherentní světlo, které vytváří laserový „speckle“ hraje významnou roli v použití PBM.
Polarizace	lineárně polarizované, cirkulárně polarizované	Polarizované světlo může mít jiné účinky než identické nepolarizované světlo. Je známo, že polarizované světlo je velmi rychle rozptýleno v prostředí, jako jsou tkáně (pravděpodobně v rámci několika prvních stovek μm).

*Parametry popisují samotné záření bez vztahu k „dávce“ tedy množství a délce ozařování daného místa.

Tab. 2: Popis jednotlivých parametrů vztahujících se k označení záření z hlediska „dávky“. Zdroj: Vlastní zpracování dle Huang et al. (2009)

Parametry délky ozáření a dodané energie "dávka"		
Parametr*	Jednotka	Komentář
Energie	J	Energie je počítána následovně: energie (J) = výkon (W) x čas (s). Právě tento vztah míší "lék" a "dávku" a opomíjí záření.
Hustota energie	J/cm ²	Hustota energie je běžným výrazem pro dávku v PBM, což opět míší "dávku" a "lék" do jednoho potenciálně nespolehlivého výrazu, jelikož předpokládá reciproční vztah mezi ozářeností a časem.
Délka ozáření	s	Jako možným východiskem se jeví definice čtyř parametrů z Tab. 1 a poté volba délky ozáření jako "dávky".
Interval ošetření	hodiny, dny, týdny	Efekt délky ozáření není zcela probádaný, nicméně je znám dostatek informací pro jeho zařazení mezi důležité parametry.

*Parametry popisují záření ve vztahu k „dávce“, tedy množství a délce ozařování daného místa.

3 ODPOVĚĎ SYSTÉMU NA DÁVKU

Pro popis dávky záření se často využívá energie (J) nebo hustota energie (J/cm²) pro níž platí vztah:

$$\text{Energie (J)} = \text{Výkon (W)} \times \text{Čas (s)}$$

Samotná energie se tedy skládá ze dvou parametrů, které nemohou být zanedbány, jelikož mezi nimi nemusí nutně existovat lineární vztah ve vztahu k biologickým systémům. Při změně parametrů, např. zdvojnásobení výkonu a zároveň snížení času působení na polovinu, zůstává sice hodnota energie stejná, ale často vyvolává rozdílnou biologickou odpověď (Huang et al., 2009).

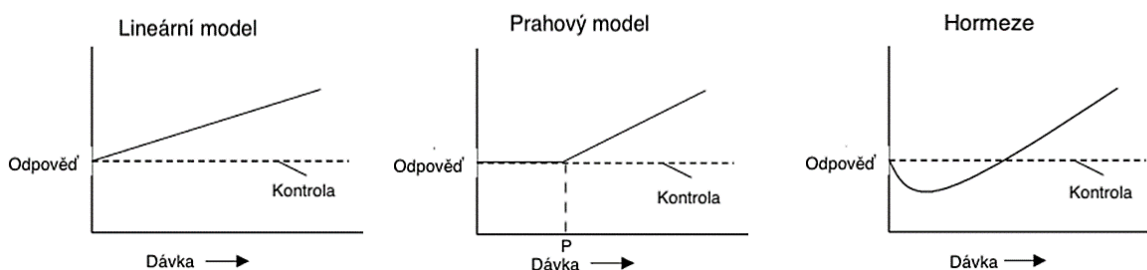
Tato kapitola se zaměřuje na způsob, jakým biologický systém reaguje na dávku ozáření, zejména na významný jev související s množstvím energie dodané za určitou jednotku času, zvaný bifázická odezva na dávku.

3.1 Bifázická odezva na dávku

Pro popis účinků dávky záření je v PBM často využívána tzv. bifázická odezva na dávku, kterou popisuje Arndt-Schultzův zákon. Křivka, obvykle ve tvaru „U“ nebo „J“, vyjadřuje vztah mezi dávkou ozáření a odpovědí biologického systému. Při nízkých dávkách záření pozorujeme mírnou pozitivní odpověď. Jakmile dávka dosáhne k hornímu limitu pozitivní odpovědi, negativní odpověď začíná převládat a postupně stoupá se zvyšující se dávkou. Tuto bifázickou křivku je možné využít pro popis předpokládané odpovědi na dávku světla na subbuněčné, buněčné, tkáňové i klinické úrovni (Huang et al., 2009). Tento jev je velmi dobře znám v toxikologii a nazývá se hormeze (Calabrese, 1999). Hormeze je popisována jako fenomén, vyznačující se mírnou stimulací měřené funkce při nízké dávce a inhibicí při dávce vysoké. Vzniká buď v důsledku kompenzačních biologických procesů po počátečním narušení homeostázy, nebo přímou stimulační či inhibiční reakcí (Calabrese & Baldwin, 2002).

3.2 Modely odezvy na dávku v toxikologii

Po dlouhou dobu se v toxikologii využívaly základní modely pro popis odezvy na dávku – lineární a prahový. Tyto modely však nedokázaly vysvětlit některé biologické reakce, které neodpovídaly těmto tradičním přístupům. Lineární model předpokládá, že odpověď na dávku je přímo úměrná množství podané látky, tedy s rostoucí dávkou se odpověď úměrně zvyšuje. Prahový model navrhuje, že odpověď na dávku začíná až po překročení určité prahové hodnoty, pod kterou není žádná odpověď zaznamenána. Po překročení tohoto prahu se odpověď na dávku opět úměrně zvyšuje. Nicméně, tyto modely nedokázaly vysvětlit některé pozorované biologické reakce, které byly neobvyklé. Fenomén, známý jako hormeze, popisuje situaci, kdy s nižší dávkou klesá odpověď pod kontrolní úroveň, po překročení určité hodnoty dochází ke zvyšování odpovědi nad kontrolní úroveň (Calabrese, 2002). Grafické znázornění těchto tří modelů je uvedeno na Obr. 2.



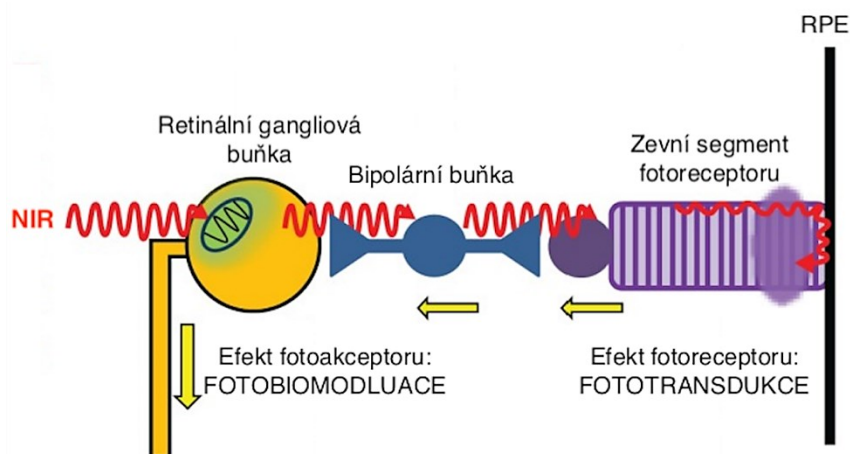
Obr. 2: Závislost odpovědi na dávce pomocí modelu lineárního, prahového a hormeze. Lineární model – odpověď lineárně stoupá s dávkou; prahový model – odpověď začíná stoupat po dosažení prahové dávky pro odpověď P; hormeze – bilaterální odpověď: s nižší dávkou klesá odpověď pod kontrolní úroveň, po překročení určité hodnoty dochází ke zvyšování odpovědi nad kontrolní úroveň. Zdroj: Vlastní zpracování dle Calabrese (2002)

Studie, jako například Calabrese z roku 2002, poskytují důkazy o tomto jevu a naznačují, že hormeze může být univerzální biologickou reakcí na různé typy stresorů, včetně chemických látek a záření. Z tohoto důvodu je důležité při zkoumání odpovědi na dávku zvažovat nejen tradiční lineární a prahové modely, ale také model hormeze, který poskytuje širší a komplexnější pohled na biologické reakce na různé úrovně expozice.

4 BUNĚČNÝ MECHANISMUS FOTOBIMODULACE

Fotobiomodulace se stala středem zájmu díky své možnosti ovlivňovat různé buněčné procesy na molekulární úrovni. Očekává se, že PBM bude podporovat hojení ran, regeneraci tkání, snižovat zánět a bolest, a také zlepšovat funkce imunitního systému. Klíčovou roli v tomto procesu hrají mitochondrie, jako energetická centra buněk, která jsou hlavními místy produkce adenosintrifosfátu (ATP) prostřednictvím dýchacího řetězce (Kodíček et al., 2022). Zvýšená aktivita mitochondrií zlepšuje zásobování buněk energií, což podporuje jejich regeneraci, proliferaci a celkové zdraví. Fotobiomodulace má potenciál zlepšit funkci mitochondrií, zvýšit produkci ATP a modulovat produkci ROS, které hrají významnou roli v buněčné signalizaci a stresové odpovědi. Světlo však nemusí ovlivňovat pouze mitochondrie. Může také ovlivňovat další fotoreceptory a molekuly v buňce, což přispívá k celkovému terapeutickému účinku PBM (Chung et al., 2012).

