

В.М. Залеський,  
В.І. Гордієнко

*Інститут кардіології  
ім. М.Д. Стражеска  
АМН України,  
м. Київ  
Інститут онкології  
АМН України,  
м. Київ*

## Лазерна фотобіомодуляція: проблеми та перспективи

Laser photobiomodulation:  
problems and prospects

Механізми, покладені в основу біостимуляційної терапії, здійснюваної шляхом застосування біомодулювальних рівнів енергії й потужності випромінювання, досі повністю не з'ясовані. Однак упродовж понад 30-річного періоду накопичено значний досвід перспективних експериментально-клінічних досліджень лікування багатьох патологічних процесів, функціональних порушень і модуляції клітинних функцій.

Світло з певною довжиною хвилі та відповідними параметрами опромінення є фізіологічно значущим для організму і спричиняє модульований вплив на швидкість мітотичної активності як нормальних, так і пухлинних клітин. Нещодавно були одержані переконливі підтвердження гіпотези про те, що спектр дії багатьох клітинних реакцій указує на участь ендогенних порфіринів, цитохромів та інших сполук як ендогенних фотоакцепторів, що мають тригерну (пускову) активність. Обговорюються проблеми й напрями розвитку перспективних лазерних досліджень, зокрема лазерної фотобіостимуляції, яка найповніше відбиває механізми світлоіндукованих процесів підтримання клітинного гомеостазу.

Низькі дози видимого світла лазерних джерел випромінювання все ширше застосовуються в клінічній практиці кінця другого тисячоліття [1–13]. Виявилося, що дія світла з низькими рівнями енергії сприяє появі цілої низки біоефектів на фізіологічному, біохемічному, молекулярному рівнях і, зокрема, тих, що детермінують проліферацію [4–8, 14–21]. Виконано детальний аналіз дозозалежних реакцій біомодуляції, індукованих світлом безперервних та імпульсних джерел лазерного випромінювання з різною довжиною хвилі й у різних клітинних системах [16, 22–27]. Виявлено, що світло видимої зони спектра в досліджуваних дозах справляє значний активізувальний вплив на функціонування процесів окиснення дихального ланцюга мітохондрій [22–25] і мембранних комплексів [6, 12, 28]. У свою чер-

гу, це сприяє зміні внутріклітинної концентрації йонів, що має важливе значення для клітинної проліферації [22, 25] та/або активізує механізми фотопродукування реактивних видів кисню [22–24]. Останніми роками вивчено численні світлоіндуковані тканинні зміни й клітинні реакції [29–32], що має загальнобіологічне та клінічне значення. Однак ідентифікація первинного фотоакцептора клітини й на сьогодні залишається далеко не завершеною [30, 33].

Біостимулювальний вплив світла видимого та близького ІЧ-діапазону здійснюється завдяки фотозбудженню ендогенних хромофорів. Порівняння спектра дії клітинних реакцій зі спектрами поглинання потенційних фотоакцепторних молекул виявило їх подібність у таких клітинних хромофорів, як флавіни, цитохроми дихального ланцюга мітохондрій, каталаза, цитохромоксидаза, церулоплазмін, що виступають у ролі первинних фотомішеней [16–18, 22–25, 34–36]. При цьому на роль первинних фізико-хімічних реакцій претендують структурно-конформаційні зміни ліпідів у клітинних мембранах [12].

У клінічній практиці застосовують «робочі» значення лікувальної сумарної активності енергетичної дози, які в середньому дорівнюють  $5 \text{ Дж/см}^2$  та перевищують  $200 \text{ мВт/см}^2$  [5, 9, 37]. Це певною мірою зумовило широке використання таких термінів, як «випромінювання низької інтенсивності», «низькоенергетичне лазерне випромінювання», «низькорівнева лазерна терапія», а також — «soft laser», «cold laser», «mid laser» та ін., семантика яких підкреслює тим самим «нетепловий характер дії» [17, 38–41]. Причому наведений ряд термінів було сформульовано після виявлення Endre Mester у 1967 р. серії біотканинних фотореакцій та опису цього феномена як «лазерна біостимуляція» [40].

Незважаючи на певні успіхи, досягнуті на перших етапах досліджень у механізмі фотобіомодуляції, окремі результати терапевтичних програм із

застосуванням низькоінтенсивного когерентного (лазерні джерела) та некогерентного (сонячне світло, лампові джерела) світла залишається дискусійною темою у фахівців різних медичних галузей [4, 10, 42, 43]. Очевидно, такі результати досліджень не відзначаються вірогідною повнотою й залишаються недостатньо контрольованими [4, 9, 42].

