

## ФЕМТОСЕКУНДНЫЙ ЛАЗЕР С ВОЗМОЖНОСТЬЮ ИЗМЕНЕНИЯ ДЛИНЫ ВОЛНЫ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В.С. Войцехович, В.А. Каневский, В.И. Матяш\*, И.В. Фильчаков\*, С.Л. Зайцев\*\*

ООО «Биофизика-Украина»,  
Украина, г. Киев, ул. Амосова, 5;

\*ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных заболеваний  
им. Л.В. Громашевского АМН Украины»,  
Украина, г. Киев, ул. Амосова, 5;

\*\*Национальный Институт Рака МОЗ Украины,  
Украина, г. Киев, ул. Ломоносова, 33/43

УДК 621.373.826

*В статье приводятся результаты клинико-экспериментальных исследований терапевтической эффективности лазерного излучения низкой интенсивности. В качестве источника излучения для целенаправленного влияния на различные биологические процессы авторами статьи был использован фемтосекундный лазер с возможностью изменения длины волны.*

**Ключевые слова:** фемтосекундный лазер, лазерная терапия, тимус, опухолевая ткань.

Использование лазеров в медицине имеет более чем 30-летнюю историю. Прежде всего, стратегия выбора лазеров базировалась исключительно на их доступности, с последовательным экспериментальным подтверждением их эффективности для решения конкретной задачи.

В ведущих Институтах НАН Украины были проведены теоретические и экспериментальные исследования, которые свидетельствовали о принципиальной возможности управления различными биологическими процессами при помощи квантов света [1, 2, 3]. Для этого использовался свет различной длины волны, что позволило установить специфичность действия излучения в узких диапазонах спектра на разные биологические объекты, которое зависело, в первую очередь, от спектрального диапазона. В практическом плане проведение исследований по изучению механизма действия монохроматического излучения на биологические объекты с помощью обычных лазеров, которые генерируют свет в одном, или в нескольких строго фиксированных спектральных диапазонах, практически невозможно. Нужно иметь возможность плавно изменять длину волны излучения лазера, подстраиваться под различные биологические процессы, которыми мы хотим управлять. Именно таким требованиям отвечает фемтосекундный лазер с возможностью перестройки длины волны, который использовался нами для целенаправленного влияния на разные биологические процессы.

*Цель работы* – изучить комплекс лечебных эффектов лазерной терапии с помощью использования фемтосекундного лазера с возможностью изменения длины волны.

### Материалы и методы

Доклинические исследования были проведены в Институте токсикологии и фармакологии АМН Украины соответственно требованиям ДСТУ ISO 10993-1: 2004 «Биологическое оценивание медицинских изделий». Первые фундаментальные научные исследования проводились на молекулярном и клеточном уровнях [1, 4].

В ходе экспериментов было установлено, что одним из возможных молекулярных механизмов влияния лазерного излучения низкой интенсивности на биологические объекты является его взаимодействие с активными центрами важнейших металлоферментов, которые стоят на перекрестке узловых участков клеточного метаболизма или в начале биохимических процессов каскадного типа. Поглощение фотонов лазерного излучения в определенном спектральном диапазоне соединениями металл-лиганд активных центров металлоферментов приводит к конформационной перестройке структуры металлоферментов, которая запускает или выключает определенные биохимические процессы. В качестве примера можно привести ферменты, в активном центре которых находятся такие металлы как Fe, Mg, Zn, Ca. Так, ферменты с магнием в активном центре

контролируют почти все процессы с генетическим материалом (ДНК-полимеразы, транскриптазы и др.), с железом – энергетические процессы, связанные с синтезом АТФ (цитохромоксидазы и др.). Металлоферменты с Zn и Ca в активном центре, как правило, играют роль молекулярных триггеров, которые регулируют определенные каскадные процессы. Много металлоферментов и соединений металлов с биологическими молекулами играют важную роль в развитии иммунного ответа (Саневрин, Zn-тимулин и др.). Также известно неспецифическое действие лазерного излучения на биополимеры (белки, липиды, мембраны клеток), вследствие чего изменяется их конформационное строение и функциональное состояние.

Что касается использования лазерного излучения низкой интенсивности для лечения больных, то, прежде всего, необходимо указать, что наиболее значительные терапевтические эффекты, установленные в настоящее время, связаны с противовоспалительным, иммуномоделирующим, регенераторным и противоопухолевым действием лазеротерапии. Такие эффекты обусловлены не только местным действием лазерного излучения, но и системными реакциями с включением многих функциональных систем организма. Развитие системных нейрогуморальных реакций связано с действием излучения на проекцию вегетативных центров симпатичной иннервации и с продукцией биологически активных молекул в тканях с дальнейшим появлением эффективных концентраций этих молекул в циркуляции. Эффекты действия лазеротерапии обуславливают повышение резистентности организма и активацию механизмов саногенеза, что существенно повышает эффективность лечения хронических заболеваний.