Fotoreceptory jsou specializované molekuly nacházející se ve smyslových orgánech, jako je oko. V sítnici můžeme nalézt fotoreceptory zvané tyčinky a čípky. Jejich úkolem je transdukce světelného záření do biochemických a elektrických signálů, což je začátkem zpracování zrakových informací (Obr. 3). Nespecializované molekuly, které mohou absorbovat světelné záření, se nazývají fotoakceptory. Tyto molekuly se velmi často nenacházejí ve specializovaných orgánech pro detekci světla, ale jejich absorpce fotonů se považuje za klíčovou při PBM (Rojas & Gonzalez-Lima, 2011).



Obr. 3: Znáznornění procesu fototransdukce zprostředkované fotoreceptorem a fotobiomodulace zprostředkované fotoakceptorem po dopadu NIR na sítnici oka. Zdroj: vlastní zpracování dle Rojas a Gonzalez-Lima (2011)

V této kapitole jsou popsány molekuly absorbující světelné záření, zejména cytochrom c oxidáza (COX) a oxid dusnatý (NO). Dále jsou představeny ROS, které jsou produkovány jak NIR, tak modrým světlem.

4.1 Chromofory

Části molekul, které absorbují světelné záření, se nazývají chromofory. Tyto struktury se obvykle vyskytují ve formě konjugovaných systémů π elektronů nebo kovových komplexů, které molekulám dodávají specifické zbarvení (Huang et al., 2009). V těchto částech molekul dochází k elektronovým přechodům, které určují spektrální pásmo absorpce molekuly (Muller, 1994). Chromofory lze nalézt v biologických strukturách, jako je chlorofyl, fytochrom nebo bakteriorodopsin (Karu, 1999). Někteří autoři označují celé molekuly, které absorbují světelné záření (fotoakceptory) jako chromofory. Příkladem takové molekuly může být komplex IV dýchacího řetězce, COX, nebo malá molekula oxidu dusnatého, která působí jako inhibitor COX (Chen et al., 2009).

4.1.1 Cytochrom c oxidáza

Savčí enzym COX známý také jako komplex IV dýchacího řetězce obsahuje 13 proteinových podjednotek, dvě redoxní centra mědi (Cu_A a Cu_B) a dvě hemová centra (hem-a a hem-a₃). Přenosem čtyř protonů na molekulární kyslík (za tvorby dvou molekul vody) přispívá COX k tvorbě protonového gradientu, který pohání ATP syntázu (Hamblin, 2018). Proces začíná přenosem elektronů z redukovaného cytochromu c do centra Cu_A a hem-a, poté do páru hem-a₃ – Cu_B , kde dochází k redukci kyslíku na vodu (Hallén et al., 1993). Zvýšení protonového gradientu, membránového potenciálu mitochondrie a aktivity ATP syntázy pomocí PBM prokázali již Passarella et al. (1984) ozářením mitochondrií izolovaných z jater potkana laserem HeNe o vlnové délce 632,8 nm. Autoři Pastore et al. (2000) ozářili purifikovanou COX z hovězího srdce také HeNe laserem o vlnové délce 632,8 nm a sledovali reakci enzymu s redukovaným cytochromem c jako substrátem. Spektrofotometricky stanovovali rychlost oxidace substrátu (nmol/min) a porovnáním s reakcí neozářeného enzymu s redukovaným cytochromem c potvrdili změnu reaktivity enzymu a jeho přímou interakci se světlem.

Další skupina výzkumníků zkoumala strukturní změny purifikované COX z hovězího srdce za použití Nd-YAG laseru o vlnové délce 532 nm a naznačili, že hem-a nebo pár hem-a₃ – Cu_B mohou hrát roli v mechanismu absorpce fotonů COX (Hallén et al., 1993).

4.1.2 Oxid dusnatý

Jednou z možných hypotéz vysvětlujících pozitivní účinky světla na poškozené buňky, je teorie fotodisociace NO absorpcí fotonu červeného nebo NIR světla. Vyšší koncentrace NO jsou očekávány u poškozených nebo hypoxických buněk, proto se u nich předpokládá vyšší účinnost terapie PBM (Chen et al., 2009). Jako inhibitor COX se NO nekovalentně váže na místo mezi hem- α_3 a Cu_B . Jeho odbourávání zvyšuje aktivitu COX, což přispívá k tvorbě a udržení protonového gradientu v mitochondrii (Sarti et al., 2012). Podle Chena et al. (2009) by zvýšená aktivita COX mohla vysvětlovat zvýšení hladin ATP, což je jeden z nejčastějších pozorovaných jevů při použití PBM (tTab. 4, str. 31).

4.2 Reaktivní formy kyslíku

Reaktivní formy kyslíku nebo reaktivní sloučeniny kyslíku jsou malé a velmi reaktivní molekuly nebo volné radikály (chemická individua s jedním nepárovým elektronem), které vznikají jako deriváty kyslíku. Mezi ně se řadí např. superoxidový anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peroxid vodíku (H_2O_2) nebo hydroxylový radikál ($\text{OH}\cdot$). Superoxidový anion vzniká jednoelektronovou redukcí kyslíku a může se samovolně nebo za katalýzy enzymem superoxid dismutázou přeměnit na peroxid vodíku, další silné oxidační činidlo. Jedním z nejsilnějších oxidantů v přírodě je hydroxylový radikál. Ten vzniká částečnou redukcí (úplnou redukcí vzniká voda) peroxidu vodíku (Turrens, 2003). Reaktivní formy kyslíku hrají důležitou roli v různých fyziologických i patologických procesech. Přispívají k vývoji buněk, jejich proliferaci, diferenciaci a také k apoptóze (Yang et al., 2023). Různé typy ROS mohou být indukovány jak světlem červeným a NIR (Callaghan et al., 1996; Chen et al., 2011), tak světlem modrým (Eichler et al., 2005).

4.2.1 Reaktivní formy kyslíku indukované červeným zářením

Autoři Callaghan et al. (1996) zkoumali tvorbu ROS ozářením lidských hematopoetických buněk GaAlAs laserem (660 nm) při různých hustotách energie. Popsali zvýšené hladiny $\text{O}_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 v čase, ale neposkytli bližší popis buněčného mechanismu. Jiná studie potvrdila spojitost mezi zvýšenou proliferací buněk a stoupající hladinou ROS po ozáření lidských keratinocytů diodovým laserem (780 nm). Přidáním enzymů superoxidodismutázy a katalázy autoři potlačili zvýšení proliferace buněk (Grossman et al., 1998). Další skupina výzkumníků využila diodový laser, tentokrát s vlnovou délkou 810 nm pro ozáření myších fibroblastů po dobu v rozmezí 7 sekund až 5 minut tak, aby bylo dosaženo různých hustot energie.

Pozorovali zvýšení produkce ROS, které mělo dle autorů za následek aktivaci skupiny transkripčních faktorů NF- κ B (Chen et al., 2011).

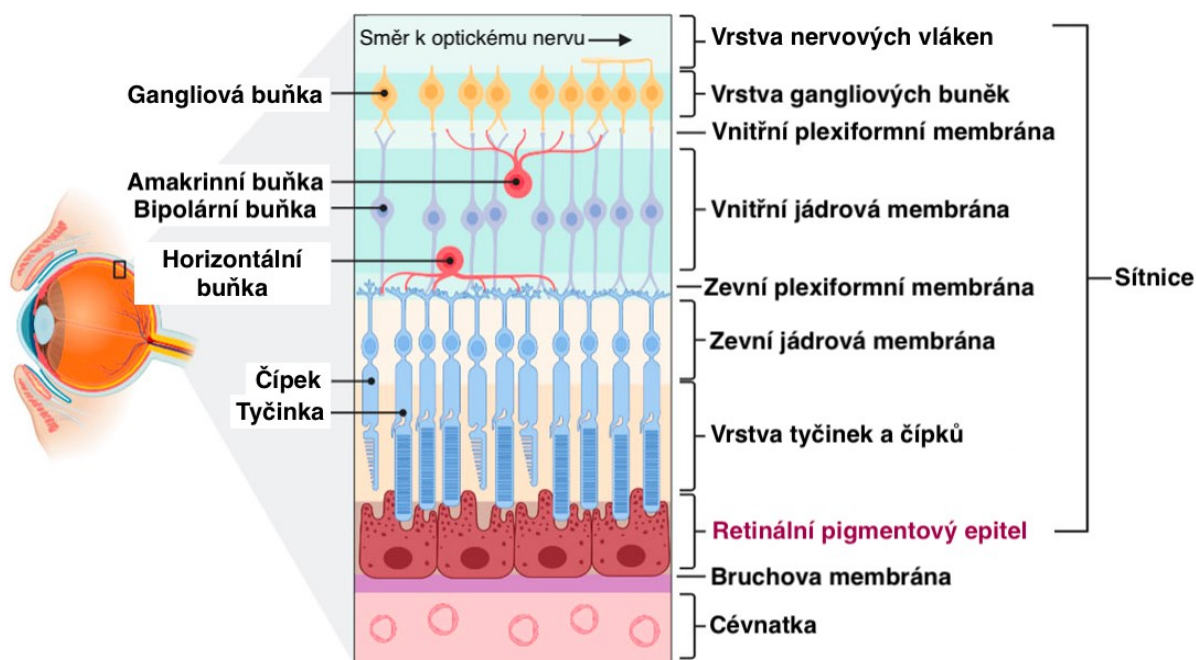
Existuje mnoho dalších studií zabývajících se produkcí ROS v důsledku působení červeného záření a NIR, např. v lidských epiteliálních buňkách HeLa (Zhang et al., 2008), buňkách adenokarcinomu plic (Wu et al., 2009) nebo v myších neuroblastomech (Kao et al., 2023).

