

ВОЗМОЖНА ЛИ ЗНАЧИМАЯ НАУЧНАЯ АКТИВНОСТЬ В ВОЗРАСТЕ ОТ 70 ДО 80 ЛЕТ? – ОПТИМИСТИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ

Самойлова К.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Мой личный опыт показывает, что в этот период жизни вы больше читаете и пишете, чем работаете руками. Их вам заменяют ваши ученики и молодое окружение – студенты и аспиранты. Вы обосновываете главное направление работы, планируете эксперименты и контролируете качество их выполнения, причем не только во время их проведения, когда важно воспроизведение всех деталей той или иной методики, но и при анализе результатов, когда залогом качества является повторяемость результатов. Анализ протоколов всегда занимал много времени в моей ежедневной работе, попутно приходилось осваивать новые методы статистической обработки.

После того, как осенью 1997 г. наш коллектив стал победителем Международного конкурса научных Проектов по исследованию механизмов лечебно-оздоровительного действия полихроматического видимого (ВИД) и инфракрасного (ИК) излучения, близкого к солнечному без его минорной компоненты – УФ лучей (всего 3% солнечной энергии на Земле), основным «полем» нашей активности становится полихроматическое ВИД + ИК излучение – важнейший фактор окружающей среды (97% общей энергии Солнца), который после разработки в Швейцарии генерирующего такое излучение фототерапевтического аппарата «Биоптрон» - оказывается востребованным медициной десятков стран, в том числе – России (с 1996 г.), Украины и Белоруссии. Очень быстро становится очевидным, что облучение небольшого участка поверхности тела (диаметром 5-20 см) способствует быстрому и гармоничному ранозаживлению, формированию противовоспалительного, иммуномодулирующего и анальгетического действия. Эффекты вызываются не только в облучаемой области, но и в отдаленных от нее тканях и органах, т.е. не только на местном, но и на системном уровне.

Несмотря на большое общебиологическое значение проблемы лечебно-оздоровительного действия ВИД + ИК излучения Солнца, его механизмы оставались неизученными. Такая ситуация сложилась вследствие того, что, начиная

с 60-70-х годов прошлого века, внимание врачей и биологов было сосредоточено на исследовании организменных и клеточно-молекулярных эффектов монохроматического и узкополосного ВИД и ИК излучения низкоэнергетических лазеров и светодиодов - в те годы принципиально новых технологий физической медицины.

Сейчас я не без удовольствия вспоминаю, с каким трепетом, страстью и азартом мы начинали наши исследования. Мы чувствовали себя первопроходцами, нас вдохновляла возможность пусть небольших, но важных для медицины «открытий». Должна признаться, что эти ощущения сохранились до сих пор. А вдруг мы еще что-то обнаружим и докажем?

Учитывая сравнительно глубокое проникновение ВИД и ИК излучения в кожу человека – на глубину 4-5 мм вплоть до густой сети кровеносных капилляров, мы предположили, что именно с действием на кровь в поверхностных отделах кожи и связаны «пусковые» механизмы системных, а возможно, и локальных эффектов ВИД + ИК света. То, что ВИД свет Солнца достигает до поверхностных кожных капилляров и «действует» на кровь, известно с конца 50-х годов, когда был разработан метод лечения ВИД (белым и синим) светом гипербилирубинемии новорожденных. А тот факт, что воздействие ВИД и ИК излучения только на кровь (на ее небольшие количества – экстракорпорально или внутривенно) приводит к развитию большого разнообразия лечебных эффектов, известно из обширной литературы по низкоинтенсивной лазерной и светодиодной терапии (Ганелина, Самойлова, 1986; Карандашов и др., 2001). Возможность транскутанного действия на кровь лазерного и светодиодного света иногда а priori допускалась в работах отечественных авторов, хотя доказательства этого феномена отсутствовали и в нашей, и в зарубежной литературе.