Далі були проведені дослідження, пов'язані з аналізом фотобіологічного феномена.

У серії публікацій [12, 19, 24, 28, 33, 34, 45–46] одержані дані стосуються проблеми ідентифікації клітинно-специфічних реакцій та пошуку первинного фотоакцептора.

Спектр дії мітотичної активності нормальних (HCV 29) і пухлинних (MCF 7; J 82) клітин тканинної культури вказував на те, що основна клітинна фотовідповідь локалізується в різних частинах ( $\lambda = 410$  нм,  $\lambda = 635$  нм та  $\lambda = 805$  нм) діапазону видимої ділянки спектра [46]. Ці дані корелювали з активацією проліферації фібробластів, модульованої лазерним випроміненням на довжині хвиль  $\lambda$ , що дорівнюють 633 та 780 нм [25].

У цьому випадку ендogenous порфірини й цитохроми, а також біополімери оцінювали як основні молекули-мішені первинної фотоакцепції. Завдяки порівняльному аналізу спектрів дії клітинних реакцій одержані результати лазерної фотобіостимуляції синтезу клітинної ДНК і РНК (in vitro) дозволяють припустити участь окисненої та відновленої форми цитохрому **a/a 3** як світлопоглинальної сполуки [22, 23].

На жаль, рутинні методи аналізу світла флюоресценції є недостатньо чутливими і не можуть бути надійним інструментом дослідження первинної фотоакцепції [32]. Водночас спектр дії клітинних реакцій, що формуються у відповідь на вплив світла (видимого і ближнього ІЧ-діапазонів), які стимулюють та інгібують зростання клітин, найадекватніше відповідає смузї поглинання компонентів дихального ланцюга (флавіни, цитохроми) мітохондрій [23–25, 28, 45]. Виявилось, що поглинання лазерного випромінення в заданих діапазонах спектра спричиняє підвищення внутрішньоклітинної рН, що стимулює мітоз [27]. Одержані дані про мітохондріальну локалізацію первинних фотоакцепторних молекул-пігментів також підтверджені результатами спостережень про посилення синтезу АТФ в ізольованих мітохондріях при лазероіндукованій стимуляції клітинного росту [27, 33, 34, 47]. У цьому випадку зміщен-

ня максимумів поглинання цитохрому **a/a 3** або цитохромоксидазит у ближній ІЧ-ділянці (між  $\lambda$ , що дорівнюють 700 та 900 нм) може бути поясненням високої чутливості пігментовмісних молекул-мішеней до лазерного випромінення [23, 24, 34]. За допомогою спектроскопічних досліджень уточнена роль клітинних концентрацій ендogenous молекул порфіринового ряду у процесі фотоакцепції [29, 48, 49]. Вона пояснюється локалізацією їх максимумів у видимому діапазоні (між  $\lambda$ , що дорівнюють 600 та 650 нм) спектра [26, 50, 51].

Слід зазначити, що на роль фотопігментів можуть претендувати кілька хромофорів різного хемічного походження одночасно, оскільки реєструється досить широкий спектральний діапазон фотобіостимульованих ефектів [43, 44].

Для оптимізації пошуку клітинних ефектів після використання низьких доз лазерного опромінення порівнювали швидкості мітотичної активності в культурі синхронізованих і несинхронізованих епітеліальних (ТЗ) клітин пухлин сечового міхура [46]. При ідентичних параметрах опромінення виявлена однакова стимуляція (при щільності енергії 4 Дж/см<sup>2</sup>) й однакове гальмування (–20 Дж/см<sup>2</sup>) швидкості мітозів. Автори висловлюють припущення про відсутність у межах клітинного циклу спеціальної фоточутливої фази. З огляду на це необхідна подальша розробка ефективних схем впливу, які б підтвердили відмінності стимульовальної та інгібувальної дії низькоінтенсивного лазерного випромінення на клітинний ріст.

Ускладнення схем підведення оптичного випромінення (оптичних шляхів) протягом останніх років потребує оптимізації урахування доз [7, 32]. В окремих роботах описано дозозалежні біостимульовальні ефекти лазерного впливу у межах до 20 Дж/см<sup>2</sup>, а механізм дії описано як «нетепловий» [9, 44, 52]. Крім того, в експерименті не знайдено відмінності біостимульовальної активності лазерного випромінення при використанні різних значень щільності потоку потужності (у діапазоні 10–150 мВт/см<sup>2</sup>) [52]. На думку авторів, подібна незалежність від щільності потоку потужності (до 200 мВт/см<sup>2</sup> включно) може бути зумовлена відсутністю температурних порушень в опроміненій тканині. Когерентність як одна з принципових характеристик лазерного випромінення (за підсумками багатьох порівняльних експериментів із лазерними і ламповими джерелами світла) ніби не відіграє істотної ролі в індукції

фотобіомодулювальних ефектів [10, 46, 53].