4.2.2 *Reaktivní formy kyslíku indukované modrým světlem*

Eichler et al. (2005) ozářili buňky srdečního svalstva a spermie halogenovou lampou (400–500 nm) a zjistili zvýšené množství ROS, avšak bez prokázané spojitosti s COX. Autoři usuzují, že produkce ROS byla spojena s flaviny, které neabsorbují světlo s vlnovou délkou nad 500 nm. In vitro studie zaměřená na melanomové buňky a jejich ozáření zdrojem světla LED (450 nm) ukázala nárůst poškození buněčných stěn a zvýšení hladin ROS. Po ozáření došlo k uvolnění cytochromu c z mitochondrie do cytosolu, což může být spojováno se snížením membránového potenciálu mitochondrií, závislém na nárůstu hladiny ROS. Výsledky další části studie in vivo, ve které autoři s využitím zdroje světla LED (450 nm) ozářili myši naočkované melanomovými buňkami, ukázaly zpomalení růstu melanomu ve srovnání s kontrolní skupinou (Oh et al., 2015b). Lidský osteosarkom byl ozářen modrým světlem o vlnové délce 450 nm o různé hustotě energie. Jako zdroj záření využili autoři LED, a potvrdili možnou spojitost mezi indukovanou apoptózou zkoumaných buněk a zvýšením hladiny ROS (Yang et al., 2023). Ve stejném roce, jiná skupina výzkumníků provedla experiment na lidských osteosarkomových buňkách, které ozářili zdrojem s LED (s maximem 448 nm) a zkoumali životaschopnost buněk. Výsledky prokázaly zvýšení počtu živých buněk a metabolické aktivity jak v testovací, tak v kontrolní skupině, která obsahovala stejný počet osteosarkomových buněk inkubovaných v tmavém prostředí (bez ozáření modrým světlem). Avšak diference a mineralizace buněk byla oproti kontrolní skupině vyšší. Autoři navrhují, že prudké zvýšení hladin ROS bezprostředně po ozáření a následné snížení jejich hladiny by mohlo naznačovat adaptaci buněk na oxidativní stres. Modré světlo by tak mohlo být prospěšné při osteogenezi řízeným uvolňování ROS (Albaqami et al., 2023).

5 APLIKACE FOTOBIMODULACE NA SÍTNICI

Sítnice je složená z několika vrstev (Obr. 4), z nichž každá plní specifické úkoly nezbytné pro efektivní vnímání světla a přeměnu vizuálních podnětů na nervové signály. Nejhlubší vrstvou sítnice je RPE, který leží přímo nad cévnatkou a pod fotoreceptory. Tento epitel se skládá z jedné vrstvy buněk, které obsahují vysoké množství mitochondrií, jež jsou nezbytné pro jejich energetické potřeby. Mitochondrie v RPE poskytují energii potřebnou k obnově fotopigmentů v čípkách a tyčinkách, což je zásadní pro jejich správnou funkci a přenos vizuálních signálů. Efektivní funkce RPE je klíčová pro udržení zdraví fotoreceptorů a celkovou vizuální percepci (Behar-Cohen et al., 2020).



Obr. 4: Vyobrazení jednotlivých vrstev a buněk sítnice. Zdroj: Vlastní zpracování dle Yang et al. (2021)

Fotoreceptory, které zahrnují čípky a tyčinky, jsou umístěny nad RPE. Čípky jsou odpovědné za vnímání barev a detailů při dobrém osvětlení, zatímco tyčinky umožňují vidění za slabého světla a přispívají k perifernímu vidění. RPE poskytuje podporu fotoreceptorům tím, že recykluje jejich odpadní produkty a reguluje výměnu živin. Vzájemná spolupráce mezi vrstvami sítnice, včetně RPE a fotoreceptorů, je zásadní pro efektivní přeměnu světelných podnětů na nervové signály, které jsou následně přenášeny do mozku. Funkce RPE je klíčová pro udržení zdraví fotoreceptorů a celkovou funkci sítnice, což umožňuje obrazové vidění a přispívá i k vidění neobrazovému (Yang et al., 2021).

Jelikož je zhoršení funkce oka přirozeným procesem souvisejícím se stárnutím, někteří autoři se zaměřili na zkoumání způsobů, jak zlepšit funkci oka, které vykazuje běžné fyziologické stárnutí (Mii et al., 2007; Shinhmar et al., 2020). Sítnice však podléhá i řadě onemocnění, jejichž léčba PBM je již řadu let předmětem zkoumání. Mezi tyto choroby patří mimo jiné AMD (Merry et al., 2017; Markowitz et al., 2020) nebo diabetická retinopatie (Cheng et al., 2018; Ahmed et al., 2021).

Tato kapitola je zaměřena na fyziologické studie působení PBM na oko, zejména na poškozenou sítnici. Následně je proveden rozbor studií zaměřených na buněčnou úroveň.

5.1 Fyziologické studie vlivu fotobiomodulace na lidské oko

Někteří výzkumníci se zabývali vlivem PBM na zdravou sítnici bez patologických změn. Mii et al. (2007) zkoumali účinek PBM na průtok krve oftalmickou tepnou a její větvi, centrální retinální artérií. U zdravých participantů došlo po ozáření krční tepny a ganglion stellatum² laserem (600–1600 nm) ke zvýšení průtoku krve v sítnici, přičemž významnější nárůst byl zaznamenán po ozáření krční tepny. Autoři potvrzují, že využití BPM ke zvýšení průtoku krve sítnicí by se mohlo stát rozšířenější neinvazivní léčbou u pacientů trpících akutními poruchami zrakové ostrosti, např. z důvodu intoxikací léky nebo obstrukcí sítnicových cév. Jiná výzkumná skupina testovala zlepšení funkce oka u osob ve věku 28–72 let. Využili zdroj světla LED (670 nm) a ozařovali dominantní oko tři minuty každý den po dobu dvou týdnů. Výsledky ukázaly zlepšení citlivosti fotoreceptorů na barevný kontrast u osob starších 40 let. Autoři připisují tyto změny u starších osob postupné degradaci mitochondrií a snížené produkci ATP, která pak může ovlivnit funkci receptorů. Jelikož nedošlo ke zlepšení funkce fotoreceptorů u participantů mladších 40 let, autoři předpokládají, že u starších osob působí PBM na aktivaci věkem poškozených mitochondrií. Tím dochází ke zvýšení produkce ATP, nutné pro správné fungování fotoreceptorů (Shinhmar et al., 2020).

5.2 Fyziologické studie léčby onemocnění sítnice fotobiomodulací

Věkově podmíněná makulární degenerace je globálně rozšířené degenerativní onemocnění, které vede k vážné ztrátě zraku, především u lidí nad 65 let (Wong et al., 2014). Postihuje centrální část sítnice, známou jako makula a obvykle se vyskytuje ve dvou hlavních

² Ganglion stellatum je autonomní nervový ganglion umístěný na úrovni 7. krčního a 1. hrudního obratle. Je součástí sympatického nervového systému a zajišťuje sympatickou inervaci pro oblast hlavy, krku a horní části trupu (Čihák, 2004).

formách – suché a vlhké. Suchá forma (atrofická) je častější a je charakterizována postupnou degenerací fotoreceptorů v makule, což vede k pomalé ztrátě centrálního vidění. Je způsobena akumulací drúz – malých žlutých skvrn na sítnici (Korda & Spíšek, 2010). Drúzy jsou obvykle depozita tukového charakteru ukládající se okolo linie RPE. Postupem času dochází k atrofii RPE s následným poškozením cév a degradací fotoreceptorů (Nemec et al., 2015). Vlhká forma (exsudativní) je méně častá, ale závažnější. Je charakterizována růstem abnormálních krevních cév pod sítnicí, které mohou způsobit krvácení a rychlé ztráty zraku. Vlhká AMD může vzniknout jako komplikace suché formy v přibližně 10–20 % případů, avšak rychlý přechod z formy suché do vlhké je vzácnější (Evans & Wormald, 1996).