Наша доказательная база была выстроена благодаря следующему дизайну большинства наших экспериментов: облучали поверхность тела добровольцев ВИД + ИК светом (480 – 3400 нм) с

интенсивностью, характерной для летнего безоблачного дня в Центральной Европе (40 мВт/см²), в дозе терапевтического диапазона (9.6-12 Дж/см²). Параллельно с первым облучением поверхности тела, образец крови каждого человека облучали *in vitro* и, моделируя ситуацию *in vivo* (когда небольшое количество транскутанно фотомодифицированной крови смешивается в сосудистом русле с гораздо большим объемом интактной циркулирующей крови), в условиях *in vitro* смешивали 1 объем непосредственно облученной крови с 10-50 или 100 объемами необлученной аутологичной крови. Результаты каждого варианта опыта сопоставляли друг с другом с помощью методов корреляционного анализа. Выяснилось, что все изученные нами показатели состояния крови в условиях *in vivo* изменялись так же, как если бы вся кровь облучалась *in vitro*. Однако наибольшее сходство было выявлено между результатами транскутанного воздействия света на кровь и таковыми при смешивании облученной и необлученной аутологичной крови. Отсюда следовало, что вызванные светом изменения крови «транслируются» (передаются) всему объему циркулирующей аутологичной крови при их контакте в сосудистой сети. Хотя этот механизм лечебного действия ВИД + ИК света был выявлен в наших самых первых исследованиях, связанных с изучением реологических свойств крови и некоторых показателей клеточного иммунитета (Samoilova et al., 1998), в последующее десятилетие он был подтвержден многократно при исследованиях механизмов фотоиммунотуляции, противовоспалительного и ранозаживляющего действия ВИД + ИК излучения.

1. В 2002-2005 гг. наш аспирант Н.А. Жеваго, врач по образованию, доказала, что практически все иммунологические показатели изменяются в течение первого часа вплоть до 24 ч после облучения поверхности тела. Выявлены изменения функциональных свойств лейкоцитов периферической крови: активируются CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоциты, усиливается спонтанная и ФГА-индуцированная реакция бласттрансформации лимфоцитов, цитотоксичность НК-клеток, фагоцитоз моноцитов и нейтрофилов, продукция IgM и IgA и активатора клеточного звена иммунитета IFN- γ , снижается повышенное содержание провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-12) и циркулирующих иммунных комплексов; возрастает уровень противовоспалительных цитокинов (IL-10 и TGF- β 1).

Характер и величина изменений всех изученных показателей иммунитета определяется их исходными значениями (низкие и близкие к норме показатели возрастают, тогда как исходно повы-

шенные снижаются), что позволяет сделать вывод о иммуномодулирующем, а не иммуностимулирующем действии полихроматического света. Так, выяснилось, что концентрация в крови мощного эндогенного противовирусного и противоопухолевого фактора IFN- γ возрастает в несколько раз у тех лиц, у которых его содержание до воздействия света было снижено, тогда как при исходно повышенных значениях IFN- γ его уровень в крови быстро снижается. Наряду с цитокинами воспаления д-р Жеваго изучила содержание в крови некоторых ростовых факторов (TGF- β 1 и PDGF-AB).

Результаты этих работ были опубликованы в отечественных и зарубежных изданиях (Жеваго и др., 2005; Zhevago et al., 2004, 2006ab). Они стимулировали наш коллектив обратиться к изучению ростостимулирующих потенциалов крови, т.е. к объяснению одного из наиболее ярко выраженных клинических эффектов ВИД + ИК излучения – его ранозаживляющего действия.

2. В 2003-2010 гг. было доказано, что культивирование кератиноцитов, эндотелиоцитов и фибробластов человека в среде, содержащей 2.5% сыворотки или плазмы крови облученного ВИД + ИК светом человека (вместо 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота) стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток на 28-30%, а клеток соединительной ткани (фибробластов) – только на 20%. Это различие может составить механизм предотвращения в курсе фототерапии гиперпродукции клеток соединительной ткани, вследствие чего ускоренное ранозаживление происходит без образования гипертрофированных рубцов (Богачева и др., 2004; Samoilova K.A. et al., 2004).

Обоснование иммуномодулирующего, противовоспалительного и ранозаживляющего действия фототерапии ВИД + ИК излучением стимулировало разработку совместно с сотрудниками Российского НИИ травматологии и ортопедии им. Вредена и спортивными медицинскими учреждениями Санкт-Петербурга Методических рекомендаций для врачей «Современные технологии фототерапии в спортивной медицине, восстановительной медицине и реабилитации» (Жирнов, Жеваго и др., 2006).

3. Учитывая важнейшую роль в процессах ранозаживления показателей микроциркуляции крови, в 2006-2008 гг. мы изучили динамику изменений скорости кровотока на локальном и системном уровне после облучения больных сахарным диабетом 2 типа и здоровых добровольцев. Выяснилось, что полихроматический свет практически немедленно усиливает микроциркуляцию местно и на системном уровне: достигая

максимума через 30-40 мин, эффект снижается, и на следующий день облучение следует повторить. Доказано, что феномен развивается вследствие фотоактивации фермента NO-синтазы в клетках эндотелия сосудов и тромбоцитах, вследствие чего повышается синтез и концентрация в периферической крови оксида азота (NO) – основного регулятора тонуса сосудов, играющего важную роль в передаче как межклеточных, так и внутриклеточных сигналов (Samoilova et al., 2008 ab).

