

Nízkointenzitná laserová terapia a hojenie rán: základ interakcií laser-tkanivo a krátky prehľad in vitro a in vivo štúdií

Martina Poláková¹, Róbert Kilík², Peter Gál^{3,4}

¹Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Šrobárova 2, 041 80 Košice

²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach a Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura, I. chirurgická klinika, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

³Úsek pre biomedicínsky výskum, Ondavská 8, Východoslovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, a.s., 040 11 Košice

⁴Ústav patologickej anatómie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

Nízkointenzitná laserová terapia patrí do skupiny fotochemických interakcií laserového žiarenia so živými tkanivami a bunkami. Stále nie je známy presný mechanizmus účinku na molekulovej úrovni a nie sú známe ani presné vzťahy medzi parametrami laserového žiarenia (vlnová dĺžka, hustota výkonu a dávka) a jeho vplyvom na proces hojenia. Táto prehľadná práca rozoberá základné princípy fungovania nízkointenzitnej laserovej terapie od vzniku laserového lúča cez interakciu žiarenia s tkanivami až po experimentálne a klinické štúdie.

Úvod

Ukázalo sa, že chorobnosť spojená s problémovým hojením rán zvyšuje náklady na služby spojené so zdravotnou starostlivosťou o 9 miliárd dolárov ročne [1]. Mnohé faktory, medzi ktoré patrí napríklad diabetes mellitus, AIDS, nedostatočná výživa, ako aj dlhodobé podávanie kortikosteroidov, môžu u pacientov negatívne ovplyvniť proces hojenia rán. Množstvo experimentálnych štúdií sa preto venuje novým spôsobom na jeho zlepšenie [1-6]. Samotné hojenie je charakteristické veľkou variabilitou a je ovplyvňované mnohými faktormi. Z toho dôvodu je dôležité hľadať nové alternatívy na zlepšenie hojenia po operáciách a úrazoch.

Jedným zo spôsobov ako ovplyvniť priebeh hojenia, je použitie laserového žiarenia s nízkou intenzitou – LLLT (z anglického Low-Level Laser Therapy). LLLT patrí do skupiny fotochemických interakcií laserového žiarenia so živými tkanivami a bunkami. Keďže stále nie je známy presný mechanizmus účinku na molekulovej úrovni a nie sú známe ani presné vzťahy medzi parametrami laserového žiarenia (vlnová dĺžka, hustota výkonu a celková dávka) a jeho vplyvom na proces hojenia, o efektívnosti LLLT sa vo vedeckej komunite vedú diskusie. Predpokladá sa, že účinok LLLT je založený na absorpcii monochromatického svetla (vo viditeľnej

a blízkej infračervenej oblasti spektra), následnej zme-
ne redoxných parametrov a urýchlení elektrónového transportu na mitochondriálnej úrovni [7]). Taktiež je dokázané, že laserové žiarenie vplyva na proliferáciu buniek, syntézu ATP a kolagénu, zabraňuje hypoxii hojaceho sa tkaniva a podporuje vylučovanie rastových faktorov [8, 9]. Napriek tomu v súčasnosti nie je úplne objasnené, ktoré z týchto účinkov sú kľúčové pri ovplyvňovaní procesu hojenia pomocou LLLT. Ukázalo sa, že účinok LLLT na rôzne typy rán závisí od použitej vlnovej dĺžky, hustoty výkonu a celkovej dávky, avšak ideálne parametre neboli stále stanovené. Napriek tomu, že mnohé experimentálne a klinické štúdie popisali pozitívny vplyv LLLT na proces hojenia [10-14], existujú štúdie, v ktorých sa tento pozitívny účinok nepotvrdil [15-18].

Laser

Už v histórii bolo svetlo považované za potenciálny zdroj uzdravenia [19]. V roku 1917, a to prostredníctvom vízie Alberta Einsteina, bola prvýkrát koncipovaná možnosť stimulovanej emisie žiarenia. Táto hypotéza bola realizovaná o desať rokov neskôr, ale na laser si svet musel ešte počkať do roku 1960. Prvý laser (skratka z angl. Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) bol zostrojený za použitia rubínového kryštálu T. H. Maimannom, čo znamenalo začiatok laserovej revolúcie [20]. Zavedením laserov bolo možné meniť a kontrolovať žiarenie pre terapeutické použitie [19].

V medicíne sa využíva laserové žiarenie v ultrafialovej (terapeutický účinok na kožu a cievy, pre jeho schopnosť viazať sa na oxyhemoglobín krvi a taktiež aj na melanín), viditeľnej (absorbované melanínom v koži, a tým významné uplatnenie v dermatovenerológii) a infračervenej (liečba zápalov a zmiernenie akútnej a chronickej bolesti) oblasti spektra elektromagnetického vlnenia [21, 22].

Väčšina lekárskeho laserov je podľa klasifikácie ANSI (American National Standards Institute) v IV. triede, a teda sú potenciálne veľmi nebezpečné [23]. I. trieda zahŕňa lasery, ktoré nemôžu poškodiť zrak. V II. triede je výkon laserov menší ako 1 mW, ale tu už k poškodeniu zraku môže dôjsť. Lasery III. triedy sú rozdelené na dve ďalšie podtriedy, pričom prvá (III.a) pracuje v spojitom režime vo viditeľnej oblasti spektra s výkonmi nepresahujúcimi 5 mW a druhá (III.b) zahŕňa lasery vyžarujúce viditeľné žiarenie s minimálnym výkonom 5 mW, alebo infračervené žiarenie vrátane výkonov 5 mW. IV. trieda zahŕňa lasery, ktorých výkon presahuje hraničné hodnoty III.b podtriedy a pri zásahu priamym i odrazeným lúčom hrozí veľmi ťažké ohrozenie na zdraví [24].

