

## ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ВИДИМОГО И БЛИЖНЕГО ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ИМПЛАНТИРОВАННЫЕ ОПУХОЛИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

К.А.Самойлова, Н.Н.Князев, А.А.Зимин, Н.А.Филатова, А.А.Галактионова

Институт цитологии РАН,  
194064, Россия, г. Санкт-Петербург; Тихорецкий пр., 4, тел.: 7-812-297-23-67,  
e-mail: samoilova@yandex.ru

УДК: 616-092.9-006-085.831

*Несмотря на многолетнее успешное применение в клинической практике видимого и ближнего инфракрасного низкоинтенсивного излучения лазеров, светодиодов и других источников, отношение к нему часто остается сдержанным из-за опасения стимулирующего влияния на прогрессию злокачественных опухолей. Между тем фототерапия уже давно используется в клинической онкологии в целях профилактики и лечения осложнений, развивающихся после стандартной противоопухолевой терапии. Большая роль в привлечении в клиническую онкологию современных фототерапевтических методов и в обосновании их онкологической безопасности принадлежит результатам опытов по воздействию видимого и ближнего инфракрасного излучения на рост и метастазирование перевивных злокачественных опухолей у лабораторных животных. Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что такое излучение не только не стимулирует злокачественный рост и метастазирование, но значительно тормозит эти процессы. В настоящей работе обобщен более чем 25-летний опыт применения низкоинтенсивного видимого и ближнего инфракрасного излучения у лабораторных животных с имплантированными опухолями.*

**Ключевые слова:** имплантируемые опухоли, лабораторные животные, низкоинтенсивное видимое и ближнее инфракрасное излучение.

### Введение и постановка задачи

Опасения стимулирующего влияния низкоинтенсивного видимого (далее - ВИ) и ближнего инфракрасного излучения (далее - ИКИ) на опухолевый рост базируются, в основном, на публикациях о возможности повышения пролиферативной активности опухолевых клеток после их облучения *in vitro*. Гораздо менее известен тот факт, что фототерапия (ФТ) уже многие годы успешно применяется для профилактики и лечения осложнений после хирургического удаления опухоли, химиотерапии и терапевтического воздействия ионизирующей радиации. Показанием к применению в клинической онкологии низкоинтенсивного излучения оптического диапазона является комплекс индуцируемых им изменений на локальном и системном уровнях: иммуномодулирующее и противовоспалительное действие, улучшение гемореологии, гемостаза и микроциркуляции, стимуляция репаративных процессов, ослабление боли. Основные результаты применения современных методов ФТ в клинической онкологии суммированы нами в работе [21].

Большая роль во внедрении ФТ в онкологическую практику принадлежит результатам опытов на лабораторных животных с перевивными опухолями. В 1980–1990-е гг. такие исследования проводились практически во всех онкологических научных центрах (ОНЦ) СССР – в Москве, Ленинграде, Ростове-на-Дону, Томске, Киеве, Ташкенте. Было показано, что воздействие ВИ и ИКИ на животных с подкожно имплантированными опухолевыми клетками вызывает значительное торможение роста опухолей и снижает частоту появления метастазов.

**Задача настоящей работы:** обобщить накопленные в литературе данные о применении низкоинтенсивного ВИ и ИКИ в экспериментальной онкологии и обосновать онкологическую безопасность ФТ. Обзор литературных данных мы дополнили результатами собственных экспериментов, в которых изучалось действие полихроматического излучения, близкого к естественной радиации Солнца, но без ее минорной ультрафиолетовой компоненты, а также полного спектра ВИ на мышей с имплантированными опухолями.

### Материалы и методы

Поиск литературы об использовании низкоинтенсивного ВИ и ИКИ в экспериментальной онкологии за последние 25 лет проводился в библиотеках России и базе Medline. Критерием включения данных в обзор было изучение влияния этих излучений на частоту развития, скорость роста и метастазирование имплантированных лабораторным животным злокачественных опухолей (ЗО). Критерием исключения было исследование влияния излучения на клеточные линии в условиях *in vitro*.

В первой серии наших опытов мы подвергали воздействию света мышей линии СЗНА (самки массой 18-20 г) разводки питомника «Рапполово» РАМН, которым трансплантировали опухолевые клетки сингенной гепатомы мыши МГ-22А. Клетки получали из банка клеточных культур Института цитологии РАН и культивировали в среде DMEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки («Биолот», Россия). Культуру опухолевых клеток в фазе экспоненциального роста ресуспендировали в среде Хенкса и инокулировали мышам под кожу спины из расчета  $1 \times 10^5$  или  $2,5 \times 10^4$  клеток на мышь. Наблюдая за ростом опухолей в течение 2 месяцев, регистрировали частоту их развития (количество мышей со сформировавшимися опухолями), скорость роста новообразований (по результатам измерения их объема) и выживаемость мышей-опухоленосителей [16].

В следующей серии опытов мышам перевивали клетки гепатомы через 1 сутки после облучения последних *in vitro* в растворе Хенкса без фиолетового красного в чашках Петри. В качестве источников света использовали 2 аппарата швейцарского производства: «Биоптрон-2» (полихроматическое излучение, длина волны 480-3400 нм, 95% поляризации, плотность мощности 40 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 2 и 4 мин., плотность энергии 4,8 Дж/см<sup>2</sup> и 9,6 Дж/см<sup>2</sup>) и Q-light (полный спектр ВИ, длина волны 385-750 нм, 95% поляризации, плотность мощности 40 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 4 и 16 мин., плотность энергии 9,6 Дж/см<sup>2</sup>). В течение 2 месяцев регистрировали частоту развития ЗО, их объем и выживаемость животных-опухоленосителей.

### Результаты

Первая попытка изучить влияние низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на экспериментальные ЗО у лабораторных животных была предпринята в 1964 г. в Бостонском медицинском центре [19]. В течение 0,5-3 месяцев 20 типов ЗО (в том числе 11 опухолей человека), имплантированных под слизистую защечных мешков 700 сирийских хомячков, облучали ИКИ рубинового лазера в импульсном режиме (длина волны 694 нм). Диаметр облучаемого участка составлял 2 мм; за курс опухоль получала 60-380 Дж энергии НИЛИ.

Авторы зарегистрировали полную регрессию облучавшихся имплантированных меланом человека за 15-29 дней. У животных, не получавших НИЛИ, опухоли сохранялись до 255 сут., а выживаемость хомячков не превышала 29%, тогда как у облученных животных она достигала 72%.

