

LASER PARTNER



Oficiální orgán
Společnosti pro využití
laseru v medicíně CLS JEP



Official paper
of the Czech Society for
the Use of Laser in Medicine



Vydáváno s oficiální odbornou podporou EMLA



Edited under official scientific support of EMLA

www.laserpartner.cz
On-line česká verze: ISSN 1213-1156

www.laserpartner.org
On-line English version: ISSN 1213-3027

Clinixperience - všechny ročníky
1999

1. Některé teoretické aspekty laserové biostimulace (29.10.1999)

Některé teoretické aspekty laserové biostimulace

Jiří Hubáček
Laserové pracoviště
ORL kliniky FN Olomouc.

Biostimulační lasery prokazatelně ovlivňují buněčné organely, membránové kanály, nociceptory, mediátory a cytokiny. V klinice je pak patrný efekt analgetický, protizánětlivý, imunostimulační a vliv na hojení ran.

Na ORL klinice v Olomouci používáme biostimulačních účinků laseru od r. 1980. Příznivé klinické výsledky jsme měli možnost zdůvodnit některými experimentálními důkazy díky spolupráci s pracovníky Teoretických ústavů LF UP, OHES a laboratoře plastické chirurgie MU v Brně. Pracovali jsme převážně s He-Ne laserem (vlnová délka 632,8 nm) v kontinuálním režimu, později s diodovými lasery vlnové délky 670 nm a 830 nm v kontinuálním i pulzním režimu. Dosažené výsledky shrnujeme v následujících závěrech:

1) Účinek záření He-Ne laseru na fibroplasty a kolagen při hojení ran.

(a) Na vnitřní ploše obou boltců králíků byl veden 3 cm dlouhý řez protínající kůži a chrupavku. Byl ozařován pouze řez na pravém boltci He-Ne laserem 15 mW hustotou energie 1,5 J/cm² 2, 4, 5, 6 a 7 den. Třetí a osmý den hojení byly provedeny excize. Třetí den nebyly zjištěny rozdíly v počtu fibroblastů proti kontrolní skupině, osmý den bylo proti kontrolní skupině zjištěno zvýšení počtu fibroblastů o 62,5 % v ráně přímo ozářené, ale i zvýšení o 34,8 % v ráně neozářené u králíků s ozářeným druhým boltcem. (1).

(b) Z 3 cm dlouhého řezu na hřbetu krysy byly implantovány do podkoží paramediálně houbičky viskozové celulozy. Oblast řezu a implantátů byly ozařovány He-Ne laserem 10 mW hustotou energie 0,6 J/cm², tedy celkem 1,8 J/cm² v rozdílných časových intervalech 5 x - časné ozáření od 2. do 6. dne, pozdní ozáření od 15. do 19. dne. Excize k vyšetření byly provedeny 22. den.

Výsledky ukázaly, že časné ozáření stimuluje tvorbu kolagenu III typu, který je typický pro zánětlivou reakci, pozdní ozáření tlumí zánětlivou aktivaci a je zlepšeno ukládání kolagenu, což dokazuje zvýšení hodnot kolagenu I typu, snížení kolagenu III typu v granulomu, v jizvě dokonce chybí, (2,3). Tyto poznatky jsou zatím v klinické praxi málo využívány.

2) Vliv záření He-Ne laseru na lysozym ve slinách. U 25 nemocných s recidivující tonzylfaryngitidou byly v klidovém stadiu vyšetřeny sliny na lysozym, průměrná hodnota lysozymu celého souboru byla 13,1 Fg/ml. Po ozáření sliznice dutiny ústní a tonzil He-Ne laserem 10 mW hustotou energie 1,8 J/cm² obden, celkem 3 x, byl druhý den po posledním ozáření vyšetřen opět lysozym ve slinách a u 18 sledovaných bylo zjištěno výrazné zvýšení hodnot lysozymu, průměrná hodnota celého souboru 44,3 Fg/ml. Zvýšení lysozymu bylo zaznamenáno již po prvním ozáření, po měsíci hodnoty lysozymu klesají, ale zvýšení může trvat i 6 měsíců. (4).