Клинические исследования проводились на базе ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных заболеваний им. Л.В. Грошевского АМН Украины» на больных хроническими вирусными инфекциями (гепатит В, С, герпесовирусные инфекции, СПИД) – 120 человек.

Для проведения процедуры лазеротерапии нами использовался фемтосекундный лазер с возможностью перестройки длины волны излучения – «Комплекс лазерный медико-биологический» (ТУ У 33,1-34413533-001.2008, свидетельство о

государственной регистрации № 8445/2008, от 24.12.2008). Спектральный диапазон действия: 350-450 нм и 510-660 нм; плотность мощности излучения – 5-20 мВт/см<sup>2</sup>.

В качестве зон, на которые воздействовали лазерным излучением различных спектральных диапазонов, нами были выбраны области проекции тимуса, крупных сосудов, блуждающего нерва (*n. vagus*). В случае облучения зоны проекции тимуса под воздействие лазерного излучения попадали непосредственно ткань тимуса, кровеносные и лимфатические сосуды, периферийные нервы симпатического и парасимпатического отделов ВНС.

Все перечисленные зоны характеризуются определенными механизмами и временным масштабом ответа на действие лазерного излучения, которые и обуславливают все разнообразие клинических проявлений. Так, облучение проекций нервов симпатического и парасимпатического отделов ВНС приводит к выбросу катехоламинов в периферическую кровь, в результате чего запускается комплекс определенных нейрорегуляторных процессов. Влияние лазерного излучения непосредственно на ткани тимуса приводит к существенному изменению в количественных показателях и функциональном состоянии иммунной системы, что находило свое отражение в иммунограммах пациентов.

Исследование влияния лазерного облучения на течение онкозаболеваний (рак легких, пищевода, полости рта) проводилось в Национальном Институте Рака МОЗ Украины.

Предоперационное лазерное облучение тимуса или области его проекции выполнялось согласно двум протоколам: однократное воздействие на область проекции тимуса и непосредственное лазерное облучение тимуса при помощи световода, подведенного через катетер к месту его локализации.

Лазерное облучение области проекции тимуса проведено 10 больным немелкоклеточным раком легкого без неoadъювантного лечения, однократно. Средний возраст больных – 57,3±2,7 лет.

Непосредственное лазерное облучение тимуса проведено 10 больным с онкоторакальной патологией (7 больных – немелкоклеточный рак легкого, 2 – тератобластома средостения, 1 – злокачественный

плеврит). Средний возраст больных составил  $39,9 \pm 3,9$  лет.

Иммунологические исследования проводились до лазерного воздействия, на 1-е, 4-е и 7-е сутки после лазерного облучения тимуса или области его проекции. Статистическая обработка данных проводилась при помощи программы STATISTICA 6,0 с использованием одновыборочного критерия Уилкоксона.

В отделении опухолей головы и шеи Национального института рака проводилась клиническая апробация воздействия лазерного медико-биологического комплекса на опухоль полости рта. Локальное лазерное облучение опухоли выполнено 8 пациентам с гистологически верифицированным диагнозом «Плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта» в возрасте от 39 до 71 года. Рак слизистой оболочки языка диагностирован у 2-х больных, дна полости рта – у 5, твердого неба – у 1. Лазерное воздействие проводилось до начала основного лечения: однократно у 6 больных, двукратно (с интервалом 3 суток) – у 2 больных. Всем пациентам проводилось морфологическое исследование биопсийного материала до лазерного воздействия и на 6-14-е сутки после лазерного облучения опухоли. В эти же сроки изучалась динамика гематологических и иммунологических показателей.

В отделении опухолей органов грудной полости Национального института рака проводилась клиническая апробация комплекса при облучении как опухоли (плоскоклеточный рак верхней и средней трети пищевода) через вводимый в просвет пищеварительной трубки зонд, так и тимуса (чрезкожная методика и чрезкатетерная). Возраст больных составлял от 24 до 73 лет. Плоскоклеточный рак верхней трети пищевода диагностирован у 7, а средней трети – у 11 больных. Железистый рак проксимальных отделов и тела желудка с переходом на пищевод диагностирован у 10, а рак легкого – у 15 больных. Единичные больные были с раком гортани, средостения, мезотелиомой плевры, молочной железы, надпочечника. Всем больным проводилось морфологическое исследование биопсийного материала до лазерного воздействия и через неделю после лазерного облучения опухоли (в группе больных с внутриполостным облучением пищевода). До лечения, в

середине и по окончании лазерной терапии изучалась динамика гематологических и иммунологических показателей.

### Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных исследований были получены следующие результаты:

1. Терапевтическая эффективность лазеротерапии:

1.1. Уменьшение астенического синдрома, когнитивных нарушений с повышением трудоспособности, продуктивной деятельности высших отделов ЦНС, концентрации внимания, памяти на 20-50% относительно предыдущего состояния наблюдалось у 70-80% больных.

1.2. Уменьшение интенсивности ликвородинамических нарушений (особенно у больных арахноэнцефалитом), уменьшение выраженности цефалгий, координаторных нарушений, улучшение статолокомоторной деятельности, восстановление сферы двигательных и сенсорных поражений, в частности, функциональной деятельности пораженных органов в зоне периферической иннервации, уменьшение интенсивности парезов конечностей, восстановление деятельности черепных нервов имело место у 75% исследуемых больных;

1.3. Восстановление кинетики желудочно-кишечного тракта при поражении органов пищеварения наблюдалось у 85% больных, особенно у больных с дискинезиями кишечника по гипотоническому типу, диспептическими нарушениями;

1.4. Снижение интенсивности цитолитического и холестатического синдрома при поражении печени – у 70% больных;

1.5. Иммунокорректирующий эффект наблюдался у 90% больных и выражался в:

– динамических изменениях относительного и абсолютного количества лимфоцитов и Т-лимфоцитов периферической крови;

– повышении количества CD4+ лимфоцитов (у больных на СПИД – у 50%),

– нормализации показателей иммунорегуляторного индекса.

2. Лазеротерапия по предложенной методике существенно не влияла на уровень вирусемии. Однако в 20% случаев наблюдалась тенденция к уменьшению уровня вирусемии.

3. У каждого пятого больного на гепатит С имело место транзитное повышение активности трансфераз.

4. Противоопухолевые эффекты лазерной иммуномодуляции:

4.1. Облучение области проекции тимуса мышей линии С57ВL проводили лазерным излучением в спектральном диапазоне 350-450 нм, плотность мощности составляла от 10 до 40 мВт/см<sup>2</sup> при экспозиции 10 минут. Лазерное облучение области проекции тимуса приводило к возможному повышению уровня цитотоксичности лимфоцитов и антителозависимой цитотоксической активности лимфоцитов и макрофагов мышей. Максимальное повышение активности отмечено через 1 сутки после облучения, когда индекс цитотоксичности в исследуемой группе был больше, чем в контрольной в 3 раза. Такая высокая цитотоксическая активность лимфоцитов сохранялась на протяжении 3-х суток. Установлено, что модулирующее действие лазерного облучения имело дозозависимый характер. Использование малых доз (меньше 10 Дж/см<sup>2</sup>) лазерного излучения достоверно не повышало цитотоксичность.

4.2. В ходе отдельных экспериментов было установлено, что воздействие лазерным излучением разных интенсивностей на область проекции тимуса не приводило к лейко-, эритро- и тромбопении, не сопровождалось явлениями воспаления в месте контакта с кожей и не вызывало летальных случаев у животных.

4.3. На модели экспериментального злокачественного опухолевого роста (саркомы 45) изучали противоопухолевое действие лазерного облучения. Исследование (три серии опытов) проводили на нелинейных белых крысах. Облучение осуществляли одновременно, через 4 суток после трансплантации опухоли. Как свидетельствуют полученные данные, лазерное облучение проекции тимуса обуславливало выраженный противоопухолевый эффект. Так, наилучшие результаты были получены в первом опыте, когда торможение роста саркомы отмечалось в 63,93-97,19% случаев на различные сроки измерения. Процент первичного излечения в этой группе составил 40%.

4.4. Однократное лазерное облучение области проекции тимуса (через кожу, неинвазивный способ) у больных раком легкого приводит к повышению уровня тимического

сывороточного фактора (ТСФ) в периферической крови, нормализации соотношения основных субпопуляций Т-лимфоцитов, повышению относительного количества ЕК-клеток, снижению относительного количества активированных Т-хелперов (в том числе регуляторных Т-клеток), модуляции количества активированных Т-клеток.

4.5. Непосредственное лазерное облучение тимуса (через имплантируемое оптоволокно, инвазивный способ) у больных с онкоторакальной патологией обладает более выраженным иммунокорректирующим действием по сравнению с неинвазивным способом лазерного воздействия на область проекции тимуса, что может быть обусловлено прямым воздействием на ткань этого органа.

4.6. Анализ результатов изучения гистологических препаратов опухолевой ткани полости рта (биопсийный материал) позволил установить определенные проявления лечебного патоморфоза, вызванного лазерным излучением. Эффект разной степени выраженности по морфологическим критериям (некротические и дегенеративные процессы в паренхиме опухоли, угнетение митотической активности опухолевых клеток, инфильтрация опухоли иммунокомпетентными клетками, сосудистая реакция) был зарегистрирован при оценке биопсийного материала у 5 (62,5%) из 8 пациентов. Эти данные свидетельствуют о том, что лазерное излучение (с известными параметрами) может девитализировать опухолевые клетки без нанесения ущерба нормальным тканям и способствует развитию воспалительной реакции в строме опухоли.