Пытаясь оценить роль теплового эффекта НИЛИ, авторы [19] с помощью миниатюрной термодпары измеряли температуру облучаемой ткани на глубине 2, 5 и 10 мм. Было установлена минимальная роль нагрева, что подтверждалось морфологической картиной после воздействия НИЛИ, которая резко отличалась от термического ожога. Авторы предположили, что ИКИ инактивирует или модифицирует метаболиты, необходимые для развития ЗО.

Спустя почти 20 лет проблема влияния НИЛИ на экспериментальные ЗО была поднята онкологами бывшего СССР. В начале 1980-х гг. исследователи ВОНЦ в Москве обосновали возможность применения красного излучения He-Ne лазера для ускорения вялотекущих регенераторных процессов у онкологических больных в послеоперационном периоде [7]. Эффект ускорения заживления кожных ран у крыс наблюдали после воздействия НИЛИ 5 раз в неделю с плотностью мощности 250-300 мВт/см<sup>2</sup>. Полное заживление ран происходило через 14 суток у 100% облученных НИЛИ животных (группа L+) и только у 50% необлученных (группа L-). У крыс группы (L+) раньше исчезало периферическое воспаление, тогда как в группе (L-) оно сохранилось до 21-х суток. Раны необлученных животных затягивались грубым рубцом, тогда как в группе (L+) раневой

дефект восстанавливался рыхлой соединительной тканью, структура которой была близка к нормальной, т. е. высококодифференцированной [7].

В следующей серии опытов [7, 8] крысам имплантировали саркому-45. Когда 30 достигала 2 см в диаметре, ее удаляли, и на следующий день начинали облучение раны He-Ne лазером до ее полного заживления на 14-е сутки (плотность энергии до 70 Дж/см<sup>2</sup>). Рецидивирование неопластического процесса было обнаружено у 42% необлученных (L-) животных, в том числе у 27% - в области раны. У облученных НИЛИ (L+) крыс вторичные опухолевые узлы развивались только в 25% случаев (их них в 11% случаев - в области раны). Таким образом, стимулируя у животных регенераторные процессы после удаления опухолей, НИЛИ значительно снижало частоту метастазирования.

В этих же работах [7, 8], а также в [14] представлены результаты исследования влияния курсового облучения He-Ne лазером на частоту метастазирования нескольких типов высокометастазирующих 30 у мышей - меланомы B-16 и 2 штаммов клеток рака молочной железы (PMЖ) мышей: штамма KSLM со 100%-ным метастазированием в легкие и штамма BMP с широким органным спектром метастазирования (легкие, лимфоузлы, матка, яичники, почки, надпочечники, поджелудочная железа и печень). Опухолевые клетки этих штаммов PMЖ имплантировали под кожу хвоста мышей, что упрощало процедуру ежедневного облучения развивающейся 30 и наблюдение за последней. В этих условиях опухоль растет медленно, и гибель животных происходит из-за ее интенсивного метастазирования.

В опытах со 180 мышами линии A/Snell животных контрольной группы (L-) не облучали. Мышей первой опытной группы (L1+) начинали облучать He-Ne лазером (плотность мощности 200-250 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция - 2-4 мин.) через 2 часа после имплантации KSLM; воздействие производилось ежедневно в течение 14 суток. Облучение животных второй опытной группы (L2+) начинали после появления опухоли (через 2 недели после имплантации). Воздействию НИЛИ подвергали область имплантации опухолевого материала, а позднее

- сами развивающиеся опухоли.

Через 30 суток выяснилось, что частота метастазирования в легкие была наименьшей (20%) у мышей, облучение которых начинали сразу после имплантации опухолей (L1+), наибольшей (62%) - у животных контрольной группы, промежуточной (45%) - у мышей, облучение которых началось после формирования опухоли (L2+). Различия в результатах были статистически достоверны ( $P < 0,01$ ). Осталось, однако, не ясным, связано ли различие между группами (L1+) и (L2+) с тем, что курс облучения животных группы (L2+) был вдвое короче - 14 суток против 28 в группе (L1+).

Через 4 месяца после имплантации клеток штамма KSLM метастазы в легкие были обнаружены у 92% мышей контрольной группы и у 76% мышей групп (L+) [14].

Наиболее высокий антиметастатический эффект облучения He-Ne лазером с аналогичными показателями НИЛИ наблюдался в опытах с BMP-штаммом клеток PMЖ, проведенных на 260 мышах линии C57BL [7, 14]. Здесь, кроме групп (L-), (L1+) и (L2+), была выделена также группа животных (L3+), где проверяли эффект облучения НИЛИ в течение 28 суток участка тела, отдаленного от области имплантации опухолевого материала.

Через 170 суток после имплантации 30 все 100% животных групп (L-) и (L3+) погибли с множественными метастазами, однако в последней группе количество метастазов в почках и надпочечниках было меньше, чем в контроле и в группе (L2+). В группе (L1+), где облучалась область имплантации в течение 28 суток, погибли только 50% животных, причем выжившие не имели метастазов и сохраняли жизнеспособность еще по меньшей мере 3 месяца.

Влияние курса ФТ на выживаемость животных изучалась также на 81 мышах линии C57BL, которым под кожу спины прививали меланому B-16 [7, 8]. Животных распределили на 3 группы по 27 мышей. Животных контрольной группы не облучали (L-). У мышей группы (L1+) начинали ежедневно облучать He-Ne лазером (плотность мощности 200 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 3-5 мин.) место имплантации сразу после введения опухолевого материала; курс ФТ - 15 суток. Животных группы (L2+)

начинали облучать с момента появления опухоли (на 7-е сутки после ее имплантации) и ежедневно воздействовали на ЗО в течение 7 суток.

В контрольной группе гибель животных начиналась на 11-е сутки после имплантации ЗО, в группе (L2+) – на 12-й день, в (L1+) – на 15-е сутки. В контроле 10% животных погибло на 23-е сутки, в группе (L2+) – на 26-е сутки, в группе (L1+) – на 29-е сутки. Аналогичное различие наблюдалось и при анализе 50% выживаемости животных. Все мыши погибали с метастазами в легких; различий в интенсивности метастазирования между контрольной и опытными группами обнаружено не было.