3) Modulační aktivita laserem in vitro. Fagocyty pohotově reagují změnou své fagocytární aktivity na řadu faktorů prostředí a proto jsme je zvolili jako citlivého indikátora vlivu laserového záření. Fagocytární aktivitu jsme vyšetřovali opakovaně při použití krystalků kadmia, metakrylátových částic a částic HEMA, v krvi lidské a králíků. Cílem bylo vyhodnotit změny fagocytární aktivity a adherence leukocytů in vitro na různé dávky záření několika typů laserů. Testovali jsme He-Ne laser (5, 10, 13 a 40 mW), diodový laser 670 nm/10 mW a diodový laser 830 nm/30 mW. Sledovali jsme působení laseru v kontinuálním i pulzním režimu, frekvence 4,8, 9,5, 18,2, 36,5, 73 a 584 Hz.

Bylo zjištěno, že expozice malým dávkám laserového záření 0,8 J/cm² zvyšuje významně aktivitu polymorfonukleárů cca o 28 % a monocytů o 22 %, je také zvýšena adherence leukocytů. Při expozici leukocytů vyšším dávkám záření - od 1,2 J/cm² fagocytární aktivita postupně klesá a od 2,4 J/cm² přechází stimulační efekt v inhibici. Laser v pulzním režimu vykazuje stimulační efekt v inhibici. Laser v pulzním režimu vykazuje stimulační efekt i při vyšších dávkách záření. Mezi typy laserů není podstatných rozdílů. Uvedená skutečnost v rozdílném působení menších a větších dávek záření je zanedbávána v klinice. (5, 6).

Místní a celková odezva lymfocytů po ozáření patrových mandlí He-Ne laserem.

a) Místní reakce lymfocytů patrových mandlí byla sledována u 15 nemocných s recidivující tonzilofaryngitidou. V klidovém období byly ze šetrné excize tonzilární tkáně vyšetřeny rozetové testy a cytologie. Bylo zjištěno snížení hodnot B lymfocytů (42,4 %) a zvláště T lymfocytů (17,9%). Normálně je v tonzilární tkáni 59 % B a 24 % T lymfocytů. Po zhojení excize byla tonzila ozářena He-Ne laserem 10 mW po dobu 1 min (0,6 J/cm²) dvakrát během týdne. Další den po druhém ozáření byla provedena nová excize. Došlo k výraznému zvýšení T lymfocytů (32,1 %) a mírnému snížení B lymfocytů (38,5%), cytologicky zjištěno zmnožení plazmatických buněk, tedy aktivace diferenciací B lymfocytů. Kontrolní vyšetření neozářených vzorků nevykazovalo žádných změn. (7).

b) Celková imunologická odezva po ozáření patrových mandlí byla sledována u nemocných s chronickou tonzilitidou. Z původního souboru 25 nemocných splnilo kritéria pro závěrečné hodnocení jen 8. Před zahájením ozáření, krátce po ukončení 14. den a pak 42. den byly monitorovány základní parametry buněčné a protilátkové imunity - serové imunoglobuliny IgG, IgM a IgA, sekreční IgA ve slinách, fagocytární aktivita, celkové T lymfocyty (CD 3) a subpopulace CD 4 a CD 8. Patrové mandle a sliznice mezofaryngu byla ozářena He-Ne laserem 10 mW po dobu 3 minut (1,8 J/cm²) celkem třikrát - den 0, 3 a 9. Bylo zjištěno zvýšení hodnot sekrečního IgA ve slinách z 0,23 g/l na 0,29 g/l 14. den a na 0,33 g/l 42. den. Celková imunologická odezva byla zjištěna až 42. den - zvýšení fagocytární aktivity z 39 % na 49 % a zvýšení lymfocytů CD 4 z 39 % na 47 %. (8).