4.7. Клинически у всех больных раком пищевода сразу же после первых сеансов лазеротерапии было отмечено уменьшение болевого синдрома, улучшение настроения, сна, улучшение прохождения грубой пищи по пищеводу (рентгенологически отмечено увеличение просвета пищевода от 2-3 мм до 5-8 мм в диаметре). У больных легче проходила подготовка к операции, а также сокращался послеоперационный период.

4.8. По предварительным результатам больные с онкозаболеваниями, которым перед процедурами химиотерапии и лучевой терапии проводились сеансы лазерной терапии на область тимуса, легче переносили как химио-, так и лучевую терапию. Проводимый контроль показателей крови во время и после

завершения сеансов показывает, что количество лейкоцитов при проведении лазеротерапии не опускается ниже 2000 (обычно 1000 и ниже).

### Выводы

Таким образом, предложенный метод продемонстрировал значительные терапевтические эффекты, связанные с противовоспалительным, иммуномоделирующим, регенераторным, противоопухолевым действием лазеротерапии. Кроме того, получен выраженный противоопухолевый эффект.

К преимуществам метода следует отнести широкий спектр показаний к лазерной терапии и возможность ее применения в сочетании с традиционными методами лечения.

### Литература

1. Действие синего света на электронный транспорт в дыхательной цепи митохондрий / К.Я. Кондратьев, В.А. Каневский, И.В. Кузьменко // Доклады Академии наук СССР. – 1988. – Т. 299, № 5. – С. 1271-1274.
2. Кондратьев К.Я. Спектры поглощения пигментов растений и фраунгоферовы линии Солнца / К.Я. Кондратьев, В.А. Каневский // Доклады Академии наук СССР. – 1986. – Т. 287, № 2. – С. 507-509.
3. Кондратьев К.Я. Фраунгоферовы линии Солнца и устойчивость геометрической структуры биологических молекул / К.Я. Кондратьев, В.А. Каневский // Экспресс-информация Академии наук СССР. – № 3-87. – 16 с.
4. Фотовозбуждение электронной оболочки атома Магния и функционирование Na-K АТФазы / К.Я. Кондратьев, О.М. Рожманова, В.А. Каневский, П.П. Федченко // Доклады Академии наук СССР. – 1987. – Т. 292, № 5. – С. 1264-1266.

### ФЕМТОСЕКУНДНИЙ ЛАЗЕР З МОЖЛИВІСТЮ ЗМІНИ ДОВЖИНИ ХВИЛІ ДЛЯ БІОМЕДИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

*В.С. Войцехович, В.О. Каневський, В.І. Матяш\*, І.В. Фільчаков\*, С.Л. Зайцев\*\**

*ООО «Біофізика-Україна»,  
Україна, м. Київ, вул. Амосова, 5;*

*\*ДЗ «Інститут епідеміології та інфекційних захворювань ім. Л.В. Громашевського АМН України»,  
Україна, м. Київ, вул. Амосова, 5;*

*\*\*Національний Інститут Раку МОЗ України,  
Україна, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43*

*У статті представлені результати клініко-експериментальних досліджень терапевтичної ефективності лазерного випромінювання низької інтенсивності. В якості джерела випромінювання для цілеспрямованого впливу на різні біологічні процеси авторами статті був використаний фемтосекундний лазер з можливістю зміни довжини хвилі.*

**Ключові слова:** *фемтосекундний лазер, лазерна терапія, тимус, пухлинна тканина.*

### FEMTOSECOND LASER WITH POSSIBILITY OF CHANGE OF WAVE-LENGTH FOR BIOMEDICAL RESEARCHES

*V.S. Voytsekhovich, V.A. Kanevskiy, V.I. Matyash\*, I.V. Filchakov\*, S.L. Zaitsev\*\**

*LTD «Biophysics-Ukraine»,  
Ukraine, Kiev, Amosov Str., 5;*

*\* Institute of Epidemiology and Infectious Diseases by name of L.V. Gromashevskiy of AMN of Ukraine»,  
Ukraine, Kiev, Amosov Str., 5;*

*\*\*National Institute of Cancer of MSH of Ukraine,  
Ukraine, Kiev, Lomonosov Str., 33/43*

*The results of clinical-experimental researches of therapeutic efficiency of laser radiation of low intensity are presented in the article. As a radiant for purposeful influence on different biological processes by the authors of the article a femtosecond laser with possibility of change of wave-length was used.*

**Key words:** *femtosecond laser, laser therapy, thymus, tumour fabric.*