На основании полученных данных авторы [7, 8, 14] пришли к заключению, что прямое воздействие НИЛИ He-Ne лазера на имплантированный опухолевый материал в дозах, стимулирующих регенерацию кожных ран у мышей, не ускоряет роста ЗО и ее диссеминации, а, напротив, тормозит эти процессы, увеличивая продолжительность жизни животных.

Таким образом, результаты работ, выполненных в ВОНЦ в начале 1980-х гг., свидетельствовали о том, что курс облучения красным НИЛИ He-Ne лазера области имплантации опухолевых клеток у лабораторных животных значительно снижает частоту рецидивирования неопластического процесса, частоту метастазирования и способствует увеличению выживаемости и продолжительности жизни животных. Чем раньше после имплантации начинался курс ФТ, тем выше был противоопухолевый эффект. Облучение участков поверхности тела, отдаленных от локализации опухоли, давало гораздо менее выраженные результаты.

Параллельно с этим проводились работы в ОНЦ Украины. У 150 крыс с имплантированными опухолями (карцинома Герена) изучалось влияние красного НИЛИ He-Ne лазера с плотностью мощности 50 мВт/см<sup>2</sup> как с применением ФТ в качестве монометода, так и в комбинации с рентгеновским излучением [2]. В первой серии опытов использовались животные с большими опухолями (13-26 см<sup>3</sup>). В группе (L1+) ежедневно облучали лазером область позвоночника после предварительного удаления волосяного покрова у животных

в течение 3 суток по 3 минуты (плотность энергетической дозы 9 Дж/см<sup>2</sup>). В группе (L2+) ФТ проводилась в течение 5 суток по 5 минут (25 Дж/см<sup>2</sup>). Животные контрольной группы (L-) лазером не облучались.

Во второй серии опытов, где использовались животные с маленькими опухолями (2-3 см<sup>3</sup>), применялись те же режимы воздействия НИЛИ, что и в первой.

В первой серии опытов было показано, что облучение He-Ne лазером области спины у крыс с уже сформированными опухолями (13-26 см<sup>3</sup>) более чем вдвое повышает выживаемость животных, стимулируя у них регрессию опухолевого процесса. Через 2 недели выживаемость в контрольной группе не превышала 20%, тогда как в группе (L1+) она составила 45%, а в (L2+) – 55%. При этом у 19-22% выживших после ФТ крыс опухоль не выявлялась (рассосалась).

Во второй серии опытов выживаемость животных во всех трех группах составила 65-70% через 2 недели. При этом размер новообразований в контрольной группе достигал 27-30 см<sup>3</sup>, у животных группы (L1+), получивших 3 сеанса ФТ по 3 минуты – 24-29 см<sup>3</sup>, а в группе (L2+) после 5 сеансов ФТ по 5 минут – 18-23 см<sup>3</sup>. У 28% выживших животных опухоли не обнаруживались.

В третьей серии опытов крысы с привитыми ЗО получали полное рентгеновское облучение (600 R). При этом одна группа животных подвергалась ФТ в оптимальном режиме (L+), а другая использовалась как контроль (L-). У крыс контрольной группы количество эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови было достоверно ниже, чем у животных группы (L+), что коррелировало с более низким содержанием миелокариоцитов в костном мозге. Эти результаты позволяли авторам заключить, что ФТ красным НИЛИ может уменьшать некоторые отрицательные последствия рентгенотерапии.

Таким образом, курс ФТ не стимулировал рост опухоли, а скорее тормозил его и способствовал увеличению выживаемости животных-опухоленосителей. Осталось, однако, неясным, облучалась ли при этом опухоль; не указаны показатели статистической достоверности этих различий. Более убедительны данные [2] об усилении

противоопухолевого эффекта рентгенотерапии путем воздействия НИЛИ по критерию размера опухолей и степени стимуляции гемопоэза.

Другой коллектив украинских авторов в 1988 г. предложил новый метод воздействия НИЛИ на лабораторных животных с имплантированными опухолями – внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК) [3]. В опытах использовались 550 мышей линий С57В1/6, АКР, ВАЛВ/С. Животным имплантировали карциному легких Льюиса (LLC, в заднюю лапку), меланому В-16 (туда же) или асцитную карциному Эрлиха (ЕАС, в брюшную полость). ВЛОК проводили с помощью моноволоконного световода диаметром 0,6 мм, вводившегося через инъекционную иглу под кожу хвоста между двумя венами. Кровь облучали НИЛИ трех цветов – красным (He-Ne лазер, длина волны 633 нм), зеленым (Ar лазер, 515 нм) или синим (лазер He-Cd, 440 нм). Выходная мощность во всех случаях составляла 5 мВт, экспозиция – 5-10 мин.

Курс ежедневных ВЛОК выполнялся в течение 5-10 суток. В группе (L1+) его начинали на следующий день после имплантации, в группе (L2+) – после появления опухолей (LLC и В-16).

Противоопухолевое действие трех видов НИЛИ оказалось сходным. Оно в большей степени зависело от срока начала ФТ после имплантации опухоли: лучший эффект получен у животных группы (L1+). При этом более продолжительным (на 10%) оказывался латентный период развития опухолей LLC и В-16, снижались скорость их роста (на 10-12%) и частота метастазирования (на 10-20%). Среднее количество метастазов оказывалось почти в 2 раза меньше, а продолжительность жизни мышей с LLC и В-16 увеличивалась на 31-53%. У мышей с ЕАС продолжительность жизни возрастала на 11%, но количество живых опухолевых клеток в асцитной жидкости уменьшалось в 1,6-2,3 раза.

В работе [3] отмечен также эффект стимуляции ВЛОК гемопоэза, клеточного и гуморального иммунитета у летально облученных рентгеновским излучением мышей (80 Гр).

В более поздней работе киевского коллектива [13] использовались 200 мышей обоих полов (линия С57В1/6) с импланти-

рованными опухолями LLC. На следующий день после имплантации ZO начинали курс ежедневных процедур ВЛОК с применением красного НИЛИ He-Ne лазера. Экспозиция 6-12 мин., плотность энергетической дозы 1,5-3 Дж/см<sup>2</sup>, продолжительность курса 6-12 суток.