Отже, в даному огляді поряд із біостимулюванням описані ефекти фотоінгібування процесів клітинного зростання низькоінтенсивним лазерним випроміненням. Таким чином, для найповнішого врахування всього спектра фотоефектів у лазерних біомедичних дослідженнях доцільно ширше застосовувати термін «фотобіомодуляція». Термін «лазерна біофотомодуляція» об'єднує групу фотоініційованих процесів і не містить протиріч стосовно фотобіологічних принципів взаємодії квантів світла певної спектральної характеристики одночасно з кількома клітинними хромосомами як фотоакцепторними клітинами-мішенями. Втім імовірно, що ці фотоіндуковані процеси є лише одним з аспектів більш загального явища — фотосигналу [37], який останніми роками привертає увагу дослідників.

## Література

1. Бобров В.В., Залесский В.Н. // Тер. архив. — 1990. — № 9. — С.145–147.
2. Гордиенко В.И., Залесский В.Н. // Врач. дело. — 1989. — № 10. — С. 4–8.
3. Залесский В.Н., Бобров А.А., Заворотная Р.М. // Кардиол. — 1988. — № 6. — С. 121–125.
4. Овчаренко Н.М. // Фотобиол. и фотомед. — 2000. — № 1–2. — С. 121–125.
5. Прикладная и лазерная медицина / Под ред. Х.П. Берлиена, Г.И. Мюллера. — М.: ИНТЕРЭКСПОРТ, 1997. — С. 336.
6. Самойлов Н.Г. // Фотобиол. и фотомед. — 2000. — № 1–2. — С. 76–83.
7. Atsum K. Past, present and future of laser surgery and medicine // 8<sup>th</sup> Congress APA of Laser Medicine and Surgery (JSLMS). — Singapore, 2000. — P. 44–45.
8. Azaiby A., Chali L., Dyson M. // Laser Therapy. — 1998. — Vol.10. — P.153–158.
9. Batford J.R. // Lasers Surg. and Med. — 1995. — Vol. 16. — P. 331–342.
10. Baxter G.D. Therapeutic Lasers — Theory and Practice. — London: Churchill Livingstone, 1994. — 259 p.
11. Huu T.V., Trung N.V., Ban N.D. et al. Effectiveness of intravenous He–Ne laser irradiation in treatment of hemiparalysis, sequel of cerebrovascular infarct // 8<sup>th</sup> Congress APA of Laser Medicine and Surgery (JSLMS). — Singapore, 2000. — P. 99–100.
12. Kirtesz I., Fenio M., Mester E. // Opt. and Laser Technol. — 1986. — № 1. — P. 31–32.
13. Zalessky V.N., Timen A.E. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 513–514.
14. Бойко В.В., Горбенко В.Н., Залесский В.Н. // Эксперим. онкол. — 2000. — Т. 22, Suppl. — С. 351.
15. Гамалея Н.Ф., Федорчук А.Г., Прокопенко И.В. // Фотобиол. и фотомед. — 1999. — № 1. — С. 44–49.
16. Зубкова С.М. // Биол. науки. — 1978. — № 7. — С. 36–37.
17. Жуков Б.Н., Лысов Н.А. Лазерное излучение в экспериментальной и клинической ангиологии. — Самара: СМИ, 1996. — 168 с.
18. Илларионов В.Е. Основы лазерной терапии. — М.: Респект, 1992. — 123 с.
19. Kipshidre N., Khanna A., Moses J. et al. // Lasers Surg. Med. — 2000. — Vol. 24. — Suppl. 12. — P. 8–9.
20. Nicholaichik V., Keelan M.N., Shaikar L.R. et al. // Ibid. — P. 9–10.
21. Zalessky V.N., Kipnovitskaya I.G., Bobrov V.A. // J. Molecular and Cellular Cardiol. — 1993. — Vol. 25. — Suppl.1. — P. 136–137.
22. Karu T., Andreichuk T., Ryabykh T. // Lasers Surg. Med. — 1993. — Vol. 13. — P. 453–462.
23. Karu T., Pyatibrat L., Kalendo G. // Ibid. — 1996. — Vol. 18. — P. 171–174.
24. Karu T., Pyatibrat L., Ryabykh T. // Ibid. — 1997. — Vol. 21. — P. 485–492.