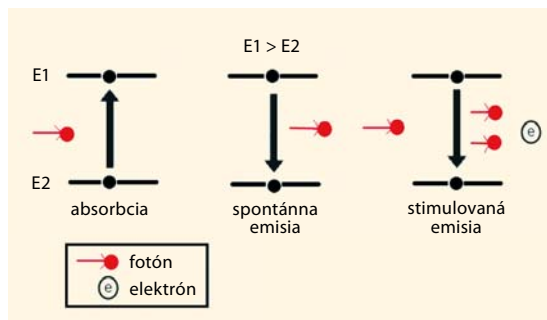
Väčšina laserov sa skladá z troch častí: médium, zdroj energie a optická rezonančná komora. Jadrom laseru môže byť pevná látka, plyn alebo kvapalina. Prostredie v jadre sa nasycuje energiou intenzívnym čerpaním (ožarováním výbojkou, iným laserom, prechodom elektrónov, t.j. elektrickým prúdom a pod.), pričom sa atómy dostanú do vzbudeného stavu a nastáva stimulovaná emisia fotónov [21].

Pri výrobe laserov používaných pri LLLT boli doteraz používané rôzne aktívne prostredia. Spočiatku sa používali lasery na báze inertných plynov, ku ktorým zaraďujeme hélium-neónový laser (He-Ne; 632,8 nm), argónový laser (488 a 514 nm) a kryptónový laser (521, 530, 568 a 647 nm). Neskoršie štúdie používali lasery na báze polovodičových laserových diód, ku ktorým zaraďujeme gálium-arsenidový laser (GaAs; 904 nm) a gálium-alumínium-arsenidový laser (GaAlAs; 820 a 830 nm) [25].

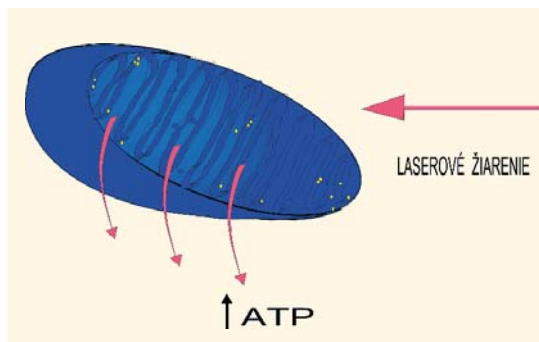
Ako vzniká laserové žiarenie

Atómy a molekuly predstavujú zložité systémy zložené z jadier a elektrónov. Energia častíc tvoriacich tieto systémy môže nadobúdať iba presne určené hodnoty, ktoré tvoria energetické hladiny [24]. Na začiatku procesu sa atóm nachádza v základnom stave E_1 v súlade s princípom minima energie. Ak atóm interaguje s kvantom elektromagnetického žiarenia, ktoré nazývame fotón, môže prejsť zo základného, najnižšieho energetického stavu E_1 do vyššieho energetického stavu E_2 . Dochádza k absorpcii elektromagnetického žiarenia [26].

V prípade, že sa atóm nachádza v okamihu interakcie s fotónom elektromagnetického žiarenia v excitovanom stave E_2 , fotón svojím vplyvom „stimuluje“



Obr. 1 Procesom stimulovanej emisie vzniká laserové žiarenie. Atóm, ktorý sa nachádza v okamihu interakcie s fotónom elektromagnetického žiarenia v excitovanom stave E_2 , je „stimulovaný“ k prechodu do nižšieho energetického stavu E_1 , pričom emituje fotón elektromagnetického žiarenia.



Obr. 2 LLLT ovplyvňuje enzymatické reakcie predovšetkým na subcelulárnej úrovni, pričom dochádza k zvýšeniu syntézy ATP (adenozíntrifosfát) v mitochondriách.

prechod atómu z vyššieho energetického stavu E_2 do nižšieho energetického stavu E_1 , pričom emituje fotón elektromagnetického žiarenia (obr. 1). Uvedený fyzikálny proces označujeme termínom stimulovaná emisia elektromagnetického žiarenia [27]. V porovnaní s fotónmi produkovanými pri spontánnej emisii, fotón generovaný pri stimulovanej emisii je vo fáze s dopadajúcim fotónom. Žiarenie, ktorého fotóny sú vo fáze, označujeme termínom koherentné žiarenie [21].

Jednofarebná povaha laserového svetla vedie k selektívnemu účinku na biologické tkanivá, hemoglobín, melanín a vodu, čo sú hlavné komponenty absorbujúce žiarenie [28]. Okrem vlastnosti koherencie sú základnými vlastnosťami laserového lúča monochromatickosť a kolimácia. Monochromatickosť znamená, že všetky fotóny laserového lúča majú rovnakú vlnovú dĺžku. Kolimácia znamená, že fotóny laserového lúča majú rovnaký smer šírenia [27].

Interakcia laserového žiarenia s tkanivami

Po dopade laserového žiarenia na tkanivá dochádza k fyzikálnym javom odrazu a lomu, absorpcie a rozptylu laserového žiarenia v tkanive [29]. Účinky laserového žiarenia na tkanivá je komplexný proces, ktorý závisí od parametrov lasera (vlnová dĺžka, hustota, dĺžka expozície) a fyzikálnych vlastností tkaniva (absorpcia, rozptyl, tepelná vodivosť a lokálna cirkulácia) [30].