K faktorům ovlivňujícím vznik tohoto onemocnění patří kromě věku a kouření také oxidativní stres působený expozicí světlu. Zvýšené množství ROS poškozuje RPE a dochází k rozvoji onemocnění (Studnička et al., 2023). Studie však prokázaly, že záření se světelným spektrem v červené oblasti a NIR může stimulovat pozitivní procesy v sítnici a napomáhat tak k její regeneraci. Ve výzkumu provedeném v roce 2007 byl využit zdroj záření LED s kombinací tří vlnových délek (590, 670 a 790 nm) pro ozařování očí pacientů trpících AMD. Intervence byla prováděna třikrát týdně po dobu tří týdnů. Kontrolní měření proběhlo tři měsíce po prodělání léčby. Test nejlepší korigované zrakové ostrosti (BVCA, tj. z angl. Best-Corrected Visual Acuity), který se používá v běžné klinické praxi pro stanovení míry poškození zraku, prokázal zlepšení funkce oka. Zároveň došlo k výraznému zmenšení objemu a tloušťky drúz, útvarů, které jsou charakteristikou zmíněného onemocnění (Merry et al., 2017). Obdobná studie taktéž testovala zdroje záření LED s kombinací tří vlnových délek (590, 660 a 850 nm). Ozařování také proběhlo v sérii třikrát týdně po dobu tří týdnů, avšak s opakováním série v šestém měsíci studie. Přes rok trvající klinická studie přinesla srovnatelné výsledky – zlepšení BVCA, nicméně pouze v prvním měsíci po dokončení první série léčby. Kontrolní měření před začátkem druhé série ukázalo opětovné snížení funkce. Výsledky měření po dokončení druhé série léčby vykazovaly stejný vzorec, tedy zlepšení v prvním měsíci po ozáření s poklesem naměřeným v šestém měsíci. Snížení objemu a tloušťky drúz však bylo patrné po celou dobu studie (Markowitz et al., 2020). Jiná skupina výzkumníků navázala na tuto studii a za použití zdroje záření LED s kombinací tří vlnových délek (590, 660 a 850 nm) zopakovala experiment tentokrát v intervalu devíti ozáření během tří až pěti týdnů. Série byly zopakovány čtyřikrát. Test BCVA prokázal průběžné zlepšování funkce oka. Kontrolní skupina byla ozařována paprskem s nižší intenzitou stejných vlnových délek. Výsledky prokázaly výrazně nižší nárůst objemu a tloušťky drúz ve srovnání s kontrolní skupinou (Boyer et al., 2024). Zdroj světla LED s kombinací tří vlnových délek (680, 780, and 830 nm) byl využit i ke studiu poškození sítnice

u myší. Výzkumníci napodobili vývoj AMD aplikací jodičnanu sodného, jehož působením došlo k poškození myší sítnice. Po aplikaci látky byly subjekty ozařovány každý den po dobu pěti dnů. Výsledky prokázaly protektivní účinky ozáření před poškozením sítnice – snížení oxidativního stresu a naznačily ochranu před redukcí tloušťky vrstev sítnice a apoptózou (Goo et al., 2023).

Hyperglykémie způsobená onemocněním diabetes mellitus může vést k závažnému onemocnění sítnice, známému jako diabetická retinopatie. Toto onemocnění způsobuje zhoršení zrakové ostrosti v důsledku poškození krevních cév v sítnici, což může vést k jejich neprůchodnosti, tvorbě nových abnormálních cév a krvácení do sítnice. V pokročilých stádiích může diabetická retinopatie také způsobit otok sítnice a jizvení, jenž dále zhoršuje vidění (Jenkins et al., 2015). Experiment, který testoval účinky záření emitované zdrojem LED (670 nm) na indukovanou diabetickou retinopatii u myší, naznačil protektivní účinky i proti tomuto onemocnění. Myším byla od začátku experimentu, tedy souběžně s rozvojem onemocnění, ozařována záda. Po osmi měsících bylo u ozářených myší výrazně nižší množství poškozených cévních kapilár a menší kumulace albuminu ve vrstvách sítnice. Zhoršení zrakových funkcí u léčených myší bylo výrazně menší než u neléčené skupiny. Autoři tak prokázali pozitivní účinky PBM na sítnici i v případě, že oko nebylo světlu přímo exponováno (Cheng et al., 2018).

5.3 Buněčný mechanismus působení fotobiomodulace na sítnici

Sítnice je složitá struktura s vrstevnatým uspořádáním, kde se některé vrstvy prolínají (Obr. 4). Nejvzdálenější vrstvu sítnice tvoří RPE, který mikroklky přiléhá k Bruchově membráně, která je napojena na cévnatku. Nejvyšší hustota buněk RPE se nachází v oblasti makuly. Buňky RPE mají hnědou barvu díky obsahu melaninu, jehož koncentrace je nejvyšší v periferní části sítnice. Melanin absorbuje přebytečnou světelnou energii a přeměňuje ji na teplo a chrání sítnici před oxidačním poškozením. Retinální pigmentový epitel je volně přiložen k vrstvě neuroretiny. Mezi těmito vrstvami se nachází subretinální prostor, který je za normálních okolností definován pouze prostorem mezi výběžky RPE buněk a vnějšími segmenty fotoreceptorů. Pevné spojení mezi buňkami RPE a neuroretinou existuje pouze v oblasti zrkového nervu a ora serrata³ (Kolář, 2008).

³ Ora serrata je místo přechodu mezi světločivou částí sítnice (pars optica retinae) a částí sítnice pokrývající oblast řasnatého tělesa (pars ciliaris retinae), která neobsahuje světločivé buňky (Čihák, 2004).

Přestože bylo provedeno značné množství fyziologických studií a byly navrženy možné mechanismy působení PBM na sítnici, jako např. zapojení COX v buňkách RPE (Calaza et al., 2015), přesný buněčný mechanismus zatím není zcela jasný.

5.3.1 Role cytochrom c oxidázy v buněčném mechanismu

Sítnice oka je velmi metabolicky aktivní a obsahuje velké množství mitochondrií, které jsou hlavním zdrojem ATP. Výzkum autorů Gkotsi et al. (2014) zkoumal účinky světla (670 nm) na mitochondriální funkci v sítnici a mozku starších myší. Bylo použito 79 myší kmene C57/Bl ve věku 2, 4 a 12 měsíců. Myši byly ozařovány po dobu 90 sekund, sedmkrát během 84 hodin. Výsledky ukázaly, že expozice zvýšila hladinu ATP v sítnici starších myší přibližně o 20 %. Podobný nárůst byl pozorován i v mozku, zejména v kortexu a thalamu. Expozice 670 nm světlu vedla také k významnému zvýšení exprese COX v zevní vrstvě sítnice a ke snížení exprese akroleinu, markeru oxidativního stresu. Tyto výsledky naznačují, že PBM může zvýšit produkci ATP a snížit oxidativní stres v sítnici a mozku, což představuje potenciální neinvazivní metodu pro boj proti věkem podmíněným degenerativním změnám, jako je makulární degenerace.

Podobný výzkum byl proveden v roce 2015, kdy došlo k ozáření hlav myší světelným paprskem (670 nm) každý den po dobu pěti dnů, přičemž každá expozice trvala 90 sekund. Imunochemicky stanovené hladiny mitochondriálního ATP jak v sítnicích, tak v mozku, prokázaly zmírněný pokles hladiny v důsledku ozáření. Výsledky byly srovnány s kontrolní skupinou, která nebyla exponovaná světlu a jejíž pokles hladiny ATP byl výraznější. Toto zjištění podporuje účinnost infračerveného světla při zvyšování produkce ATP a snižování oxidativního stresu ve stárnoucí sítnici a mozku (Calaza et al., 2015).

5.3.2 Role retinálního pigmentového epitelu v buněčném mechanismu

V roce 2013 byl proveden výzkum týkající se vlivu NIR na mitochondriální funkci v sítnici, konkrétně v buňkách RPE a mozku stárnoucích myší. Teorie stárnutí mitochondrií naznačuje, že oxidativní stres způsobený mutacemi mitochondriální DNA vede k poklesu produkce ATP a buněčné degeneraci. Vnější sítnice, s nejvyššími metabolickými nároky v těle, vykazuje progresivní zánět, invazi makrofágů a ztrátu buněk, což způsobuje zhoršení zraku. Studie testovala, zda expozice světlu o vlnové délce 670 nm ovlivňuje mitochondriální funkci v RPE a snižuje zánět sítnice související se stárnutím. Staré myši byly vystaveny pěti 90sekundovým expozicím během 35 hodin. Výsledky ukázaly, že expozice světlu zvýšila polarizaci mitochondriální membrány, snížila počet makrofágů a hladiny TNF- α . Krátkodobá

expozice 670 nm světla tedy může měřitelně zlepšit mitochondriální funkci a snížit zánět sítnice u stárnoucích myší, což poskytuje potenciální neinvazivní metodu pro boj proti zánětu a zhoršování zraku spojenému se stárnutím. Tyto výsledky znovu poukázaly na roli mitochondrií při PBM (Kokkinopoulos et al., 2013).