Авторы приводят морфологическую картину деградации опухоли в результате ФТ. После 6 сеансов ВЛОК появляются мелкие очаги деструкции опухолевой паренхимы, но не соединительнотканной стромы. Внутриопухолевая сеть капилляров расширена и около них регистрируется наибольшее количество разрушенных опухолевых клеток. Чем дальше от стенок капилляров, тем больше жизнеспособных опухолевых клеток. Соединительная ткань стромы при этом не имеет признаков повреждения. После 12 сеансов ВЛОК опухоль имеет меньшие размеры, в ней отмечаются большее число участков некротического распада, концентрация разрушенных опухолевых клеток около расширенных капилляров опухоли. Эти данные позволяют предполагать, что именно кровь является источником факторов, вызывающих деструкцию опухоли.

В целом опыты проф. Н.Ф.Гамалеи и его сотрудников позволяют предполагать, что подавление неопластического процесса может быть индуцировано воздействием видимого НИЛИ только на периферическую кровь. Сами авторы связывают противоопухолевое действие ВЛОК с активацией клеточного и гуморального иммунитета.

В 1990-е гг. к обоснованию эффективности применения ФТ в экспериментальной онкологии присоединились другие ОНЦ бывшего СССР. Онкологи Узбекистана на модели перевиваемой саркомы-45 у крыс изучили влияние курса ФТ с применением He-Ne лазера (плотность мощности красного НИЛИ 5-5,3 мВт/см<sup>2</sup>) на опухолевый рост и рецидивирование опухоли после ее радикального или заведомо неполного хирургического иссечения [4].

Через 4 месяца после облучения раны, образовавшейся вследствие радикального удаления опухоли, рецидивы в группе животных, получивших курс ФТ (L+), отсутствовали, тогда как в контрольной группе (L-) их частота достигла 40% (у 30% животных - в области раны). После прямого об-

лучения НИЛИ неудаленной части опухоли (L+) отмечались торможение роста последней на 80% за счет развития дистрофических и некротических процессов и увеличение продолжительности жизни животных на 30-40 суток по сравнению с контролем. Отмечено усиление эффекта рентгенотерапии в сочетании с воздействием НИЛИ, что приводило к полному регрессу опухоли. К сожалению, в статье [4] не приводятся детали курса ФТ и результаты статистической обработки данных.

Московские онкологи [15] продолжили исследования влияния красного НИЛИ He-Ne лазера (5 ежедневных сеансов) на раневой процесс у животных-опухоленосителей. После курса ФТ у животных группы (L+) регистрировались активная грануляция раны, уменьшение ее размеров на 2/3, снижение нейтрофильного воспаления. По-

лное заживление раны в контрольной группе, не получавшей ФТ (L-), наступало через  $18,8 \pm 0,3$  суток, в опытной группе (L+) – на 10-е сутки.

С 15-х суток в опытной группе животных с аденосаркомой МЖ Са-755 начиналось торможение роста опухоли, и на 25-е сутки объем последней был в 3,2 раза меньше, чем в группе (L-), а продолжительность жизни животных группы (L+) – на 7 суток больше, чем в контроле (табл. 1).

У животных группы (L+) с саркомой Уокера, получавших ФТ, достоверное торможение роста опухоли происходило с 13-х суток, когда ее объем был в 2 раза меньше, чем в контроле, а продолжительность жизни в опытной группе была на 8 суток больше по сравнению с животными группы (L-) (табл. 1).

Таблица 1

**Ингибирующее влияние курса облучений красным НИЛИ He-Ne лазера на рост имплантированных опухолей и продолжительность жизни животных-опухоленосителей со скальпельными ранами [15]va**

Группы животных	Объем опухоли (см <sup>3</sup> ) в сроки после имплантации						Продолжительность жизни (суток)
	6 суток	9-10 суток	13 суток	15-16 суток	20-21 суток	25 суток	
Аденосаркома МЖ Са-755							
(L-)	-	0,4±0,02	1,6±0,5	6,0±1,8	12,7±1,5	26,0±2,8	25,0±2,1
(L+)	-	0,4±0,02	0,7±0,2	1,9±1,1*	7,5±2,0*	8,1±1,6***	32,1±2,1
Карциносаркома Уокера							
(L-)	19,5±2,6	34,0±3,5	60,0±2,1	81,9±1,0	-	-	13,4±2,2

Достоверное отличие от контроля: \* -  $P < 0,05$ , \*\* -  $P < 0,01$ , \*\*\* -  $P < 0,001$

Согласно данным работы [15], цитостатический эффект внутрибрюшинного введения циклофосфана (ЦФ) животным с аденосаркомой МЖ значительно возрастает при сочетании с курсом ФТ. В параллельных опытах авторы исследовали противоопухолевый эффект курса ближнего ИК НИЛИ (длина волны 890 нм). Была отмечена его более высокая активность в сравнении с курсом ФТ красным НИЛИ He-Ne лазера. Однако если ФТ красным НИЛИ сочетали с предшествующим введением животным ЦФ, то эффективность курса комплексного лечения достигала

уровня таковой при использовании ближнего ИКИ. Более того, в этом случае полностью исчезали общетоксические проявления действия ЦФ в использованной дозе (100 мг/кг массы тела животного). В то же время кожные изъязвления в области опухоли не исчезали после курса ФТ с применением ИК НИЛИ. Авторы подчеркивают, что противоопухолевый эффект двух видов ФТ развивается при использовании доз, стимулирующих репарационные процессы в ранах этих животных. Таким образом, НИЛИ He-Ne лазера улучшает действие цитостатика ЦФ.

Возможность улучшения результатов химиотерапии экспериментальных опухолей при ее сочетании с 10-дневным курсом облучения животных красным НИЛИ He-Ne лазера (плотность мощности 15 мВт/см<sup>2</sup>) была продемонстрирована в работе онкологов из Ростова-на-Дону [17]. Химиотерапию (внутрибрюшинное введение ЦФ) начинали, когда объем имплантированной опухоли достигал 1,5 см<sup>3</sup>. ЦФ вводили 2 раза – на 12-е и 17-е сутки после имплантации опухоли. Средний объем опухоли, подвергнутой химиотерапии, снижается на 46% по сравнению с контролем (без ЦФ). Курс ФТ He-Ne лазером усиливает действие цитостатика, и средний объем опухоли снижается на 62%. Параллельно растет продолжительность жизни животных: если ЦФ сам по себе способствовал увеличению продолжительности жизни с 67±2 суток в контроле до 82±4 суток после химиотерапии, то дополнительный курс облучений НИЛИ тимуса или крупной вены бедра увеличивал этот показатель до 109±5 суток.