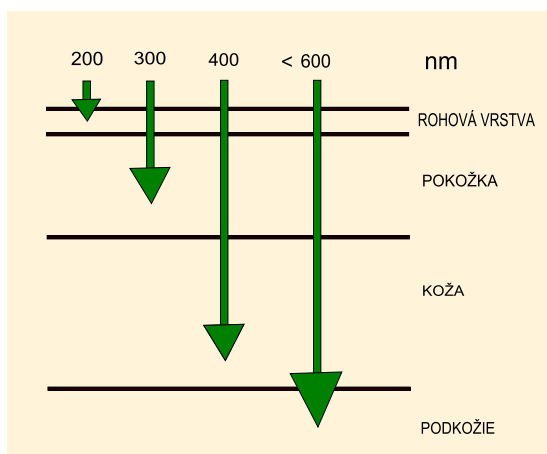
Následkom odrazu sa časť fotónov laserového lúča vracia do prostredia, z ktorého dopadli na fázové rozhranie. Rozlišujeme dva druhy odrazov. Zrkadlový odraz nastáva, ak nerovnosti povrchu tkaniva sú menšie ako vlnová dĺžka dopadajúceho laserového žiarenia. Difúzný odraz pozorujeme, ak nerovnosti povrchu sú podstatne väčšie v porovnaní s vlnovou dĺžkou dopadajúceho laserového žiarenia [31].

Fotóny, ktoré prenikajú cez povrch tkaniva do jeho hĺbky, následkom lomu menia smer šírenia a podliehajú javu absorpcie. Pri pružnom rozptyle má rozptýlený fotón rovnakú energiu, a tým aj frekvenciu alebo vlnovú dĺžku, ako fotón pred rozptylom, na rozdiel od nepružného rozptylu [24]. Okrem samotných koeficientov absorpcie, ktoré charakterizujú akceptory fotónov z pohľadu fotochemie, má na absorpciu tkanív vplyv aj rozptyl, t. j. geometria samotného tkaniva, ako napríklad hustota cievnej steny, obsah pevných látok a pod.

Ovplyvnením enzymatických reakcií predovšetkým na subcelulárnej úrovni, dochádza k zvýšeniu syntézy ATP (adenozíntrifosfát) na mitochondriálnej úrovni (obr. 2), kým na druhej strane spotreba glukózy klesá [32]. Zvýšenie energetického potenciálu buniek má

» Jednofarebná povaha laserového svetla vedie k selektívnemu účinku na biologické tkanivá. «

» Fotochemické interakcie laserového žiarenia s tkanivami nastávajú aplikáciou relatívne nízkych intenzít laserového žiarenia počas relatívne dlhých expozičných časov. <<



Obr. 3 Základný parameter určujúci hĺbku penetrácie laserového žiarenia do tkaniva je vlnová dĺžka.

význam najmä u buniek postihnutých patologickým procesom, pri ktorom trpia deficitom energie. Takisto bunky, zapájajúce sa do procesu hojenia, majú vysokú spotrebu ATP [33].

Nízkointenzitná laserová terapia

Optimalizácia parametrov pre nízkointenzitnú laserovú terapiu vhodnú k stimulácii hojenia rán je stále aktuálna téma LLLT [34]. Fotochemické interakcie laserového žiarenia s tkanivami nastávajú aplikáciou relatívne nízkych intenzít laserového žiarenia počas relatívne dlhých expozičných časov. Potenciálne účinky nízkointenzitného laserového žiarenia na živé tkanivá boli predmetom mnohých sporov. Po prvýkrát bolo LLLT uplatnené maďarským chirurgom Mesterom v 60. rokoch minulého storočia. Mester a kol. si všimol zlepšenie v liečbe poranení po aplikácii laserového žiarenia s nízkou intenzitou (LLLT), ktoré malo hustotu energie 1 J/cm^2 a bolo emitované rubínovým laserom [33, 35].

Hlavným určujúcim faktorom LLLT je výkon, nachádzajúci sa v rozsahu od 10^{-3} do 10^{-1} W. Medzi ostatné dôležité parametre patria frekvencia impulzov až do 5000 Hz, trvanie impulzu od 1 do 500 milisekúnd, interval medzi impulzmi od 1 do 500 milisekúnd, celková doba ožarovania od 10 do 3000 sekúnd, intenzita (výkon/plocha) od 10^{-2} do 1 W.cm^2 a dávka (energia impulzu \times frekvencia \times doba ožarovania/ožarovaná plocha) od 10^{-2} do 10^2 J.cm^{-2} [36,25]. Medzi významný parameter určujúci hĺbku penetrácie, a tým aj optické a teplotné odozvy tkaniva, radíme vlnovú dĺžku (obr. 3) [37]. V experimentoch a klinickej praxi sa ukázalo, že pre biologické účinky je dôležitá najmä vlnová dĺžka žiarenia [33]. Na druhej strane, zvyšovanie intenzity žiarenia a zvyšovanie hustoty energie v tkanive nad isté hodnoty môže zamedziť biostimulačný účinok, ba dokonca môže tkanivo i poškodiť [33,38].

Hoci je veľká časť mechanizmu účinku laserov na pokožku zabezpečená prostredníctvom fototerminálneho účinku, LLLT zvyčajne spôsobuje iba slabé alebo nepostrehnuteľné zmeny teploty, preto sa používajú termíny ako lasery s „nízkou intenzitou“ alebo „studené“ lasery [36, 25].

Za účelom porovnania účinkov laserového žiarenia v živom tkanive a účinkov svetla so širokou škálou frekvencií a vlnových dĺžok boli vykonávané rôzne pokusy [39]. Bola preukázaná aj tlmivá činnosť laserového žiarenia. Určité enzýmy, ktoré sa podieľajú na

syntéze niektorých prostaglandínov podporujúcich zápal, sú laserom inhibované [40]. Pri hojení rán je zrýchlená fáza zápalu, a tým aj samotné hojenie. Účinky LLLT terapie môžu za určitých podmienok zrýchliť proliferáciu fibroblastov, tvorbu kolagénu v ranách a taktiež infiltráciu neutrofilných granulocytov a makrofágov [41].