Kultivované lidské buňky RPE byly ozářeny HeNe laserem (637 nm) po dobu 30 minut (1800 s) s cílem charakterizovat vliv expozice NIR na mitochondriální membránový potenciál in vitro. Tato expozice vedla ke zvýšení odolnosti RPE proti buněčné smrti. Kvantifikace mitochondriálního membránového potenciálu byla provedena pomocí fluorescenční molekuly tetramethylrhodamin ethyl ester (TMRE). Data ukázala, že ozářené buňky RPE vykazují zvýšení mitochondriálního membránového potenciálu, což se očekávalo vzhledem ke spotřebě kyslíku spojené s expozicí NIR (Rono & Oliver, 2020). Tato zjištění poskytují další detaily o mechanismu účinku NIR a PBM v buňkách RPE, a mohou být aplikována i na jiné typy buněk vystavených červenému světlu a NIR. Bylo také prokázáno, že podobných účinků může být dosaženo použitím různých vlnových délek a metod ozáření, což rozšiřuje potenciální aplikace těchto zjištění na širší spektrum klinických a výzkumných scénářů.

V další studii byly buňky RPE použity ke studiu množství ROS produkovaných při hypoxii. Epitelové buňky byly ozářeny LED zdrojem (660 nm) a následně byla indukována hypoxie pomocí chloridu kobaltnatého. Výsledky této studie prokázaly protektivní účinky PBM. Bylo pozorováno potlačení produkce ROS u ozářených buněk, což ukazuje na snížený oxidativní stres. Dále bylo zjištěno, že PBM pomohla udržet kritické funkce buněk, jako je fagocytóza molekulárního odpadu a produkce enzymů pro zrakový cyklus. Fotobiomodulace rovněž přispěla k udržení integrity buněčných spojů, což přispívá k zachování bariérové funkce epitelu a k ochraně fotoreceptorů před poškozením (Kim & Won, 2022). Tyto výsledky naznačují, že PBM má potenciál jako neinvazivní terapie pro ochranu a obnovu funkcí RPE při hypoxii a snižování oxidativního stresu.

6 SROVNÁNÍ STUDIÍ PBM EFEKTU NA SÍTNICI

Nové technologie LED umožňují vytvářet stále nové zdroje světla s různými kombinacemi spekter. Jejich biomodulační efekt je však nezbytné testovat, neboť buněčné systémy mohou reagovat odlišně na kombinace nových parametrů.

6.1 Srovnání studií na sítnici lidského oka

Studie zkoumající vliv NIR na sítnici lidského oka nebo buněk lidského oka zahrnovaly různé typy světelných zdrojů, vlnové délky a ozáření. Například bylo zaznamenáno zvýšení průtoku krve při ozáření krční tepny a ganglion stellatum s vyšším efektem při ozáření krční tepny (Mii et al., 2007) nebo prokázáno zlepšení funkce sítnice u pacientů s AMD po ozařování LED světlem různých vlnových délek (Merry et al., 2017; Markowitz et al., 2020). Studie zaměřená na buněčnou úroveň zjistila zvýšení membránového potenciálu mitochondrií a ochranu buněk před hypoxickým poškozením (Rono & Oliver, 2020; Kim & Won, 2022). Shinhmar et al. (2020) prokázali zlepšení citlivosti na barevný kontrast u osob starších 40 let a Boyer et al. (2024) potvrdili zlepšení funkce sítnice a snížení nárůstu drúz u pacientů s AMD při dlouhodobém ozařování.

V následující tabulce (Tab. 3) jsou přehledně uvedeny vybrané studie týkající se vlivu NIR na sítnici lidského oka nebo buněk lidského oka, které proběhly v letech 2007–2024. Pro srovnání mezi studiemi byly vybrány následující parametry:

- typ světelného zdroje;
- vlnová délka;
- ozáření;
- energie;
- hustota energie;
- vzdálenost od místa ozáření;
- délka ozáření;
- interval ozáření.

Energie použitého světla byla z tabulky vyřazena, jelikož žádná ze studií informaci neposkytovala. Studie jsou seřazeny chronologicky a poskytují srovnání klíčových parametrů použitých v experimentech.

Tab. 3: Parametry studií vlivu NIR světla na sítnici lidského oka nebo buněk lidského oka (2007–2024)

Autor	Studovaný systém	Výsledky	Typ světelného zdroje	Vlnová délka (nm)	Ozářenost (W/cm ²)	Hustota energie (J/cm ²)	Vzdálenost od místa ozáření (cm)	Délka ozáření (s)	Interval ozáření
Mii et al. (2007)	arteriální průtok krve sítnicí v oftalmické a centrální retinální tepně	zvýšení průtoku krve v ozáření krční tepny a ganglion stellatum s vyšším efektem při ozáření krční tepny		600–1600			přímo na kůži	600	každý den po dobu 2 a více dní
Merry et al. (2017)	sítnice – AMD	zlepšení funkce (BCVA a test citlivosti na kontrast) spojené s nižším objemem a tloušťkou nalezených drúz	LED s kombinací tří vlnových délek	590, 670, a 790	670 nm – 0,05–0,08	670 nm – 4,00–7,68		590 nm – 35; 670 nm – 88; 790 nm – 35	3× týdně po dobu 3 týdnů
Markowitz et al. (2020)	sítnice – AMD	zlepšení funkce (BVCA) s následným zhoršením před další sérií; snížení objemu nalezených drúz ve srovnání s kontrolní skupinou	LED s kombinací tří vlnových délek	590, 660, a 850	590 nm – 0,005; 660 nm – 0,065; 850 nm – 0,0008			250	dvě série (v 1. a 6. měsíci) po 9 léčbách – 3× po dobu 3 týdnů
Rono & Oliver (2020)	RPE	zvýšení membránového potenciálu	HeNe laser	637	0,0016	1,88		1800	

Autor	Studovaný systém	Výsledky	Typ světelného zdroje	Vlnová délka (nm)	Ozářenost (W/cm ²)	Hustota energie (J/cm ²)	Vzdálenost od místa ozáření (cm)	Délka ozáření (s)	Interval ozáření
Shinhmar et al. (2020)	tyčinky a čípky	zlepšení citlivosti na barevný kontrast pro modrou zrakovou osu (tritan) u osob starších 40 let (u mladších bez signifikantních výsledků); citlivost u červené zrakové osy (protan) bez signifikantních změn	zdroj s šesti LED	670	0,04			180	každý den po dobu 2 týdnů
Kim & Won (2022)	RPE	zvýšení ochrany buněk před hypoxickým poškozením a oxidativním stresem	šesti-čipová LED	660	0,004			250	2× denně po dobu 4 dní; před vyvolanou hypoxií
Boyer et al. (2024)	sítnice – AMD	zlepšení funkce (BVCA) spojené s nižším nárůstem objemu a tloušťky nalezených drúz ve srovnání s kontrolní skupinou	LED s kombinací tří vlnových délek	590, 660, a 850	590 nm – 0,004; 660 nm – 0,065; 850 nm – 0,0006			590 nm – 2 × 35; 660 nm – 2 × 90; 850 nm – 2 × 35	9× během 3 až 5 týdnů po dobu 13 měsíců

6.2 Srovnání studií na sítnici zvířecího oka

Studie zkoumající vliv NIR na sítnici zvířecího oka nebo buněk zvířecího oka se zaměřily na různé aspekty, jako je ochrana před oxidativním stresem a zánětem. Ve studiích bylo prokázáno zvýšení membránového potenciálu v mitochondriích a snížení zánětlivých markerů u myši (Kokkinopoulos et al., 2013), snížení redukce ATP v mozku a sítnici po ozáření (Gkotsi et al., 2014; Calaza et al., 2015) dále bylo poukázáno na protektivní účinky PBM na sítnici u potkanů s indukovaným AMD, včetně snížení oxidativního stresu a ochrany před apoptózou (Goo et al., 2023).

V následující tabulce (Tab. 4) je uveden přehled vybraných studií, které zkoumaly vliv NIR na sítnici zvířecího oka nebo buněk zvířecího oka v letech 2015–2023. Pro srovnání mezi studii byly použity tyto parametry:

- typ světelného zdroje;
- vlnová délka;
- ozářenost;
- energie;
- hustota energie;
- vzdálenost od místa ozáření;
- délka ozáření;
- interval ozáření.

Informace o energii použitého světla nebyly v tabulce zahrnuty, protože je žádná ze studií neuváděla. Studie jsou seřazeny chronologicky a poskytují přehled klíčových parametrů použitých v experimentech.