4. В 2012 – 2014 гг. впервые был обнаружен антитромботический эффект полихроматического излучения (совместно с сотрудниками кафедры патологической физиологии Санкт-Петербургского государственного медуниверситета имени академика И.П. Павлова). Используя экспериментальную модель фотодинамического лазер-индуцированного тромбоза магистральной артерии крысы, доказали возможность профилактики необратимого тромбоза после прямого облучения бедренной артерии. Величина эффекта сопоставима с таковой у классического перорального лекарственного дезагреганта (ацетилсалициловая кислота, 0,02 мМ/кг, ежедневно в течение 7 сут). Очевидна высокая скорость развития эффекта – в течение 10 мин после однократного воздействия света (Samoilova et al., 2012). Доказано, что эффект развивается вследствие вызванной светом дезагрегации тромбоцитов, активации антисвертывающей системы крови и фибринолиза (готовится к публикации статья совместно с Российским НИИ гематологии и трансфузиологии). Данные литературы указывают на связь всех перечисленных эффектов света с повышением в крови концентрации оксида азота: наряду с другими важными функциями NO препятствует тромбозу сосудов.

5. С 2007 г. поступлением в аспирантуру Института цитологии Н.Н. Князева – талантливого клеточного биолога, владеющего многими современными технологиями исследований клетки, мы решили приступить к изучению вопроса онкологической безопасности полихроматического ВИД + ИК излучения. Следует заметить, что литературные данные о характере влияния ВИД и ИК излучения на пролиферацию опухолевых клеток в условиях *in vitro* и рост опухолей у лабораторных животных в условиях *in vivo* весьма противоречивы (Князев и др., 2010), что сдерживает использование современных фототерапевтических методов в широкой медицинской практике. В совместной работе со старшим научным сотрудником нашего Института к.б.н. Н.А. Филатовой, многие годы специализирующейся в области противоопухолевого иммуни-

тета, было установлено, что полихроматический ВИД и ИК свет замедляет рост злокачественной опухоли – гепатомы мышей МГ-22а как при воздействии на мышей-опухоленосителей (на ранней стадии роста опухоли), так и в случае прямого воздействия излучения на сами опухолевые клетки и их последующей трансплантации сингенным мышам СЗНА. С помощью проточной цитометрии доказали, что эффект торможения роста гепатомы не связан с повреждающим действием света на опухолевые клетки, т.е. ВИД + ИК излучение в использованных дозах не обладает ни цитотоксическим, ни цитостатическим действием. Было установлено также, что это излучение не оказывает на клетки гепатомы МГ-22а и стрессорного действия, так как ни в цитоплазме, ни на поверхности не повышается содержание белков теплового шока HSP-70. Используя конфокальный микроскоп, в прилегающей к плазматической мембране выявлены признаки реорганизации цитоскелета. Применяв метод прижизненной количественной оценки содержания на поверхности клеток МГ-22а гликопротеинов и кислых мукополисахаридов, установили, что их количество у облученных клеток снижается. После проведения электрофореза белков клеточного лизата и поверхностной мембраны с последующим иммуноблоттингом выяснили, что на поверхности облученных опухолевых клеток экспрессируется белок ламинин-1, который, как известно, распознается рецепторами естественных киллеров, что ведет к активации их цитолитической активности и гибели опухолевых клеток – мишеней. Таким образом, нам удалось выявить совершенно новый механизм противоопухолевого действия ВИД и ИК излучения, который ранее связывали с прямой фотоактивацией самих иммунокомпетентных клеток - естественных киллеров (Самойлова и др., 2010; Knyazev N.A et al., 2009; Князев и др., 2012; Филатова и др., 2013).