LLLT – experimentálne *in vitro* štúdie

Na rozdiel od *in vivo* štúdií môžu *in vitro* štúdie dokázať pozitívny účinok LLLT iba na bunkových kultúrach a nemôžu brať do úvahy všetky procesy prebiehajúce v živom organizme. G. A. Guzzardella so spolupracovníkmi ukázali pozitívny efekt 780 nm GaAlAs lasera (celková dávka 300 J/cm^2) na kostné tkanivo [42]. Pozitívny efekt 809 nm žiarenia diódového lasera (výkon lasera = 10 mW) vyhodnocovaný počas troch dní bol dokázaný u ľudských fibroblastov. Ožarované fibroblasty vykazovali po 24 hodinách vyššiu proliferáciu aktivitu v porovnaní s kontrolou pri celkovej dávke $1,96$ a $3,92\text{ J/cm}^2$ a po ožarení dávkou $7,84\text{ J/cm}^2$ bola ich proliferácia aktivita zvýšená ešte po 48 hodinách v prípade, že bola použitá iba jedna dávka žiarenia. V prípade použitia dvoch jednotlivých dávok po $1,96\text{ J/cm}^2$ pretrvávalo zvýšenie proliferácie aktivity po 24 aj 48 hodinách a v prípade troch dávok po $1,96\text{ J/cm}^2$ bolo zvýšenie proliferácie aktivity významné počas celého vyhodnocovaného intervalu [43].

V terapii He-Ne laserom bol pri dávke 5 J/cm^2 pozorovaný nárast proliferácie a migrácie fibroblastov, zatiaľ čo pri vyššej dávke 10 a 16 J/cm^2 bol efekt opačný [44, 45]. Bolo zistené, že dlhšie vlnové dĺžky sú spojené s väčšou hĺbkou prieniku [46]. Preto môžeme predpokladať, že rôzne vlnové dĺžky laserového svetla môžu stimulovať hojenie rán rozlične. V experimente, v ktorom sa porovnávali účinky lasera s vlnovou dĺžkou 665, 675 a 810 nm na proliferáciu fibroblastov a endoteliálnych buniek sa zistilo, že najväčšia proliferácia aktivity bola zaznamenaná pri vlnovej dĺžke 665 nm, zatiaľ čo vlnová dĺžka 810 nm proliferáciu fibroblastov inhibovala [47].

LLLT – experimentálne *in vivo* štúdie

V *in vivo* experimentoch sa používajú rôzne parametre laserového žiarenia, modely hojenia (excizionálne, incizionálne, popáleniny) a vyhodnocujú sa rôzne časové intervaly [48, 49, 42, 11, 50], čo značne komplikuje možnosť porovnať výsledky publikované rôznymi skupinami. Napríklad u GaAlAs lasera s vlnovou dĺžkou 904 nm sa pri celkovej dávke 33 J/cm^2 po 3, 7 a 14 dňoch použitím excizionálneho modelu ukázalo, že LLLT môže urýchliť zápalový proces, reepitelizáciu a pozitívne usmerniť syntézu kolagénu u zdravých potkanov aj u potkanov liečených kortikosteroidmi [5]. Podobne Stadler a kol. dokázali u incizionálneho modelu hojenia pozitívny efekt lasera s vlnovou dĺžkou 830 nm pri dávke 5 J/cm^2 na pevnosť rany u myši na 11. a 23. pooperačný deň [6]. V súlade s inými histomorfologickými štúdiami [48, 51] sme taktiež pozorovali urýchlenie zápalového procesu a proliferácie [2, 3]. Navyše sme zaznamenali zvýšenie množstva kolagénových vlákien a zreteľnejšiu remodeláciu (maturation fáza) väziva [3], v súlade so štúdiou, v ktorej bol použitý InGaAlP laser (865 nm, celková dávka $2,5\text{ J/cm}^2$) [52].

Na druhej strane existujú štúdie poukazujúce na neúčinnosť LLLT pri ovplyvňovaní procesu hojenia [53, 18, 54]. V experimentálnej štúdií vplyvu laserového žiarenia s vlnovou dĺžkou 635 a 690 nm pri celkovej dávke 1,5 J/cm² na hojenie popálenín u potkana nebol zaznamenaný žiadny makroskopický ani mikroskopický efekt [54]. Podobne nebol zaznamenaný žiadny rozdiel v epitelizácii a kontrakcii kožných rán ani pri použití AgAlAs lasera pri celkovej dávke 2 J/cm² u koní v porovnaní s kontrolnou skupinou [18], rovnako ako nebol zaznamenaný rozdiel v mikrocirkulácii použitím He-Ne lasera pri dávke 1,5 J/cm² [53].

Dôsledkom negatívneho účinku LLLT v mnohých štúdiách môže byť príliš nízka celková dávka [55]. Na druhej strane, pri plošnej hustote vyššej ako 20 mW/cm² bol už zaznamenaný útlm metabolizmu fibroblastov [56], aj keď v našej vlastnej štúdií sme ukázali, že celková dávka 30 J/cm² a hustota výkonu 25 mW/cm² je schopná zredukovať zápal bez negatívneho ovplyvnenia metabolizmu fibroblastov. Vysoká variabilita prezentovaných údajov jednoznačne poukazuje na nutnosť ďalšieho detailnejšieho skúmania parametrov LLLT (vlnová dĺžka, hustota výkonu a celková dávka) pre dosiahnutie najlepšieho možného výsledku pri zlepšovaní priebehu hojenia u pacientov.