В 1990-е гг. возрастает интерес онкологов к противоопухолевой эффективности не только красного, но и других видов НИЛИ. Как отмечалось выше, в опытах Н.Ф.Гамалеи и сотр. [3] не было выявлено существенных различий в позитивных результатах ВЛОК синим, зеленым или красным НИЛИ. В то же время онкологи из ВОНЦ [9], изучавшие результаты облучения области имплантации под кожу хвоста 196 самкам мышей линии A/Snell клеток штамма KSML (высокометастазирующая опухоль РМЖ мышцы) НИЛИ лазера на парах меди (длины волн 510 нм и 578 нм, импульсный режим с частотой 15-22 кГц, длительность импульса 20 мс, плотность мощности 10-40 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 1-2 минуты,

плотность энергетической дозы 0,6-4,8 Дж/см<sup>2</sup>), отметили, что курс из 8 ежедневных сеансов ФТ не влиял на частоту метастазирования через 1 месяц независимо от того, начинали его через 1 сутки или 10 суток после имплантации. У животных, облученных желто-зеленым НИЛИ лазера на парах меди, частота метастазирования была столь же высокой, как в необлученном контроле, что резко контрастировало со значительным антиметастатическим эффектом красного НИЛИ (см выше).

Прямо противоположные результаты получили сибирские онкологи [5, 6], сравнивая эффект ФТ красным и зелено-желтым НИЛИ. Здесь также применялся лазер на парах меди (плотность мощности излучения 100 мВт/см<sup>2</sup>, экспозиция – 30 сек., плотность дозы - 3 Дж/см<sup>2</sup>, 3 ежедневных сеанса облучения через 7-11 суток после имплантации). Опыты проводились с четырьмя видами имплантируемых опухолей (по 350 мышей линии C57BL/6): лимфосаркомой Плисса, меланомой В-16, аденокарциномой легких Льюиса (LLC) и асцитной карциномой Эрлиха (ЕАС).

По данным [5, 6], курс ФТ зелено-желтым светом НИЛИ в группе животных (L1+) не влияет на рост имплантированной лимфосаркомы Плисса, но достоверно снижает частоту метастазирования (в 1,5 раза), уменьшает число метастазов на 30% и их среднюю массу – в 2,2 раза по сравнению с необлученным контролем (L-). В то же время курс облучений животных группы (L2+) красным НИЛИ He-Ne лазера в тех же дозах и интенсивностях в 1,7 раза стимулирует рост этой опухоли, в 1,5 раза повышает частоту метастазирования и в 1,6 раза - среднюю массу метастазов (табл. 2).

Таблица 2.

Влияние курса ФТ на рост и метастазирование лимфосаркомы Плисса [5]

Группа животных	Вес опухоли, г	Частота метастазирования, %	Среднее количество метастазов	Средняя масса метастазов (г)
1. Контроль (L-)	6,8±5	50	10	435±19
2. (L1+), желто-зеленое НИЛИ	6,3±3	33*	0,7*	195±20*
3. (L2+), красное НИЛИ	11,4±6*a	75*a	1,48*a	702±11*a

\* - отличие от группы (L-) достоверно, P < 0,05; a – отличие от группы (L1+) достоверно, P < 0,05

Воздействуя зелено-желтым НИЛИ в том же режиме на имплантированную меланому В-16 у животных группы (L1+), наблюдали значительное замедление роста опухоли (табл. 3). Так, через 16 суток после

имплантации вес ЗО был в 1,9 раза меньше по сравнению с необлученным контролем (L-) (табл. 3). НИЛИ He-Ne лазера не оказывало на рост меланомы В-16 у животных группы (L2+) достоверного влияния.

Таблица 3.

## Влияние курса ФТ на рост меланомы В-16 [5]

Группы животных	Вес опухоли (г) в различные сроки после имплантации			
	10 суток	12 суток	14 суток	16 суток
1. Контроль (L-)	2,9±1,1	5,18±1,7	6,3±0,7	7,1±1,4
2. (L1+), желто-зеленое НИЛИ	1,7±0,2*	1,8±0,4*	2,6±0,3*	3,8±0,4*
3. (L2+), красное НИЛИ	3,2±0,9	5,8±1,7	6,3±0,7	8,7±2,2

\* - отличие от (L-) группы достоверно,  $P < 0,05$

Зелено-желтое НИЛИ лазера на парах меди обладает выраженным противоопухолевым действием и на другие имплантированные ЗО. Авторы [5, 6] доказали, что у животных с LLC торможение роста опухоли с 14-х суток и снижение количества метастазов в легких обусловлено преимущественно зеленой частью спектра НИЛИ; желтая часть НИЛИ не влияет на рост опухоли, хотя на 50% тормозит частоту метастазирования.

У животных с ЕАС ФТ лазером на парах меди угнетает рост ЗО на 85% через 8-28 суток после ее имплантации, а выживаемость вдвое выше, чем в необлученном контроле.

В большой серии опытов сибирские онкологи изучили возможность влияния курса ФТ лазером на парах меди на эффективность цитостатической терапии ЗО. На модели LLC они показали, что по сравнению с курсом химиотерапии 5-фторурацилом (3 раза через 1 сутки) ежедневное облучение области опухоли в течение 5 суток с экспозицией 1 мин. и плотностью дозы 3 Дж/см<sup>2</sup> оказывает в среднем в 1,7 раза более слабое действие на рост опухоли и в 1,3 раза – на процесс метастазирования. Однако при совместном применении двух видов лечения эти эффекты значительно возрастают.

Противоопухолевый эффект зелено-желтого НИЛИ авторы [5, 6] связывают с его модулирующим влиянием на иммунитет животных.

Московские онкологи [12] обратили

внимание на то, что противоопухолевый эффект ФТ может быть модифицирован путем предварительного облучения того участка тела, куда затем будет имплантирована опухоль. Например, облучение такого участка красным или синим НИЛИ способствовало сокращению латентного периода формирования и стимулировало рост меланомы Гардинг-Пасси и саркомы-37, но не аденосаркомы-755. Более того, предварительное лазерное облучение области имплантации может не повлиять на выживаемость животных.