5) Vliv záření He-Ne laseru na některé bakterie.

a) Po ozáření kultur *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta hemolyticus*, *Streptococcus pneumoniae* a *Neisseria catarrhalis* He-Ne laserem 10 mW expozicí 30 s, 1 min, 2, 5, 5 a 10 min tj. 0,6 - 6 J/cm² nebyly zjištěny rozdíly mezi ozářenými a kontrolními kulturami na krevním agaru.

b) Stejně kmeny byly v bujónové kultuře inkubovány 2 hodiny v termostatu, kdy předpokládáme nárůst do lag fáze, která je nejcitlivější na zevní vlivy, pak ozářeny 6 J/cm² a tento postup opakován. Po ozáření 2 x 6 J/cm² byla zjištěna poněkud vyšší aktivita ozářených kultur proti kontrolním skupinám, významnější změna byla jen u stafylokoků - 1,3 x 10⁷ bakterií v ML u kontrol, 3 x 10⁶ bakterií v ml po ozáření. (9)

6) Vliv záření He-Ne laseru na virus herpes simplex. Byl sledován vliv záření na cytopatogenní efekt viru. Suspenze viru herpes simplex byla ozářena He-Ne laserem 15 mW a to 0,22, 0,45, 0,9, 1,8 a 2,7 J/cm². Ozáření suspenze viru i neozářené kontrolní prvky byly předány do kultury buněk L-132 v ředění 10⁻¹ až 10⁻⁷. Cytopatogenní efekt byl odečítán třetí den. Již ozáření 0,45 J/cm² oslabilo cytopatogenní efekt viru, oslabení je výraznější u vyšších dávek záření. (10).

Závěry:

1) Záření He-Ne laseru 1,5 J/cm² 5 x během týdne zlepšuje hojení rány stimulací fibroblastů v ráně přímo ozářené, ale i vzdálené. Tvorba kolagenu je po ozáření 1,8 J/cm² během týdne odlišná v závislosti na stadiu hojení rány. Časně ozáření v 1 týdně stimuluje zánětlivý kolagen III typů, pozdní ozáření ve 3 týdně hojení tlumí zánětlivou reakci a zlepšuje ukládání kolagenu I. typů. Tyto poznatky jsou dosud málo využívány v klinické praxi.

2) Fagocytární aktivita je vhodná metoda k testování biostimulačních laserů různých vlnových délek, dávkování a způsobu aplikace. Účinné je záření jak He-Ne laseru, tak diodových laserů 670 nm a 830

nm. Pulzní režim prodlužoval stimulační efekt záření. Je třeba zdůraznit, hlavně pro klinické aplikace, že malé dávky záření stimulují, větší dávky mají inhibiční účinek.

3) Ozáření patrových mandlí He-Ne laserem $2 \times 0,6 \text{ J/cm}^2$ během týdne zvyšuje v tonzile počet T lymfocytů a plazmatických buněk. Po ozáření tonzil a sliznice mezofaryngu $3 \times 1,8 \text{ J/cm}^2$ den 0, 3 a 9 byla zjištěna celková imunologická odezva - zvýšení fagocytózy a počtu CD4 lymfocytů 42. den.

4) Ozáření sliznice dutiny ústní He-Ne laserem $3 \times 1,8 \text{ J/cm}^2$ zvyšuje hodnoty lysozymu ve slinách.

5) Záření He-Ne laseru $0,6 - 6 \text{ J/cm}^2$ nemá baktericidní účinek. Oslabuje však in vitro cytopatogenní efekt viru herpes simplex již od $0,45 \text{ J/cm}^2$. Bylo by vhodné zjistit účinek záření na další viry, zvláště virus HIV.



Sponzorováno / Sponsored by: [MediCom](http://www.MediCom.cz)