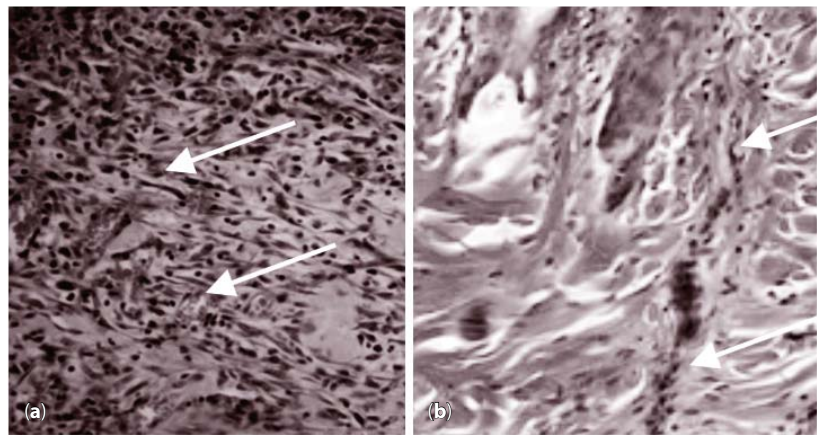
Nascimento a kol. vo svojej histologickej štúdií ukázali, že LLLT na úrovni 670 a 685 nm a dávke 10 J/cm² je viac efektívna za predpokladu, že vyššia intenzita je skombinovaná s kratšou vlnovou dĺžkou, alebo nižšia intenzita s dlhšou vlnovou dĺžkou [49]. Obdobne, sme zistili v našej predchádzajúcej štúdií, že LLLT na úrovni 635 a 670 nm a 5 J/cm² závisí od veľkosti hustoty [57]. Na druhej strane v našej minulej biomechanickej štúdií sme prišli k záveru, že najväčšia pevnosť rany bola nameraná ak laserom ožarované potkany boli vystavené vlnovej dĺžke 635 nm a vyššej hustote žiarenia, zatiaľ čo na úrovni vlnovej dĺžky 670 nm bola najväčšia pevnosť rany nameraná použitím nižšej hustoty žiarenia [58].

LLLT – klinické štúdie

Klinické štúdie v porovnaní so štúdiami *in vitro* alebo *in vivo* sú problematickejšie z dôvodu väčšieho rozptylu podmienok, v ktorých experiment prebieha, nemožnosti modifikovať podmienky pokusu a v neposlednom rade z dôvodu etických princípov, ktoré neumožňujú využiť všetky exaktné postupy, metodiky a kontrolné skupiny.

Ako prví uskutočnili štúdie o aplikácii LLLT pri hojení rán u ľudí Mester a kol. V svojej pilotnej štúdií sledovali účinky rubínového lasera v dávke od 1 do 4 J/cm² na regeneráciu priečne pruhovaného svalu v experimentálnom modeli po jednoduchom svalovom poranení. Konštatovali, že stimulačný efekt nespôsobil iba samotné urýchlenie procesu hojenia rany, ale najpravdepodobnejšie vplýval aj na kvalitatívne zlepšenie regenerácie [35].

Schindl a kol. publikovali na tému LLLT u ľudí viaceré štúdie [59, 13]. V jednej z nich sa zaoberali štúdiom vplyvu laserového žiarenia s nízkou intenzitou na hojenie perzistujúceho vredu z radiácie, pri liečbe ktorého bol použitý He-Ne (632,8 nm) laser s dávkou 31,5 J/cm². Bolo zaznamenané zlepšenie liečby tohto vredu po aplikácii He-Ne lasera [59]. V ďalšej štúdií sa kolektív autorov pod vedením Schindla zaoberal štúdiom vplyvu LLLT (He-Ne laser s vlnovou dĺžkou 632,8 nm,



Obr. 4 Týždeň sa hojaca excízná (a) a incízná rana (b) (hematoxilín-eozín – základné histologické farbenie). Výrazná tvorba granulačného tkaniva (šípky ukazujú luminizované cievy a fibroblasty) v excíznej rane, incízná rana bez novo vytvorených ciev (šípky ukazujú na incíziu, v ktorej sa nachádzajú prevažne len fibroblasty).

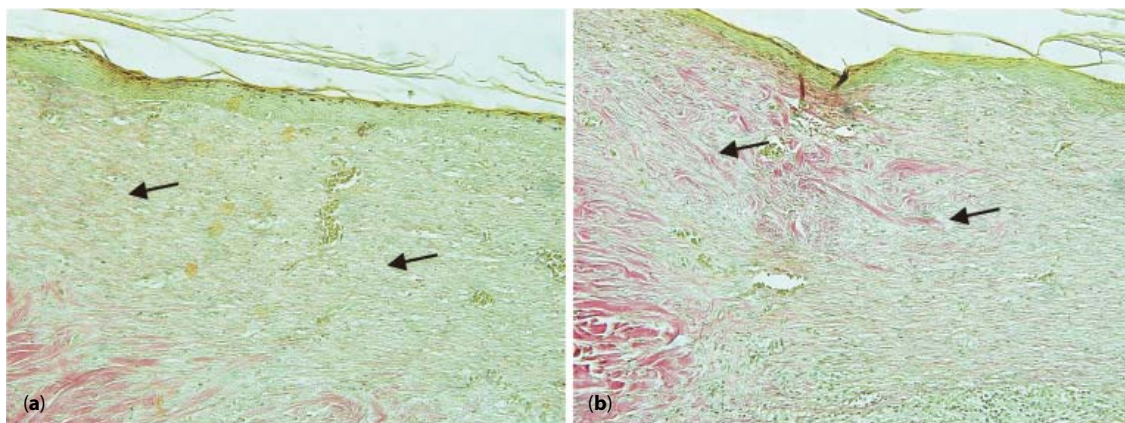
výkonom 30 mW a dávkou 30 J/cm²) na hojenie rán v podmienkach redukovanej mikrocirkulácie u pacientov s diabetickou mikroangiopatiou. Výsledky ukázali štatisticky významné zvýšenie teploty kože ožarovaných končatín oproti kontrolným končatinám, pričom u pacientov s ožarovanou končatinou na jednej strane bola štatisticky významne zvýšená teplota kože takisto kontralaterálne [60].