Работа по обоснованию онкологической безопасности ВИД + ИК была продолжена в работе нашего другого аспиранта – врача-физиотерапевта А.А. Зимина. Совместно с к.м.н. Н.А. Жеваго и онкологами Клинической больницы РАН 7-дневный курс облучений ВИД + ИК светом использовался в послеоперационной иммунореабилитации больных раком молочной железы (РМЖ) I-II стадии; параллельно тестировалась способность сыворотки крови облученных и необлученных пациенток поддерживать в условиях *in vitro* пролиферацию опухолевых клеток человека, в том числе трех линий РМЖ - BT-474, HBL-100 и Hs578T и эпидермальной карциномы - A431. Выяснилось, что в сыворотке крови облученных пациенток появляются факторы, которые подавляют пролиферацию всех опухолевых клеток, но стимулируют

пролиферацию нормальных клеток, участвующих в процессе ранозаживления – кератиноцитов и фибробластов (Зимин и др., 2010). Одновременно была обоснована целесообразность проведения фототерапии ВИД + ИК светом для коррекции показателей клеточного и гуморального иммунитета у пациенток с РМЖ и предотвращения послеоперационной иммуносупрессии (Жеваго и др., 2012). Работа поддержана персональным Грантом Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук и их научных руководителей (к.м.н. Н.А. Жеваго, проф. К.А. Самойлова).

В сотрудничестве с отделением новых технологий лучевой терапии ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Минздрава России» показана целесообразность применения фототерапии

ближним ИК излучением для улучшения эффективности лучевого лечения больных раком предстательной железы: снижается частота поздних лучевых повреждений, а у больных местно-распространенным раком предстательной железы достоверно повышается 5-летняя выживаемость (Жаринов и др., 2010, 2011; Zharinov et al., 2010).

Приведенные выше исследования дополняют накапливающийся в международной науке опыт успешного и безопасного применения современных фототерапевтических методов в онкологии (см. обзор Зимин и др., 2009).

Пожалуй, это основное, что было сделано за последние 10 лет. Удастся ли еще что-то сделать? Планов предостаточно. Но будет ли возможность и удача? Вспоминая название монографии американского фотобиолога Кендрика Смитта “Sun with us”, я отвечаю: «Солнце с нами, значит все будет хорошо!»

Литература

1. Samoiloва K.A., Obolenskaya K.D., Vologdina A.V., Snopov S.A., Shevchenko E.V. Single skin exposure to visible polarized light induces rapid modification of entire circulating blood. I. Improvement of rheologic and immune parameters // Proc. SPIE. - 1998. - Vol. 3569. - P. 90-103.
2. Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. Ганелиной И.В. и Самойловой К.А. - Л.: Наука, 1986. - 264 с.
3. Карандашов В.И., Петухов Е.Б., Зродников В.С. Фототерапия (светолечение): Руководство для врачей / Под ред. Н.Р. Палеева – М. Медицина, 2001. – 392 с.
4. Жеваго Н.А., Самойлова К.А., Оболенская К.Д., Соколов Д.И. Изменение содержания цитокинов в периферической крови добровольцев после облучения полихроматическим видимым и инфракрасным светом // Цитология. - 2005. - Т.47, № 5 - С. 446-459.
5. Zhevago N.A., Samoiloва K.A., Obolenskaya K.D. 2004. The regulatory effect of polychromatic (visible and infrared) light on human humoral immunity. Photochem. Photobiol. Sci. 3(1): 102-108.
6. Zhevago N.A., Samoiloва K.A. Pro- and anti-inflammatory cytokine content in the peripheral blood after its transcutaneous (in vivo) and direct (in vitro) irradiation with polychromatic visible and infrared light // Photomedicine and Laser Surgery. – 2006a. - Vol. 24 (2). - P. 131-141.
7. Zhevago N.A., Samoiloва K.A., Calderhead R.G. Polychromatic Light Similar to the Terrestrial Solar Spectrum Without its UV Component Stimulates DNA Synthesis in Human Peripheral Blood Lymphocytes *in vivo* and *in vitro*. Photochemistry and Photobiology. – 2006b. 82(5): 1301-1308. и др
8. Богачева О.Н., Самойлова К.А., Жеваго Н.А., Оболенская К.Д., Блинова М.И., Калмыкова Н.В., Кузьминых Е.В. Повышение ростостимулирующей активности крови человека для фибробластов после ее облучения *in vivo* (транскутанно) и *in vitro* видимым и инфракрасным поляризованным светом // Цитология. - 2004. - Т.46, № 12. - С.159-171.
9. Samoiloва K.A., Bogacheva O.N., Obolenskaya K.D., Blinova M.I., Kalmykova N. V., Kuzminikh E.V. 2004. Enhancement of the blood growth promoting activity after exposure of volunteers to visible and infrared polarized light. I. Stimulation of human keratinocyte proliferation *in vitro*. Photochem Photobiol Sci. 3(1): 96-101.
10. Жирнов В.А., Жеваго Н.А., Гижа И.В., Данилова-Перлей В.И., Милорадова С.Н. Современные технологии фототерапии в спортивной медицине, восстановительной медицине и реабилитации. Методические рекомендации. // СПб, Комитет по здравоохранению Правительства СПб, 2006. - 40 с.
11. Samoiloва K., Zhevago N., Menshutina M., Grigorieva N. Role of nitric oxide in the visible light-induced fast increase of human skin microcirculation at the local and systemic level. I. Diabetic patients // Photomed Laser Surgery. – 2008a. – Vol. 26(5) – P. 433-442.
12. Samoiloва K., Zhevago N., Petrishchev N., Zimin A. Role of nitric oxide in the visible light-induced fast increase of human skin microcirculation at the local and systemic level. II. Healthy volunteers // Photomed Laser Surgery. – 2008b. – Vol. 26(5) – P. 443-449.
13. Samoiloва K. A., Vasina E. Yu., Vlasov T. D., Chefu S. G. Antithrombotic effect of polychromatic visible and infrared light in experimental model of thrombosis of main artery // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2012, Vol. 9, suppl.1, p. 25-26.
14. Князев Н. А., Самойлова К. А., Зимин А. А. Лазерное излучение видимого и ближнего инфракрасного диапазона при опухолевой патологии (анализ экспериментальных исследований). Физиотерапия, Бальнеология, Реабилитация. - 2010, №6. С. 50-56.
15. Самойлова К.А., Князев Н.А., Зимин А.А., Филатова Н.А., Галактионова А.А. Влияние низкоинтенсивного видимого и ближнего инфракрасного излучения на имплантированные опухоли лабораторных животных. Фотобиология и фотомедицина, 2010, №6: С.6-18.
16. Knyazev N.A., Samoiloва K.A., Filatova N.A., Galaktionova A.A. Effect of polychromatic light on proliferation of tumor cells under condition *in vitro* and *in*