Авторы полагают, что в области локального воздействия света в коже и подкожной клетчатке развиваются структурные изменения, сходные с таковыми при слабой воспалительной реакции. Возникающие при этом факторы могут по-разному влиять на ЗО различной природы. В то же время торможение роста опухолей после прямого лазерного облучения области имплантации авторы связывают с частичной деструкцией опухолевого материала, причем чувствительность к НИЛИ различных длин волн у разных типов опухолей оказывается различной. Так, прямое облучение синим НИЛИ He-Cd лазера в дозе 3 Дж/см<sup>2</sup> меланомы Гардинг-Пасси до ее имплантации сопровождалось в дальнейшем торможением роста опухоли, увеличением сроков ее формирования и повышением продолжительности жизни животных. В то же время для развития аналогичных эффектов синего НИЛИ в случае аденосаркомы-755 требовалась в 10 раз более высокая



доза облучения. Таким образом, различные трансплантируемые опухоли характеризуются различной чувствительностью к ВИ лазеров.

С начала 1990-х гг. онкологи стали использовать в экспериментах ближнее ИКИ полупроводниковых источников.

Ленинградские онкологи [10] подвергали прямому воздействию импульсного ближнего ИКИ имплантированные под кожу задней лапки 238 мышей линии С57В1 30 - LLC и меланому В-16. Использовалось НИЛИ с длиной волны 1060 нм и продолжительностью импульсов 1 мсек; на опухоли воздействовали однократно, причем в группе животных (L1+) плотность дозы составляла 400 Дж/см<sup>2</sup>, в группе (L2+) - 1000 Дж/см<sup>2</sup>.

У мышей с LLC наблюдался эффект уменьшения числа метастазов в легких по сравнению с необлученным контролем (L-) в 1,7 раза в группе животных (L1+) и в 1,4 раза – в группе (L2+). У животных с имплантированной меланомой В-16 аналогичный эффект снижения составил 1,9 раза (L1+) и 1,5 раза (L2+). Отличие от контроля было статистически достоверным ( $P < 0,01$ ).

Авторы работы [10] полагают, что импульсное ближнее ИКИ с плотностями энергии, используемыми в клинической онкологии, не только не усиливает метастазирование ЗО, но и ингибирует этот процесс, что, вероятно, обусловлено стимуляцией иммунологической реактивности организма.

Сотрудники Московского НИИ лазерной медицины [11] использовали импульсное НИЛИ полупроводникового лазера «Узор» (длина волны 890 нм) в двух режимах с разными плотностями энергетической дозы – опытные группы животных (L1+) и (L2+). Для крыс с имплантированной карциносаркомой Уокера (26 животных) и РМЖ (30 животных) эти режимы составляли 0,46 Дж/см<sup>2</sup> и 1,53 Дж/см<sup>2</sup>; для мышей со спонтанным РМЖ (100 животных) - 0,03 Дж/см<sup>2</sup> и 0,3 Дж/см<sup>2</sup>.

Положительный эффект ФТ был сильнее у животных, получивших меньшую дозу НИЛИ. Так, торможение роста ЗО у крыс, достигавшее 37,5%, и увеличение продолжительности жизни животных по сравнению с необлученным контролем

наблюдались только в группах (L1+). У мышей со спонтанным РМЖ продолжительность жизни возрастала в группе (L1+) в 1,44 раза, а в группе (L2+) – в 1,14 раз относительно группы (L-).

Узбекские онкологи [1] наблюдали торможение роста индуцированной ЕАС у 32 мышей, получавших ФТ в виде 10-дневного курса ежедневных облучений НИЛИ арсенид-галлиевого лазера с длиной волны НИЛИ 890 нм, мощностью 180-200 мВт, экспозицией 3 мин. в группе (L1+) и 5 мин. в группе (L2+). Курс ФТ начинали с 7-х суток после имплантации ЗО.

К концу курса вес ЗО снижался по сравнению с необлученным контролем на 29% у животных группы (L1+) и на 7% - у животных группы (L2+).

Эффект был достоверным, составляя от 7% до 29% относительно контроля. Методом электронной микроскопии выявили морфологические изменения в клетках опухоли в результате ФТ, которые отличались от таковых при апоптической гибели клеток.

Интересные данные были получены японскими авторами [18]. Мышам с имплантированной глиомой проводили прямое лазерное облучение ЗО и не прямое воздействие НИЛИ на участке, удаленном от места имплантации. Для ФТ использовали лазер с длиной волны 830 нм; экспозиция 15 и 30 сек. дважды в сутки. У животных группы (L1+) курс ФТ начинали на следующий день после имплантации ЗО, в группе (L2+) – спустя 2 недели после имплантации.

В работе [18] показано, что задержка роста опухоли наблюдается только в группе (L1+), то есть после раннего начала ФТ, причем эффект прямого и непрямого воздействия ИКИ одинаков. Максимальная задержка роста опухоли достигалась при сочетании прямого облучения НИЛИ и введения мыши β-интерферона.

Московские онкологи [15] изучали в опытах на животных с имплантированными ЗО противоопухолевое действие ближнего ИКИ; курс ФТ состоял из 5 ежедневных сеансов воздействия НИЛИ полупроводникового лазера с длиной волны 890 нм и частотой импульсов 1500 Гц – группа (L+). Результаты исследования суммированы в табл. 4.

Таблица 4.

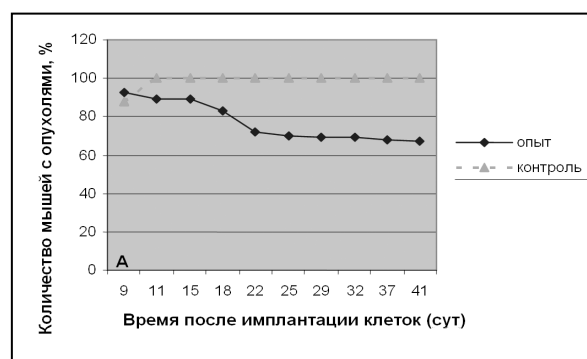
**Влияние курса ФТ ближним ИКИ на рост опухолей и продолжительность жизни животных-опухоленосителей со скальпельными ранами [15]**