Iné skupiny, žiaľ už, pri skúmaní vplyvu LLLT na hojenie tkanív u človeka také úspešné neboli. V procese hojenia rán hrá výraznú úlohu variabilita kože a reaktivita hojenia [61]. Aj keď niekoľko skupín zaznamenalo zlepšenie hojenia rán po aplikácii LLLT, jednalo sa o štúdie buď s malým počtom vyhodnotených pacientov, alebo o štúdie s nedostatočnou kontrolnou skupinou. Mnohé ďalšie práce s rozsiahlejšími súbormi pacientov nedokázali štatisticky potvrdiť prínos LLLT v liečbe hojenia rán u ľudí [33].

Záver

Hojenie rán je komplexný proces, ktorý si vyžaduje komplexný prístup. Existujú tri základné modely hojenia rán: incízny, excízny a popáleninový [62]. Samotný proces hojenia prebieha dvomi spôsobmi, a to primárne alebo sekundárne. Základný rozdiel medzi týmito dvomi spôsobmi je v tvorbe granulačného tkaniva. Primárne sa rana hojí (incízná rana) bez tvorby granulačného tkaniva, naproti tomu počas sekundárneho hojenia (excízná rana) dochádza k tvorbe nešpecifického granulačného tkaniva [63] (obr. 4). Z toho dôvodu môžeme predpokladať, že terapia incíznej a excíznej rany sa môže, prípadne by sa mala, líšiť. Tento predpoklad sa nám podarilo potvrdiť v dvoch našich najnovších prácach [58, 34]. Nepriamo to potvrdzujú aj ostatní autori, kde predovšetkým pri popáleninovom modeli ukázali, že inak vhodné parametre LLLT sú pri tomto type poranenia neúčinné. Z tohto pohľadu by sa pri výbere parametrov LLLT malo prihliadať aj na typ rany, respektíve spôsob hojenia.

Na záver môžeme aj na základe našich výsledkov tvrdiť, že LLLT má pozitívny účinok na hojenie rán (obr. 5) [2, 3, 34, 57, 58]. Na druhej strane treba konštatovať, že aj napriek relatívne malej finančnej náročnosti a dobrej efektívnosti sa LLLT stále často nepoužíva v klinickej praxi. Prispieva k tomu aj fakt, že presný mechanizmus účinku LLLT na hojace sa tkanivo nie



Obr. 5 Dva týždne sa hojaca rana, farbenie VG (Van Gieson – nešpecifické farbenia na kolagén): (a) kontrolná nestimulovaná rana, (b) laserom (670 nm, 15 mW/cm², 5 J/cm²) stimulovaná rana. V oboch ranách pozorujeme vyzrievanie granulačného tkaniva a tvorbu jazvy. V laserom stimulovanej rane je výrazne viac kolagénu v porovnaní s kontrolnou (pozri šípky).

je známy. Otázkou zostáva, či sa tento typ terapie dokáže presadiť v blízkej budúcnosti popri iných, častokrát omnoho efektívnejších metódach používaných v klinickej praxi.