vivo – after implantation to experimental animals. Proc. SPIE. – 2009. - Vol. 1142; 79-86.

17. Князев Н.А., Филатова Н. А., Самойлова К. А. Проллиферация и туморогенность клеток гепатомы мыши облученных полихроматическим видимым и инфракрасным светом. Цитология, 2012, №8, С.767-773.

18. Филатова Н.А., Князев Н. А., Кошеверова В. В., Шатрова А. Н. Самойлова К.А. Влияние облучения полихроматическим видимым и инфракрасным светом на туморогенность клеток мышинной гепатомы 22а и их чувствительность к лизису естественными киллерами, Цитология - 2013, Т. 55, №7. - С. 501-506.

19. Зимин А.А., Самойлова К.А., Жеваго Н. А. Проллиферация нормальных и опухолевых клеток в присутствии сыворотки крови больных раком молочной железы после курса фототерапии видимым и ближним инфракрасным светом, Цитология.- 2010. Т. 52, №9. – С. 785-791.

20. Жеваго Н. А., Самойлова К. А., Давыдова Н.И., Бычкова Н. В., Глазанова Т. В., Чубукина Ж.В., Буйнянова А. И., Зимин А. А. Эффективность полихроматического видимого и инфракрасного излучения в послеоперационной иммунореабилитации больных раком молочной железы. Вопросы физиотерапии, курортологии и лечебной физкультуры. 2012, №4, С.23-32.

21. Жаринов Г.М., Зимин А. А., Самойлова К. А., Некласова Н. Ю., Володина Л. А. Поздние лучевые повреждения мочевого пузыря и прямой кишки у больных раком предстательной железы после дистанционной лучевой терапии и низкоинтенсивной фототерапии ближним инфракрасным светом. Лазерная медицина. – 2010. Т. 14, № 3. – С. 4-8.

22. Жаринов Г. М., Зимин А. А., Самойлова К. А., Некласова Н. Ю. Выживаемость больных раком предстательной железы после дистанционной лучевой терапии и низкоинтенсивной фототерапии ближним инфракрасным светом. Вопросы онкологии, 2011, Т.57, №4, С.457-461.

23. Zharinov G.M., Zimin A.A., Samoilova K.A., Neklasova N.Yu., Volodina L.A., Ovsyannikov V.A. Late radiation lesions of urinary bladder and rectum in patients with prostate cancer after external radiation therapy and phototherapy with low power near infrared laser. Laser Therapy. - 2010. - Vol. 19(2). – P.89-95.

24. Зимин А.А., Жеваго Н.А., Буйнякова А.И., Самойлова К.А. Использование низкоинтенсивного видимого и ближнего инфракрасного излучения в клинической онкологии. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры, 2009, № 6: 49-52.