Группы животных	Изменение объема опухолей (см <sup>3</sup> ) в различные сроки после имплантации						
	Аденосаркома МЖ Са-755						
	6 суток	9-10 суток	13 суток	15-16 суток	20-21 суток	25 суток	Продолжительность жизни (суток)
(L-)	-	0,4±0,02	1,6±0,5	6,0±1,5	12,7±1,5	26,0±2,8	25,0±2,1
(L+)	-	0,4±0,02	0,5±0,2	1,9±1,1 **	7,5±2,0*	8,1±1,6***	32,1±2,1
Карциносаркома Уокера							
(L-)	19,5±2,6	34,0±3,5	60,0±2,1	81,9±1,0	-	-	13,4±2,2
(L+)	19,4±0,7	28,2±3,0	29,0±1,5**	42,6±1,5**	55,7±2,8	-	21,4±0,8 **

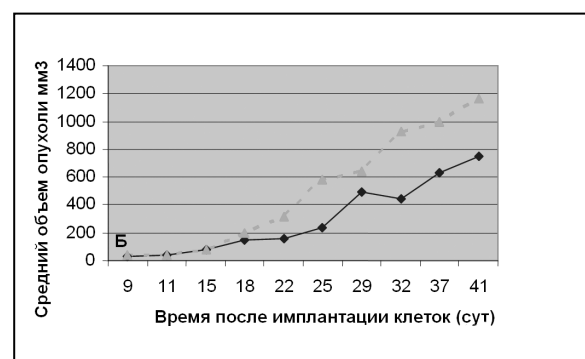
Достоверное отличие от контроля (L-): \* -  $P < 0,05$ ; \*\* -  $P < 0,01$ ; \*\*\* -  $P < 0,001$

Видно, что ближнее ИКИ значительно тормозит рост аденосаркомы МЖ Са-755 и карциносаркомы Уокера - соответственно в 6 раз и 1,6 раза к концу курса по сравнению с необлученным контролем; после ФТ увеличивается и продолжительность жизни животных - соответственно на 11 и 13 суток. Авторы [15] утверждают, что опухолестатическое действие ближнего ИКИ выше, чем у красного НИЛИ He-Ne лазера, и что цитостатический эффект развивается на фоне стимуляции ранозаживления. Действие полихроматического видимого света на мышей с имплантированными опухоля-

ми (гепатома мыши) исследовалось в нашей лаборатории [20]. Как видно на рис. 1, ни в один из сроков наблюдения (общая продолжительность последнего - 41 сутки) частота развития опухолей у облученных животных не превышала таковую у необлученных, а к концу срока наблюдения она была на 25% ниже ( $P < 0,01$ ). Курс ФТ способствовал торможению роста опухоли, регистрировавшегося с 18-х суток после имплантации. На 25-е сутки средний размер опухолей у облученных мышей был в 1,7 раза меньше, чем в контроле, и это достоверное различие сохранялось до 41-х суток.

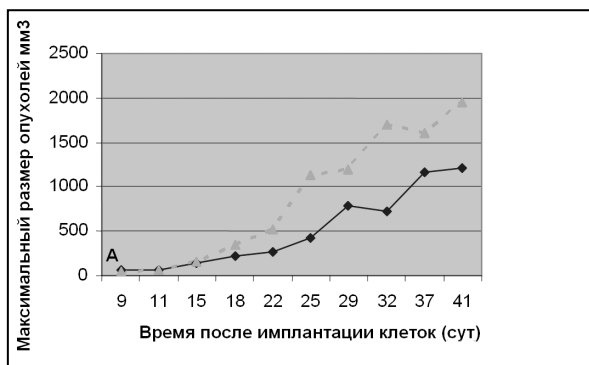


а)

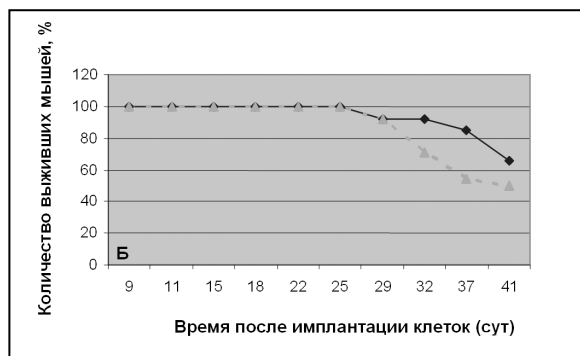


б)

Рис. 1. Действие полихроматического видимого света на частоту развития опухолей (а) и динамику их роста (б)



а)



б)

Рис. 2. Действие полихроматического видимого света на изменение максимального размера опухолей (а) и выживаемость животных (б) после имплантации 100-200 тыс. клеток

В то же время выживаемость облученных мышей с опухолями не увеличилась достоверно, хотя и не снижалась относительно контроля ни в один из сроков наблюдения (рис 2).

Описанные выше результаты получены после имплантации относительно больших количеств опухолевых клеток. В случае более низких концентраций различия в опыте и контроле были не столь выражены.

### Выводы

1. Накопленные к настоящему времени данные, полученные в различных научных учреждениях независимыми коллективами авторов, убедительно свидетельствуют о том, что низкоинтенсивное красное и ближнее инфракрасное излучение не только не стимулирует рост экспериментальных опухолей у лабораторных животных, но значительно тормозит его и снижает интенсивность метастазирования.

2. Наиболее выраженный противоопухолевый эффект развивается в случае прямого облучения имплантированных опухолевых клеток, т. е на ранних стадиях формирования опухоли, а также после облучения частично удаленных опухолей. При этом цитостатический эффект ФТ развивается параллельно со стимуляцией пролиферативных процессов в ране.

3. Противоопухолевый эффект низкоинтенсивного красного или ИКИ проявляется и в том случае, если его воздействию подвергается поверхность тела животного, удаленная от имплантированной опухоли, что указывает не только на локальный, но и на системный характер этого эффекта.

4. Противоопухолевое действие НИЛИ других участков видимого спектра изучено недостаточно, однако имеющиеся данные указывают на то, что синее, зеленое и желтое НИЛИ, а также полный спектр полихроматического света не стимулируют рост экспериментальных опухолей, хотя и не всегда тормозят его.

5. Основной механизм цитостатического действия низкоинтенсивного ВИ и ИКИ, по-видимому, связан с их влиянием на иммунную систему независимо от того, облучается ли сама опухоль или здоровые ткани. Доказано, что воздействие ВИ и ближнего ИКИ усиливает противоопухолевый эффект ряда лекарственных препаратов и рентгенотерапии, при этом ослабляя токсическое действие этих факторов.