Literatúra

- [1] G. S. Ashcroft, S. J. Mills, K. Lei, L. Gibbons, M. J. Jeong, M. Taniguchi, M. Burow, M. A. Horan, S. M. Wahl, T. Nakayama: „Estrogen modulates cutaneous wound healing by downregulating macrophage migration inhibitory factor“, *J. Clin. Invest.* **111**, 1309 (2003).
- [2] P. Gál, R. Kilík, T. Špaková, F. Pataky, J. Sabo, M. Pomfy, F. Longauer, R. Hudák: „He-Ne laser irradiation accelerates inflammatory phase and epithelization of skin wound healing in rats“, *Biologia, Bratislava.* **60**, 691 (2005).
- [3] P. Gál, B. Vidinský, T. Toporcer, M. Mokrá, Š. Mozeš, F. Longauer, J. Sabo: „Histological assessment of the effect of laser irradiation on skin wound healing in rats“, *Photomed. Laser Surg.* **24**, 480 (2006).
- [4] A. R. Medrado, L. S. Pugliese, S.R. Reis, Z. A. Andrade: „Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts“, *Lasers Surg. Med.* **32**, 239 (2003).
- [5] E. S. Pessoa, R. M. Melhado, L. H. Theodoro, V. G. Garcia: „A histologic assessment of the influence of low-intensity laser therapy on wound healing in steroid-treated animals“, *Photomed. Laser Surg.* **22**, 199 (2004).
- [6] I. Stadler, R. J. Lanzafame, R. Evans, V. Narayan, B. Dailley, N. Buehner, J. O. Naim: „830-nm irradiation increases the wound tensile strength in a diabetic murine model“, *Lasers Surg. Med.* **28**, 220 (2001).
- [7] T. I. Karu, N. I. Afanasyeva, S. F. Kolyakov, L. V. Pyatibrat, L. Welsler: „Changes in absorbance of monolayer of living cells induced by laser radiation at 633, 670 and 820 nm“, *IEEE J. Quantum Electron.* **7**, 982 (2001).
- [8] H. F. I. Hans, V. Breugel, D. Bar: „Power density and exposure time of He-Ne laser irradiation are more important than total energy dose in photobiomodulation of human fibroblasts in vitro“, *Lasers Surg. Med.* **12**, 528 (1992).
- [9] Q. Zhu, J. Wie, X. Jang, G. L. Hicks, R. J. Lanzafame, T. Wang: „Photo-irradiation improved functional preservation of the isolated rat heart“, *Lasers Surg. Med.* **20**, 332 (1997).
- [10] K. Iijima, N. Shimovama, M. Shimovama, T. Yamamoto, T. Shimizu, T. Mizuguchi: „Effect of repeated irradiation of low-power He-Ne laser in pain relief from postherpetic neuralgia“, *Clin. J. Pain.* **5**, 271 (1989).
- [11] M. B. Kreisler, H. A. Haj, N. Noroozi, B. Willershausen: „Efficacy of low level laser therapy in reducing postoperative pain after endodontic surgery – a randomized double blind clinical study“, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **33**, 38 (2004).
- [12] S. Nakaji, C. Shiroto, M. Yodono, T. Umeda, Q. Liu: „Retrospective study of adjunctive diode laser therapy for pain attenuation in 662 patients: detailed analysis by questionnaire“, *Photomed. Laser Surg.* **23**, 60 (2005).
- [13] A. Schindle, G. Heinze, M. Schindl, H. Pernerstorfer-Schön, L. Schindl: „Systemic effects of low-intensity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetic microangiopathy“, *Microvasc. Res.* **64**, 240 (2002).
- [14] M. Toida, F. Watanabe, K. Goto, T. Shibata: „Usefulness of low-level laser for control of painful stomatitis in patients with hand-foot-and-mouth disease“, *J. Clin. Laser Med. Surg.* **21**, 363 (2003).
- [15] C. A. Damante, S. L. Gregghi, A. C. Sant’Ana, E. Passanezi, R. Taga: „Histomorphometric study of the healing of human oral mucosa after gingivoplasty and low-level laser therapy“, *Lasers Surg. Med.* **35**, 377 (2004).
- [16] K. M. Lagan, B. A. Clements, S. McDonough, G. D. Baxter: „Low intensity laser therapy (830 nm) in the management of minor postsurgical wounds: a controlled clinical study“, *Lasers Surg. Med.* **28**, 27 (2001).
- [17] T. Lundeberg, M. Malm: „Low-power He-Ne laser treatment of venous leg ulcers“, *Ann. Plast. Surg.* **27**, 537 (1991).
- [18] S. L. Petersen, C. Botes, A. Olivier, A. J. Guthrie: „The effect of low level laser therapy (LLLT) on wound healing in horses“, *Equine Vet. J.* **31**, 228 (1999).
- [19] A. L. Whinfield, I. Aitkenhead: „The light revival: does phototherapy promote wound healing? A review“, *Foot (Edinb).* **19**, 117 (2009).
- [20] M. H. Robert, S. D. Jeffrey, A. A. Kenneth: „Basic laser principles“, *Dermatologic Clinics* **355-372**, 15 (1997).
- [21] K. Shokrollahi, E. Raymond, M. C. S. Murison: „Lasers: Principles and Surgical Applications“, *J. Surg.* **2**, 1 (2004).
- [22] S. M. Rodrigo, A. Cunha, D. H. Pozza, D. S. Blaye, J. F. Moraes, J. B. Weber, M. G. de Oliveira: „Analysis of the systemic effects of red and infrared laser therapy on wound repair“, *Photomed. Laser Surg.* **27**, 929 (2009).
- [23] M. R. Stoker: „Basic principles of lasers“, *Anaesth. Int. Care Med.*, **6**, 402, 2005.
- [24] D. Chorvát Jr., E. Hriň, D. Chorvát: *Biostimulačné lasery a ich využitie v medicínskej praxi*, Univerzita Komenského, Bratislava 1996.
- [25] W. Posten, D. A. Wrone, J. S. Dover: „Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy“, *Dermatol. Surg.* **31**, 334 (2005).
- [26] S. Takáč, S. Stojanovića: „Characteristics of laser light“, *Med. Pregl.* **52**, 29 (1999).
- [27] J. F. Mulligan: *Introductory College Physics*. McGraw-Hill, New York 1985.
- [28] L. A. Pierce: „Laser physics and physiology“, *Plast. Surg. Nurse.* **17**, 123 (1997).
- [29] M. H. Niemz: *Laser-Tissue Interactions*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1996.
- [30] D. Williams: „Laser basics“, *Anaesth. Int. Care Med.*, **9**, 550 (2008).
- [31] S. M. Bloom, A. J. Brucker: *Laser Surgery of the Posterior Segment*, J. B. Lippincott Company, Philadelphia 1991.