25. Lubart R., Friedmann H., Sinyakov M. et al. // Ibid. — P. 493–499.
26. Lubart R., Wollman Y., Friedmann H. // J. Photochem. Photobiol. B.Biol. — 1992. — Vol. 121. — P. 305–310.
27. Tiphlova O. // Photochem. Photobiol. — 1998. — Vol. 48. — P. 467–471.
28. Karu T. // Lasers Life Sci. — 1988. — Vol. 2. — P. 53–74.
29. Голубева Н.Г., Гордиенко В.И., Великанов А.О. // Журн. приклад. спектроск. — 1988. — № 6. — С. 936–940.
30. Enwemeka C.S. // Tissue Cell. — 1992. — Vol. 24. — P. 511–523.
31. Karu T. // IEEE J. Quant. Elect. — 1987. — Vol. 23. — P. 1703–1708.
32. Loree T., Bigio I., Spingler G. // J. of Laser Applications. — 1992. — Vol. 4. — № 2. — P. 58–61.
33. Kato M., Shinzawa K., Yoshikawa S. // Photobiochem. Photobiophys. — 1981. — № 1. — P. 31–32.
34. Friedmann H., Lubart R., Laulich I., Rochkind S. // J. Photochem. Photobiol. B.Biol. — 1991. — Vol. 11. — P. 87–95.
35. Fork R.L. // Science. — 1971. — Vol. 171. — P. 907–908.
36. Lubart R., Malik Z., Rochkind S. // Laser Therapy. — 1990. — Vol. 22. — P. 65–68.
37. Lowe A.S., Baxter G.D., Walsh D.M., Allen J.M. // Lasers Med. Sci. — 1995. — Vol. 10. — P. 253–260.
38. Bisht D. // Ind.J.Exp.Biol. — 1999. — Vol. 37. — № 2. — P.187–189.
39. Hasan P. Soft laser application in medicine // 8<sup>th</sup> Congress APA of Laser Medicine and Surgery (JSLMS). — Singapore, 2000. — P.44–45.
40. Mester E. Laser application in promoting of wound healing / Koebner H.K. (Ed.) Lasers in Medicine, Vol. 1. — Chichester, New York, Toronto: John Wiley and Sons, 1980. — P. 83–95.
41. Zalessky V.N. // Lasers in Medical Science. — 1992. — Vol. 7. — № 2. — P. 181–182.
42. Gamaleya N.F. Laser biomedical research / Wolbarsht M.L. Laser Applications in Medicine and Biology, Vol.3. — New York: Plenum Press, 1997. — P.1–175.
43. Zalessky V.N. // Photochem. Photobiol. — 1993. — Vol. 57. — Suppl. 1. — P. 98–99.
44. Bregel H.F., Engels C., Ginkel G., Bar P.R. // Therapy. — 1994. — Vol.6. — P.28–36.
45. Olsen J.E., Schimmerling W., Tobias C.A. // Brain Res. — 1981. — Vol. 204. — P. 436–440.
46. Sroka R., Schaffer M., Fuchs C. et al. // Lasers Surg. Med. — 1999. — Vol. 25. — P. 263–271.
47. Herbert E.E., Bhusate L.L., Scott D.L. // Lasers Life Sci. — 1989. — Vol. 3. — P. 37–45.
48. Kadish K.M., Smith K.M., Guillard R. The Porphyrin Handbook. — New York: Academic Press, 1999. — 3334 p.
49. Malik Z., Djaldetti M. // Int. J. Cancer. — 1980. — Vol. 26. — P. 495–500.
50. Battle, Porphyrins, porphyrias, cancer and photodynamic therapy: a model for carcinogenesis // Photochem. Photobiol. B.Biol. — 1993. — Vol. 20. — P. 5–22.
51. Zalessky V.N., Bass T.Yu., Egorova G. et al. // Lasers in Medical Science. — 1989. — Vol. 4. — P. 265–268.
52. Waldow S.M., Henderson B.N., Dougherty T. // Lasers Surg. Med. — 1987. — Vol. 7. — P. 12–22.
53. Bertoloni G., Sachetto R., Baro E. // J. Photochem. Photobiol. B.Biol. — 1993. — Vol. 18. — P. 191–196.

Дата надходження: 22.02.2002.

Адреса для листування:  
Залеский Вячеслав Миколайович,  
Інститут кардіології ім. М.Д. Стражеска АМНУ,  
вул. Народного ополчення, 5, Київ, 03151, Україна