Tab. 4: Parametry studií vlivu NIR světla na sítnici zvířecího oka nebo buněk zvířecího oka (2013–2023)

Autor	Studovaný systém	Výsledky	Typ světelného zdroje	Vlnová délka (nm)	Ozářenost (W/cm ²)	Hustota energie (J/cm ²)	Vzdálenost od místa ozáření (cm)	Délka ozáření (s)	Interval Ozáření
Kokkinopoulos et al. (2013)	RPE – hodnoty ATP běžně klesající s věkem, zánětlivé markery (myš)	zvýšení membránového potenciálu v mitochondriích a snížení většiny zánětlivých markerů v mitochondriích	LED	670			1	90	5× během 35 hodin
Gkotsi et al. (2014)	sítnice, mozek – hodnoty ATP běžně klesající s věkem (myš)	výrazně pomalejší sestupná tendence v koncentraci ATP jak v mozku, tak v sítnici		670	0,04		15	90	7× po dobu 3 dnů
Calaza et al. (2015)	sítnice, mozek – hodnoty ATP běžně klesající s věkem (myš)	snížení redukce ATP jak v mozku, tak v sítnici		670	0,04		10	90	každý den po dobu 5 dnů
Goo et al. (2023)	sítnice – AMD indukovaná NaIO ₃ (potkan)	nižší poškození sítnice při použití PBM – ochrana před redukcí tloušťky sítnice a apoptózou, snížení oxidativního stresu	LED s kombinací tří vlnových délek	680,780 a 830		4,5		120	každý den po dobu 5 dnů

ZÁVĚR

Cílem závěrečné práce bylo porovnat studie o fotobiomodulačních účincích světla, preklinického a klinického výzkumu, zejména z hlediska metodického přístupu. Základními parametry srovnání byl typ světelného zdroje, vlnová délka, ozářenost, energie, hustota energie, vzdálenost od místa ozáření, délka ozáření, interval ozáření a typ biologického systému (typ buňky či animálního modelu). Smyslem této práce bylo ověření hypotézy, že parametry světla používaného při PBM se mezi studiemi liší natolik, že je obtížné na jejich základě vyvinout spolehlivou metodologii vedoucí k dlouhodobým pozitivním účinkům PBM. Porovnáním výsledků získaných z různých biologických systémů jsme se také pokusili odhalit nejpravděpodobnější tkáňové fotoakceptory zodpovědné za tyto účinky.

Studie použité v této práci se zaměřovaly zejména na vrstvu RPE, která je nezbytná pro správnou funkci fotoreceptorů. Studie prokázaly různé pozitivní účinky PBM na sítnici lidského i zvířecího oka. Bylo zjištěno, že využitím červeného světla a NIR je možné zlepšit průtok krve, zvýšit produkci ATP, snížit oxidativní stres a zánětlivé markery a chránit buňky sítnice před poškozením. Jeden z možných buněčných mechanismů PBM spočívá v zapojení COX, jakožto fotoakceptoru záření. Po absorpci záření může dojít k aktivaci COX, což má za následek zvýšení mitochondriálního membránového potenciálu a produkce ATP. Dalším možným mechanismem je fotodisociace NO, který je inhibítozem COX. Jeho rozkladem může opět docházet k aktivaci inhibovaného enzymu. Nejpravděpodobnějšími fotoakceptory se tedy jeví být COX a NO. Přesný buněčný mechanismus PBM však není zcela objasněn, a proto je nutné provést další výzkumy zaměřené na jeho studium.

Pro studium efektu PBM na cílovou buňku je velmi důležitá také správná volba parametrů světla, neboť odpověď systému na dávku může být rozdílná. Bifázická odezva systému na dávku, ke které po ozáření dochází, je zásadní pro optimalizaci použití PBM. Zejména důležitými parametry pro terapeutické účinky PBM se jeví vlnová délka, ozářenost, hustota energie, délka ozáření a interval ozáření. Výrazný vliv může mít například znalost konkrétních vlnových délek, při kterých jednotlivé fotoakceptory záření absorbují.

V použitých studiích vykazovalo pozitivní účinky světlo v rozmezí vlnových délek 590–850 nm, působících od 35 vteřin po 30 minut s ozářeností 0,6–65 mW/cm². Zajímavé bylo využití kombinace několika vlnových délek, nejčastěji 590 nm, 660 nm a 850 nm. Autoři uvádějí, že využití paprsků s různými vlnovými délkami může být způsob, jak cílit na více potenciálních fotoakceptorů záření. Z porovnání studií je patrné, že nejvyužívanější částí

světelného spektra je oblast červeného záření nebo NIR. Přestože se ukazuje, že použité výzkumy se ve volbě parametrů podobají, jedním z pozorovaných rozdílů je zvolení intervalu ozáření. Pozitivních účinků bylo dosaženo po násobném ozáření v průběhu 35 hodin v případě cílové buňky RPE, ale také po opakování ozáření ve dvou sériích, které se skládaly z násobného ozáření během tří týdnů v případě ozáření celé sítnice. Ozáření bylo ve většině případů využíváno pro léčbu patologických stavů. Ve studiích zabývajících se protektivními účinky PBM bylo ozáření provedeno před indukci onemocnění a taktéž bylo dosaženo pozitivních účinků. Pro navržení nejvhodnějšího metodického postupu pro využití PBM k léčbě patologických stavů nebo prevence je tedy nutné porovnat větší vzorek publikovaných studií zaměřených na sítnici oka nebo konkrétní cílové buňky sítnice.

Přestože je role COX v mitochondriích částečně objasněna, výsledky této práce naznačují potřebu dalšího zkoumání charakteristik fotoakceptorů v sítnici např. jejich specifitu na vlnové délky. Vzhledem k velkému terapeutickému potenciálu PBM, jakožto neinvazivní metody léčby různých onemocnění sítnice, se ukazuje jako důležité pokračovat ve studiu buněčných mechanismů a vhodných kombinací parametrů léčby PBM.

LITERATURA

- Ahmed, S. A., Ghoneim, D. F., Morsy, M. E., Hassan, A. A., & Mahmoud, A. R. H. (2021). Low-Level Laser Therapy with 670 nm Alleviates Diabetic Retinopathy in an Experimental Model. *Journal of Current Ophthalmology*, 33(2), 143–151. https://doi.org/10.4103/joco.joco_29_20
- Albaqami, M., Aguida, B., Pourmostafa, A., Ahmad, M., & Kishore, V. (2023). Photobiomodulation effects of blue light on osteogenesis are induced by reactive oxygen species. *Lasers in Medical Science*, 39(1), 5. <https://doi.org/10.1007/s10103-023-03951-7>
- Anders, J. J., Lanzafame, R. J., & Arany, P. R. (2015). Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. *Photomedicine and Laser Surgery*, 33(4), 183–184. <https://doi.org/10.1089/pho.2015.9848>
- Beć, K. B., Grabska, J., & Huck, C. W. (2020). Near-Infrared Spectroscopy in Bio-Applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(12), 2948. <https://doi.org/10.3390/molecules25122948>
- Behar-Cohen, F., Gelizé, E., Jonet, L., & Lassiaz, P. (2020). Anatomie de la rétine [Anatomy of the retina]. *Medecine Sciences: M/S*, 36(6–7), 594–599. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020094>
- Bhattarai, T., Ebong, A., & Raja, M. Y. (2024). A Review of Light-Emitting Diodes and Ultraviolet Light-Emitting Diodes and Their Applications. *Photonics*, 11, 491. <https://doi.org/10.3390/photonics11060491>
- Bjordal, J. M., Lopes-Martins, R. A. B., & Iversen, V. V. (2006). A randomised, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated Achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E2 concentrations. *British Journal of Sports Medicine*, 40(1), 76–80. <https://doi.org/10.1136/bjism.2005.020842>
- Boyer, D., Hu, A., Warrow, D., Xavier, S., Gonzalez, V., Lad, E., Rosen, R. B., Do, D., Schneiderman, T., Ho, A., Munk, M. R., Jaffe, G., Tedford, S. E., Croissant, C. L., Walker, M., Rückert, R., & Tedford, C. E. (2024). LIGHTSITE III. *Retina*, 44(3), 487–497. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000003980>
- Calabrese, E. J. (2002). Hormesis: Changing view of the dose-response, a personal account of the history and current status. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(3),

181–189. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(02\)00013-3](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(02)00013-3)

Calabrese, E. J., & Baldwin, L. A. (2002). Defining hormesis. *Human & Experimental Toxicology*, 21(2), 91–97. <https://doi.org/10.1191/0960327102ht217oa>

Calabrese, E. J. (1999). Evidence that hormesis represents an „overcompensation" response to a disruption in homeostasis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 42(2), 135–137. <https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1729>

Calaza, K. C., Kam, J. H., Hogg, C., & Jeffery, G. (2015). Mitochondrial decline precedes phenotype development in the complement factor H mouse model of retinal degeneration but can be corrected by near infrared light. *Neurobiology of Aging*, 36(10), 2869–2876. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.06.010>

Calderhead, R. G. (2007). The photobiological basics behind light-emitting diode (LED) phototherapy. *Laser Therapy*, 16(2), 97–108. <https://doi.org/10.5978/islsm.16.97>

Callaghan, G. A., Riordan, C., Gilmore, W. S., McIntyre, I. A., Allen, J. M., & Hannigan, B. M. (1996). Reactive oxygen species inducible by low-intensity laser irradiation alter DNA synthesis in the haemopoietic cell line U937. *Lasers in Surgery and Medicine*, 19(2), 201–206. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9101\(1996\)19:2<201::AID-LSM12>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9101(1996)19:2<201::AID-LSM12>3.0.CO;2-9)

Čihák, R. (2004). *Anatomie* (2., upr. dopl. vyd.). Grada.

das Neves, M. F., Aleixo, D. C., Mendes, I. S., Lima, F. P. S., Nicolau, R. A., Arisawa, E. A. L., Lopes-Martins, R. A. B., & Lima, M. O. (2020). Long-term analyses of spastic muscle behavior in chronic poststroke patients after near-infrared low-level laser therapy (808 nm): A double-blinded placebo-controlled clinical trial. *Lasers in Medical Science*, 35(7), 1459–1467. <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02920-3>

Doleček, J. (2005). *Moderní učebnice elektroniky – 3. Díl. BEN – technická literatura*.