6. Помимо иммуномодуляции, ВИ и ИКИ модулируют уровень в крови гормонов, цитокинов, ростовых факторов, АФК и АФА. Их роль в настоящее время интенсивно исследуется.

### Литература

1. Байбеков И.М. Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии / И.М.Байбеков, А.Х.Касимов, В.И.Козлов и др. // Ташкент: Издательство им. Ибн Сины, 1991.- 223 с.
2. Бондарь П.М. Действие излучения гелий-неонового лазера на метастазирование экспериментальных опухолей / П.М.Бондарь, И.Р.Лазарев, Л.П.Киндзельский // Труды всесоюзной конференции «Применение методов и средств лазерной техники в биологии и медицине».- Киев: Наукова думка, 1981.- С.67-68.
3. Гамалея Н.Ф. Экспериментальное обоснование и первый опыт применения внутри-

венного лазерного облучения крови в онкологии / Н.Ф.Гамалея, В.Я.Стадник, З.М.Рудых и др. // Экспериментальная онкология.- 1988.- Т.10, №2.- С.60-63.

4. Димант И.Н. Влияние излучения лазера на парах меди на частоту опухолевого метастазирования в эксперименте / И.Н.Димант, И.Я.Ботвинников, Л.Б.Платонова // Материалы II Всесоюзного симпозиума «Метастазирование злокачественных опухолей. Новые подходы» (Киев, 22-24 октября 1991 г.).- С.40.

5. Зырянов Б.Н. Низкоинтенсивная лазерная терапия в онкологии / Б.Н.Зырянов, В.А.Евтушенко, З.Д.Кицманюк.- Томск: Наука, 1998.- 335 с.

6. Зырянов Б.Н. Использование низкоэнергетического лазера на парах меди в онкологической практике / Б.Н.Зырянов, В.А.Евтушенко, М.В.Вусик и др. // Российский онкологический журнал.- 1997.- №3.- С.26-28.

7. Иванов А.В. Экспериментальное обоснование использования лазерного излучения в послеоперационной терапии онкологических больных / А.В.Иванов, В.М.Сенин, В.С.Ананьев и др. // Сборник научных трудов «Опухоли опорно-двигательного аппарата».- М., 1981.- Вып. 8.- С.150-153.

8. Иванов А.В. Действие излучения гелий-неонового лазера на метастазирование экспериментальных опухолей / А.В.Иванов, В.М.Сенин, Н.Н.Васильева и др. // Труды всесоюзной конференции «Применение методов и средств лазерной техники в биологии и медицине».- Киев: Наукова думка, 1981.- С.104-106.

9. Иванов А.В. Влияние излучения лазера на парах меди на частоту опухолевого метастазирования в эксперименте / А.В.Иванов, А.А.Машалов, Н.Г.Панферова и др. // Материалы II Всесоюзного симпозиума «Метастазирование злокачественных опухолей. Новые подходы» (Киев, 22-24 октября 1991 г.).- С.50-51.

10. Москалик К.Г. О метастазировании перевиваемых опухолей, облученных импульсным лазером / К.Г.Москалик, А.П.Козлов // Материалы II Всесоюзного симпозиума «Метастазирование злокачественных опухолей. Новые подходы» (Киев, 22-24 октября 1991 г.).- С.83.

11. Михайлов В.А. Экспериментальное обоснование и использование низкоэнергетического лазерного излучения у онкологических больных в запущенных стадиях заболевания / В.А.Михайлов, О.К.Скобелкин, И.Н.Денисов и др. // Тезисы конференции «Новое в лазерной медицине и хирургии» (Москва).- 1991.-

Вып.2.- С.189-191.

12. Плетнев С.Д. Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на нормальную кожу и некоторые опухолевые ткани / С.Д.Плетнев, О.И.Карпенко // Известия АН СССР.- 1985.- №1.- С.134-136.

13. Раскалей В.Б. Морфо-функциональная характеристика карциномы Льюиса после лазерного облучения крови / В.Б.Раскалей, В.Я.Стадник, А.Ф.Макеев // Тезисы Всесоюзной конференции «Действие низкоэнергетического лазерного излучения на кровь» (Киев, 27-29 сентября).- С.42.

14. Сенин В.М. Новые органотропно-метастазирующие перевиваемые опухоли мышей и их использование для изучения влияния лазерного излучения на процесс диссеминации / В.М.Сенин, А.В.Иванов, А.В.Афанасьева и др. // Вестник АМН СССР.- 1984.- №5.- С.85-91.

15. Теплов Л.А. Новое в онкологии / Л.А.Теплов, В.В.Соколов, Н.Б.Морозов и др.- М.: Издательство Онкологического института им. Герцена, 1995.- Вып.1.- С.82-85.

16. Хавинсон В.Х.. Влияние эпиталона на кинетику роста и функциональную морфологию саркомы М-1 / В.Х.Хавинсон, В.В.Южаков, И.М.Кветной и др. // Вопросы онкологии.- 2001.- Т.47, №3.- С.461-466.

17. Шейко Е.А. Влияние низкоинтенсивного лазерного облучения на функциональный потенциал нейтрофильных гранулоцитов крови животных с опухолями / Е.А.Шейко, А.И.Шихлярова // Вопросы онкологии.- 2003.- Т.49, №1.- С.76-79.

18. Abe M. Role of 830 nm low reactive level laser on the growth of an implanted glioma in mice / M.Abe, K.Fujisawa, H.Suzuki et al. // Keio J. Med.- 1993.- Vol.42, № 4.- P.177-179.

19. McGuff P.E. The laser treatment of experimental malignant tumors / P.E.McGuff, A.Deterling Jr., L.S.Gottlieb et al. // Canad. Med. Ass. J.- 1964.- Vol.91, №21.- P.1089-1095.

20. Knyazev N. A. Effect of polychromatic visible light on proliferation of tumor cells under conditions in vitro and in vivo after implantation to experimental animals / N.A.Knyazev, K.A.Samoilova, N.A.Filatova et al. // AIP Conference Proceedings, Laser Florence 2008.- 2008.- Vol.1-142.- P.79-86.

21. Zimin A.A. Low power visible and near IR light in clinical oncology / A.A.Zimin, N.A.Zhevago, K.A.Samoilova // Low power visible and near IR light in clinical oncology. Photodiagnosis Photodyn. Ther.- 2008.- Vol.5.- P.37-38.