- [32] C. Shiroto, K. Sugawara, T. Kumae, Y. Ono, M. Sasaki, T. Ohshiro: „Effect of diode laser radiation in vitro on activity of human neutrophils“, *Laser Ther.* **1**, 135 (1989).
- [33] J. Javůrek: *Fototerapie biolaserem – léčebná metoda budoucnosti*, Grada Publishing, Praha 1995.
- [34] K. Lacjaková, N. Bobrov, M. Poláková, M. Slezák, M. Vidová, T. Vasilenko, M. Novotný, F. Longauer, L. Lenhardt, M. Levkut, F. Sabol, P. Gál: „Effects of equal daily doses delivered by different power densities of low-level laser therapy at 670 nm on open skin wound healing in normal and corticosteroid-treated rats: a brief report“, *Lasers Med. Sci.* **25**, 761 (2010).
- [35] E. Mester, A. F. Mester, A. Mester: „The biomedical effects of laser application“, *Lasers Surg. Med.* **5**, 31 (1985).
- [36] A. Schindl, M. Schindl, H. Pernerstorfer-Schon: „Low-intensity laser therapy: a review“, *J. Investig. Med.* **48**, 312 (2000).
- [37] K. T. Schomacker, Y. Domankevitz, T. J. Flotte, T. F. Deutsch: „What: MgF2 laser tissue ablation: Effect of wavelength on the threshold of ablation and thermal damage“, *Lasers Surg. Med.* **11**, 141 (1991).
- [38] S. Nakaji, C. Shiroto, M. Yodono, T. Umeda, Q. Liu: „Retrospective study of adjunctive diode laser therapy for pain attenuation in 662 patients: detailed analysis by questionnaire“, *Photomed. Laser Surg.* **23**, 60 (2005).
- [39] P. J. Pontinen, R. Pothman: *Laser in der Akupunktur*, Hippokrates Verlag, Stuttgart 1993.
- [40] T. I. Karu: *Low-Power Laser Therapy*, in: *Biomedical Photonics Handbook*, Troitsk, Moscow 2003.
- [41] V. L. Busnardo, M. L. Biondo-Simões: „Effects of low-level helium-neon laser on induced wound healing in rats“, *Rev. Bras. Fisioter.* **14**, 45 (2010).
- [42] G. A. Guzzardella, M. Fini, P. Torricelli, G. Giavaresi, R. Giardino: „Laser stimulation on bone defect healing: an in vitro study“, *Laser Med. Sci.* **17**, 216 (2002).
- [43] M. Kreisler, A. B. Christoffers, H. Al-Haj, B. Willershausen, B. d'Hoedt: „Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblast“, *Laser Surg. Med.* **36**, 30 (2002).
- [44] D. H. Hawkins, H. Abrahamse: „The role of laser fluence in cell viability, proliferation, and membrane integrity of wounded human skin fibroblasts following helium-neon laser irradiation“, *Lasers Surg. Med.* **38**, 74 (2006).
- [45] N. N. Houreld, H. Abrahamse: „Laser light influences cellular viability and proliferation in diabetic-wounded fibroblast cells in a dose- and wavelength-dependent manner“, *Lasers Med. Sci.* **23**, 11 (2007).
- [46] H. Langer, W. Lange: „Comparison of transmission and absorption of He-Ne laser and infrared light in human tissue“, *AKU.* **20**, 19 (1992).
- [47] P. Moore, T. D. Ridgway, R. G. Higbee, E. W. Howard, M. D. Lucroy: „Effect of wavelength on low-intensity laser irradiation stimulated cell proliferation in vitro“, *Lasers Surg. Med.* **36**, 8 (2005).
- [48] D. Bisht, R. Mehrotra, P. A. Singh, S. S. Atri, A. Kumar: „Effect of helium-neon laser on wound healing“, *Ind. J. Exp. Biol.* **37**, 187 (1999).
- [49] P. M. Do Nascimento, A. L. Pinheiro, M. A. Salgado, L. M. Ramalho: „A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wounds as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats“, *Photomed. Laser Surg.* **22**, 513 (2004).
- [50] G. A. Maiya, P. Kumar, L. Rao: „Effect of low intensity helium-neon (He-Ne) laser irradiation on diabetic wound healing dynamics“, *Photomed. Laser Surg.* **23**, 187 (2005).
- [51] A. R. Medrado, L. S. Pugliese, S. R. Reis, Z. A. Andrade: „Influence of low-level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts“, *Lasers Surg. Med.* **32**, 239 (2003).
- [52] J. C. E. Silva, Z. G. M. Lacava, S. Kuckelhaus, L. P. Silva, L. F. Neto, E. E. Sauro, A. C. Tedesco: „Evaluation of the use of low-level laser and photosensitizer drugs in healing“, *Lasers Surg. Med.* **34**, 451 (2004).
- [53] S. C. Núñez, G. E. Nogueira, M. S. Ribeiro, A. S. Garcez, J. L. Lage-Marques: „He-Ne laser effects on blood microcirculation during wound healing: a method of in vivo study through laser Doppler flowmetry“, *Lasers Surg. Med.* **35**, 363 (2004).
- [54] A. Schlager, K. Oehler, K. U. Huebner, M. Schmuth, L. Spötl: „Healing of burns after treatment with 670 nm low-power laser light“, *Plast. Reconstr. Surg.* **105**, 1635 (2000).
- [55] J. Turner, L. Hode: *Laser Therapy Clinical Practice and Scientific Background*, Prima Books, Grängesberg 2002.
- [56] H. H. F. I. Van Breugel, P. R. Bär: „He-Ne laser irradiation affects proliferation of cultured rat Schwann cells in a dose-dependent manner“, *J. Neurocytol.* **22**, 185 (1992).
- [57] P. Gál, M. Mokřý, B. Vidinský, R. Kilík, F. Depta, M. Harakalová, F. Longauer, Š. Možeš, J. Sabo: *Lasers Med. Sci.* **24**, 539 (2009).
- [58] T. Vasilenko, M. Slezák, I. Kováč, Z. Bottková, J. Jakubčo, M. Kostelníková, Z. Tomori, P. Gál: „The effect of equal daily dose achieved by different power densities of low-level laser therapy at 635 and 670 nm on wound tensile strength in rats: a short report“, *Photomed. Laser Surg.* **28**, 281 (2010).
- [59] A. Shindl, M. Schindl, H. Pernerstorfer – Schon, I. Schindl: „Low intensity laser therapy“, *Invest. Med.* **48**, 312 (2000).
- [60] J. O. Funk, A. Kruse, P. Neustock, H. Kirchner: „Helium-neon laser irradiation induces effects on cytokine production at the protein and the mRNA level“, *Exp. Dermatol.* **2**, 75 (1993).
- [61] A. L. Varol, C. D. Anderson: „A minimally invasive human in vivo cutaneous wound model for the evaluation of innate skin reactivity and healing status“, *Dermatol. Res.* **302**, 383 (2010).
- [62] W. A. Dorsett-Martin: „Rat models of skin wound healing: A review“, *Wound Repair Regen.* **12**, 591 (2010).
- [63] A. Barbul, M. C. Regan: *Biology of Wound Healing*, in: *Surgical Basic Science*, Mosby Yearbook, St. Louis 1993.

» Hojenie rán je komplexný proces, ktorý si vyžaduje komplexný prístup. «

DIGITALIZACE

VELKOFORMÁTOVÝ OSVIT
OCÉ LIGHTJET

RYCHLOSTÍ SVĚTLA
LASERY RGB/36 BIT
LESK, METALICKÝ LESK, MAT
68 MILIARD BAREV
DO 300 X 127 CM

PROFESIONÁLNÍ
FOTOLABORATOŘ

**THALIA
PICTA**

272 732 444
WWW.THALIAPICTA.CZ

ADJUSTACE

DIGITÁLNÍ MINILAB

RUČNÍ ZVĚTŠENINY

ČERNOBÍLÁ FOTOGRAFIE