Dong, K., Goyarts, E. C., Pelle, E., Trivero, J., & Pernodet, N. (2019). Blue light disrupts the circadian rhythm and create damage in skin cells. *International Journal of Cosmetic Science*, 41(6), 558–562. <https://doi.org/10.1111/ics.12572>

Eichler, M., Lavi, R., Shainberg, A., & Lubart, R. (2005). Flavins are source of visible-light-induced free radical formation in cells. *Lasers in Surgery and Medicine*, 37(4), 314–319. <https://doi.org/10.1002/lsm.20239>

Elmelegy, N. G. (2023). Aesthetic Treatment of Acute Burns of the Face Using Electro-

Photobiomodulation. *Journal of Burn Care & Research*, 44(5), 1154–1161.
<https://doi.org/10.1093/jbcr/irad009>

Evans, J., & Wormald, R. (1996). Is the incidence of registrable age-related macular degeneration increasing? *The British Journal of Ophthalmology*, 80(1), 9–14.
<https://doi.org/10.1136/bjo.80.1.2>

Gkotsi, D., Begum, R., Salt, T., Lascaratos, G., Hogg, C., Chau, K.-Y., Schapira, A. H. V., & Jeffery, G. (2014). Recharging mitochondrial batteries in old eyes. Near infra-red increases ATP. *Experimental Eye Research*, 122, 50–53. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.02.023>

Goo, H., Lee, M. Y., Lee, Y.-J., Lee, S., Ahn, J.-C., & Hong, N. (2023). Multi-Wavelength Photobiomodulation Ameliorates Sodium Iodate-Induced Age-Related Macular Degeneration in Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(24), 17394.
<https://doi.org/10.3390/ijms242417394>

Grossman, N., Schneid, N., Reuveni, H., Halevy, S., & Lubart, R. (1998). 780 nm low power diode laser irradiation stimulates proliferation of keratinocyte cultures: Involvement of reactive oxygen species. *Lasers in Surgery and Medicine*, 22(4), 212–218.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9101\(1998\)22:4<212::aid-lsm5>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9101(1998)22:4<212::aid-lsm5>3.0.co;2-s)

Gur, A., Sarac, A. J., Cevik, R., Altindag, O., & Sarac, S. (2004). 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 in Surgery and Medicine*, 35(3), 229–235.
<https://doi.org/10.1002/lsm.20082>

Hallén, S., Oliveberg, M., & Brzezinski, P. (1993). Light-induced structural changes in cytochrome c oxidase. Measurements of electrogenic events and absorbance changes. *FEBS Letters*, 318(2), 134–138. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80007-H](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80007-H)

Hamblin, M. R. (2018). Mechanisms and Mitochondrial Redox Signaling in Photobiomodulation. *Photochemistry and photobiology*, 94(2), 199–212.
<https://doi.org/10.1111/php.12864>

Heiskanen, V., & Hamblin, M. R. (2018). Photobiomodulation: Lasers vs Light Emitting Diodes? *Photochemical & photobiological sciences*, 17(8), 1003–1017.
<https://doi.org/10.1039/c8pp00176f>

Huang, Y.-Y., Chen, A. C.-H., Carroll, J. D., & Hamblin, M. R. (2009). Biphasic Dose Response in Low Level Light Therapy. *Dose-Response*, 7(4), 358–383.

<https://doi.org/10.2203/dose-response.09-027.Hamblin>

Huang, Y.-Y., Sharma, S. K., Carroll, J., & Hamblin, M. R. (2011). Biphasic Dose Response in Low Level Light Therapy – An Update. *Dose-Response*, 9(4), 602–618. <https://doi.org/10.2203/dose-response.11-009.Hamblin>

Chamorro, E., Carralero, S., Bonnin Arias, C., Perez-Carrasco, M., Muñoz de Luna, J., Vázquez, D., & Sánchez-Ramos, C. (2013). Photoprotective Effects of Blue Light Absorbing Filter against LED Light Exposure on Human Retinal Pigment Epithelial Cells In Vitro. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.S6-008>

Chen, A. C.-H., Arany, P. R., Huang, Y.-Y., Tomkinson, E. M., Sharma, S. K., Kharkwal, G. B., Saleem, T., Mooney, D., Yull, F. E., Blackwell, T. S., & Hamblin, M. R. (2011). Low-Level Laser Therapy Activates NF- κ B via Generation of Reactive Oxygen Species in Mouse Embryonic Fibroblasts. *PLoS ONE*, 6(7), e22453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022453>

Chen, A. C.-H., Huang, Y.-Y., Arany, P. R., & Hamblin, M. (2009). Role of Reactive Oxygen Species in Low Level Light Therapy. *The International Society for Optical Engineering*. <https://doi.org/10.1117/12.814890>

Cheng, Y., Du, Y., Liu, H., Tang, J., Veenstra, A., & Kern, T. S. (2018). Photobiomodulation Inhibits Long-term Structural and Functional Lesions of Diabetic Retinopathy. *Diabetes*, 67(2), 291–298. <https://doi.org/10.2337/db17-0803>

Chung, H., Dai, T., Sharma, S. K., Huang, Y.-Y., Carroll, J. D., & Hamblin, M. R. (2012). The Nuts and Bolts of Low-level Laser (Light) Therapy. *Annals of Biomedical Engineering*, 40(2), 516–533. <https://doi.org/10.1007/s10439-011-0454-7>

Jenkins, A. J., Joglekar, M. V., Hardikar, A. A., Keech, A. C., O’Neal, D. N., & Januszewski, A. S. (2015). Biomarkers in Diabetic Retinopathy. *The Review of Diabetic Studies: RDS*, 12(1–2), 159–195. <https://doi.org/10.1900/RDS.2015.12.159>

Kao, Y.-C., Lin, G.-Y., Cheng, J.-Y., & Lee, C.-H. (2023). Neurite growth induced by red light-caused intracellular reactive oxygen species production through cytochrome *c* oxidase activation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 241, 112681. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2023.112681>

Kim, J., & Won, J. Y. (2022). Effect of Photobiomodulation in Suppression of Oxidative Stress on Retinal Pigment Epithelium. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6413.

<https://doi.org/10.3390/ijms23126413>

Kim, W.-S., & Calderhead, R. G. (2011). Is light-emitting diode phototherapy (LED-LLLT) really effective? *Laser Therapy*, 20(3), 205–215. <https://doi.org/10.5978/islsm.20.205>

Kodíček, M., Valentová, O., & Hynek, R. (2022). *Biochemie: Chemický pohled na biologický svět* (3.). VŠCHT Praha.

Kokkinopoulos, I., Colman, A., Hogg, C., Heckenlively, J., & Jeffery, G. (2013). Age-related retinal inflammation is reduced by 670 nm light via increased mitochondrial membrane potential. *Neurobiology of Aging*, 34(2), 602–609. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.04.014>

Kolář, P. (2008). *Věkem podmíněná makulární degenerace*. Grana.

Korda, V., & Spíšek, J. (2010). Věkem podmíněná makulární degenerace sítnice (VPMĐ). *Medicína pro praxi*, 7(11), 432–436.

Leal Junior, E. C. P., Lopes-Martins, R. Á. B., Baroni, B. M., De Marchi, T., Taufer, D., Manfro, D. S., Rech, M., Danna, V., Grosselli, D., Generosi, R. A., Marcos, R. L., Ramos, L., & Bjordal, J. M. (2009). Effect of 830 nm low-level laser therapy applied before high-intensity exercises on skeletal muscle recovery in athletes. *Lasers in Medical Science*, 24(6), 857–863. <https://doi.org/10.1007/s10103-008-0633-4>

Markowitz, S. N., Devenyi, R. G., Munk, M. R., Croissant, C. L., Tedford, S. E., Rückert, R., Walker, M. G., Patino, B. E., Chen, L., Nido, M., & Tedford, C. E. (2020). A Double-masked, Randomized, Sham-controlled, Single-center Study with Photobiomodulation for the Treatment of Dry Age-related Macular Degeneration. *Retina*, 40(8), 1471–1482. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002632>

Merry, G. F., Munk, M. R., Dotson, R. S., Walker, M. G., & Devenyi, R. G. (2017). Photobiomodulation reduces drusen volume and improves visual acuity and contrast sensitivity in dry age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmologica*, 95(4), e270–e277. <https://doi.org/10.1111/aos.13354>

Mii, S., Kim, C., Matsui, H., Oharazawa, H., Shiwa, T., Takahashi, H., & Sakamoto, A. (2007). Increases in Central Retinal Artery Blood Flow in Humans Following Carotid Artery and Stellate Ganglion Irradiation with 0.6 to 1.6 μm Irradiation. *Journal of Nippon Medical School*, 74(1), 23–29. <https://doi.org/10.1272/jnms.74.23>

Nardin, D. M. K., Stocco, M. R., Aguiar, A. F., Machado, F. A., de Oliveira, R. G., & Andraus,

- R. A. C. (2022). Effects of photobiomodulation and deep water running in patients with chronic non-specific low back pain: A randomized controlled trial. *Lasers in Medical Science*, 37(4), 2135–2144. <https://doi.org/10.1007/s10103-021-03443-6>
- Nemec, P., Lofflerová, V., & Kousal, B. (2015). *Optická koherenční tomografie — Klinický atlas sítnicových patologií*. Mladá Fronta.
- Oh, J. H., Yoo, H., Park, H. K., & Do, Y. R. (2015a). Analysis of circadian properties and healthy levels of blue light from smartphones at night. *Scientific Reports*, 5, 11325. <https://doi.org/10.1038/srep11325>
- Oh, P.-S., Na, K. S., Hwang, H., Jeong, H.-S., Lim, S., Sohn, M.-H., & Jeong, H.-J. (2015b). Effect of blue light emitting diodes on melanoma cells: Involvement of apoptotic signaling. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 142, 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.12.006>
- Ozcelik, O., Cenk Haytac, M., Kunin, A., & Seydaoglu, G. (2008). Improved wound healing by low-level laser irradiation after gingivectomy operations: A controlled clinical pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(3), 250–254. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01194.x>
- Paolillo, F. R., Lucas, G. A. A., Parizotto, N. A., Paolillo, A. R., de Castro Neto, J. C., & Bagnato, V. S. (2023). The effects of transcranial laser photobiomodulation and neuromuscular electrical stimulation in the treatment of post-stroke dysfunctions. *Journal of Biophotonics*, 16(4), e202200260. <https://doi.org/10.1002/jbio.202200260>
- Passarella, S., Casamassima, E., Molinari, S., Pastore, D., Quagliariello, E., Catalano, I. M., & Cingolani, A. (1984). Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS Letters*, 175(1), 95–99. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(84\)80577-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(84)80577-3)
- Pastore, D., Greco, M., & Passarella, S. (2000). Specific helium-neon laser sensitivity of the purified cytochrome c oxidase. *International Journal of Radiation Biology*, 76(6), 863–870. <https://doi.org/10.1080/095533000050029020>
- Rezai, K. A., Gasyna, E., Seagle, B.-L. L., Norris, J. R., & Rezaei, K. A. (2008). AcrySof Natural filter decreases blue light-induced apoptosis in human retinal pigment epithelium. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 246(5), 671–676. <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0484-2>

Rojas, J. C., & Gonzalez-Lima, F. (2011). Low-level light therapy of the eye and brain. *Eye and Brain*, 3, 49–67. <https://doi.org/10.2147/EB.S21391>

Rono, C., & Oliver, T. R. (2020). Near infrared light exposure is associated with increased mitochondrial membrane potential in retinal pigmented epithelial cells. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 19(10), 1455–1459. <https://doi.org/10.1039/d0pp00168f>

Salari, B., Nikparto, N., Babaei, A., & Fekrazad, R. (2022). Effect of delayed photobiomodulation therapy on neurosensory recovery in patients with mandibular nerve neurotmesis following traumatic mandibular fracture: A randomized triple-blinded clinical trial. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 232, 112460. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2022.112460>

Sarti, P., Forte, E., Mastronicola, D., Giuffrè, A., & Arese, M. (2012). Cytochrome *c* oxidase and nitric oxide in action: Molecular mechanisms and pathophysiological implications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1817(4), 610–619. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.09.002>

Shinhmar, H., Grewal, M., Sivaprasad, S., Hogg, C., Chong, V., Neveu, M., & Jeffery, G. (2020). Optically Improved Mitochondrial Function Redeems Aged Human Visual Decline. *The Journals of Gerontology: Series A*, 75(9), e49–e52. <https://doi.org/10.1093/gerona/glaa155>

Shokri, A., Moradhaseli, H., Fekrazad, R., Jazaeri, M., & Farhadian, M. (2023). Effect of photobiomodulation therapy with different wavelengths on bone mineral density in osteoporotic rats. *Lasers in Medical Science*, 38(1), 59. <https://doi.org/10.1007/s10103-023-03714-4>

Schubert, M. M., Eduardo, F. P., Guthrie, K. A., Franquin, J.-C., Bensadoun, R.-J. J., Migliorati, C. A., Lloid, C. M. E., Eduardo, C. P., Walter, N.-F., Marques, M. M., & Hamdi, M. (2007). A phase III randomized double-blind placebo-controlled clinical trial to determine the efficacy of low level laser therapy for the prevention of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic cell transplantation. *Supportive Care in Cancer*, 15(10), 1145–1154. <https://doi.org/10.1007/s00520-007-0238-7>

Stergioulas, A., Stergioula, M., Aarskog, R., Lopes-Martins, R. A. B., & Bjordal, J. M. (2008). Effects of Low-Level Laser Therapy and Eccentric Exercises in the Treatment of Recreational Athletes with Chronic Achilles Tendinopathy. *The American Journal of Sports Medicine*, 36(5), 881–887. <https://doi.org/10.1177/0363546507312165>

Studnička, J., Němčanský, J., & Stěpanov, A. (2023). *Sítnice: Komplexní přehled od anatomie k chirurgické léčbě*. Grada.

Tomazoni, S. S., Costa, L. O. P., Joensen, J., Stausholm, M. B., Naterstad, I. F., Ernberg, M., Leal-Junior, E. C. P., & Bjordal, J. M. (2021). Photobiomodulation Therapy is Able to Modulate PGE2 Levels in Patients With Chronic Non-Specific Low Back Pain: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Lasers in Surgery and Medicine*, 53(2), 236–244. <https://doi.org/10.1002/lsm.23255>

Tomazoni, S. S., Machado, C. dos S. M., De Marchi, T., Casalechi, H. L., Bjordal, J. M., de Carvalho, P. de T. C., & Leal-Junior, E. C. P. (2019). Infrared Low-Level Laser Therapy (Photobiomodulation Therapy) before Intense Progressive Running Test of High-Level Soccer Players: Effects on Functional, Muscle Damage, Inflammatory, and Oxidative Stress Markers – A Randomized Controlled Trial. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 6239058. <https://doi.org/10.1155/2019/6239058>

Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552(2), 335–344. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>

Whelan, H., Houle, J., Whelan, N., Donohoe, D., Cwiklinski, J., Schmidt, M., Gould, L., Larson, D., Meyer, G., Cevenini, V., & Stinson, H. (2000). The NASA light-emitting diode medical program-progress in space flight and terrestrial applications. *AIP Conference Proceedings*, 504, 37–43. <https://doi.org/10.1063/1.1302454>

Wu, S., Xing, D., Gao, X., & Chen, W. R. (2009). High fluence low-power laser irradiation induces mitochondrial permeability transition mediated by reactive oxygen species. *Journal of Cellular Physiology*, 218(3), 603–611. <https://doi.org/10.1002/jcp.21636>

Yang, J., Jiang, H., Fu, Q., Qin, H., Li, Y., & Liu, M. (2023). Blue light photobiomodulation induced apoptosis by increasing ROS level and regulating SOCS3 and PTEN/PI3K/AKT pathway in osteosarcoma cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 249, 112814. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2023.112814>

Yang, S., Zhou, J., & Li, D. (2021). Functions and Diseases of the Retinal Pigment Epithelium. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 727870. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.727870>

Yiğit, F., & Ordahan, B. (2023). Effects of high-intensity laser therapy on pain, functional status, hand grip strength, and median nerve cross-sectional area by ultrasonography in patients with carpal tunnel syndrome. *Lasers in Medical Science*, 38(1), 248.

<https://doi.org/10.1007/s10103-023-03913-z>

Zhang, J., Xing, D., & Gao, X. (2008). Low-power laser irradiation activates Src tyrosine kinase through reactive oxygen species-mediated signaling pathway. *Journal of Cellular Physiology*, 217(2), 518–528. <https://doi.org/10.1002/jcp.21529>