

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038728**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.10.11

(51) Int. Cl. *A61L 31/18* (2006.01)

(21) Номер заявки
201890909

(22) Дата подачи заявки
2016.11.11

(54) **СПОСОБЫ И СИСТЕМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ, ПРИМЕНЕНИЯ И ДОСТАВКИ АКТИВИРОВАННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

(31) **62/254,220; 62/321,781**

(56) US-A1-20120101479

(32) **2015.11.12; 2016.04.13**

US-A1-20120215156

(33) **US**

(43) **2018.12.28**

(86) **PCT/US2016/061673**

(87) **WO 2017/083755 2017.05.18**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ОВОКАЙТИС Тодд Фрэнк (US)

(72) Изобретатель:
**Страчан Джон Скотт (GB), Овокайтис
Тодд Фрэнк (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Собранные стволовые клетки активируют путем их обработки модулированным по амплитуде лазерным лучом, имеющим длину волны в диапазоне от 405 до 980 нм. Частоту лазерного луча модулируют в диапазоне от 8 до 12 МГц. С использованием активированных стволовых клеток ткань может быть подвергнута репарации и регенерации путем получения неактивированных стволовых клеток; обработки стволовых клеток модулированным по амплитуде лазерным лучом, имеющим предварительно заданную частоту для получения активированных стволовых клеток; введения активированных стволовых клеток в организм, содержащий эту ткань; и использования самонаводящегося луча для наведения активированных стволовых клеток на нужный участок ткани тела.

B1

038728

038728

B1

Перекрестная ссылка

В заявке на данное изобретения испрашивается приоритет нижеследующих предварительных заявок на патенты США, которые также во всей своей полноте вводятся в настоящее описание посредством ссылки:

предварительной заявки на патент США № 62/321781, озаглавленной "Method and System for Generation and Use of Activated Stem Cells" и поданной 13 апреля 2016 г.; и

предварительной заявки на патент США № 62/254220, озаглавленной "Method and System for Generation and Use of Activated Stem Cells" и поданной 12 ноября 2015 г..

Заявка на данное изобретение является частичным продолжением заявки на патент США № 14/726457, которая имеет такое же название, подана 30 мая 2015 г., и в которой, в свою очередь, испрашивается приоритет предварительной заявки на патент США № 62/006034, поданной 30 мая 2014 г..

Вышеупомянутые заявки во всей своей полноте вводятся в настоящее описание посредством ссылки.

Область, к которой относится изобретение

В настоящем документе описаны способы и системы для активации стволовых клеток, а в частности, для применения модулированных сверхбыстрых лазерных импульсов для активации и доставки стволовых клеток.

Предпосылки создания изобретения

Хотя стволовые клетки обладают терапевтическим потенциалом для замены поврежденных или разрушенных клеток, однако такая терапия имеет ограничения, связанные с невозможностью точной и эффективной доставки стволовых клеток в область-мишень в количестве, достаточном для достижения желаемых результатов. В случае острого воспалительного заболевания стволовые клетки, по своей природе, могут в некоторой степени притягиваться к ткани-мишени, однако, по существу, необходимо повысить и усилить степень эффективной доставки и/или введения стволовых клеток в область-мишень. Это особенно актуально при лечении послеоперационных ран, таких как повреждение спинного мозга после его перерезки.

Следовательно, необходимо разработать способ доставки стволовых клеток в область, подвергаемую лечению, и стимуляции адгезии, дифференцировки и интеграции этих клеток.

Сущность изобретения

При подаче модулированного по амплитуде лазерного луча, как описано ниже, в колбу с клетками Kg1a, было неожиданно обнаружено, что эти клетки способны выстраиваться в один ряд и прилипать друг к другу в месте наведения луча. После проведения эксперимента было обнаружено, что в первичной клеточной линии Kg1a, которая имеет признаки стволовых клеток, наблюдалось повышение уровня экспрессии маркера гемопоэтических стволовых клеток CD34. При последующей оценке было также обнаружено, что природа модулированного лазерного сигнала будет в широкой степени стимулировать молекулы клеточной адгезии и клеточного взаимодействия, известные как альфа- и бета-интегрины. Протоочная цитометрия указывала на вариабельное и достаточно значительное увеличение параметров для молекул интегринов бета 1, бета 2 и альфа 4 на клеточной поверхности, которое достигало пика через 24 ч и снижалось через 48 ч. Визуальное наблюдение межклеточной адгезии и адгезии клеток к поверхности (колбы) показало заметное увеличение такой адгезии, если в колбу с клетками был направлен луч. В соответствии с этим было определено, что раздражитель повышает степень миграции и точной локализации стволовых клеток, а также повышает уровень экспрессии молекул клеточной адгезии в стволовых клетках. Кроме того, ткань, стимулированная таким резонансным сигналом, направляет стволовые клетки в область подачи луча и способствует сохранению клеток в ткани, которые были также стимулированы для сообщения им более высоких адгезивных свойств. Как более подробно описано ниже, луч, генерируемый с помощью устройства SONG (генератора узлов Страхана-Овокейта), будет более глубоко проникать вовнутрь клеток при интактной модуляции. Таким образом, это может стимулировать направленную миграцию и адгезию стволовых клеток в конкретном участке и повышать выход стволовых клеток, доставляемых в ткань-мишень, которую необходимо регенерировать или репарировать.

Настоящее изобретение относится к способам репарации, регенерации, отверждения или лечения поврежденной биологической ткани, такой как ткань легких, почечная ткань, кровеносные сосуды, клетки иммунной системы, ткань сердца, хрящевая ткань, костная ткань, зубы, ткань печени, эндокринные ткани, ткань гипофиза, ткань тимуса, межпозвоночные диски, ткань головного мозга, ткань позвоночника или нервная ткань, путем получения неактивированных стволовых клеток, образования активированных стволовых клеток из неактивированных стволовых клеток путем обработки неактивированных стволовых клеток модулированным по амплитуде лазерным лучом, имеющим предварительно заданную длину волны и предварительно заданную амплитуду, и введения активированных стволовых клеток в организм, содержащий биологическую ткань.

Способ может также включать использование самонаводящегося луча для доставки активированных стволовых клеток в область биологической ткани организма. Предварительно заданная длина волны составляет, но необязательно, от 405 до 980 нм. Предварительно заданная частота составляет, но необязательно, от 8 до 12 МГц. Перед обработкой неактивированных стволовых клеток лазерный луч, но не-

обязательно, расширяют в 2-10 раз путем пропускания этого лазерного луча через расширитель пучка. Перед обработкой неактивированных стволовых клеток лазерный луч, но необязательно, пропускают через генератор узлов Страхана-Овокейта. Затухание фазы лазерного луча корректируют, но необязательно, для достижения предварительно определенной выходной мощности до обработки неактивированных стволовых клеток.

Обработка неактивированных стволовых клеток включает, но необязательно, наведение модулированного по амплитуде лазерного луча с длиной волны в диапазоне от 405 до 980 нм на контейнер, содержащий неактивированные стволовые клетки, где указанный контейнер вращают со скоростью один полный оборот в каждые 3-5 с и где этот контейнер одновременно с вращением перемещают вверх и вниз в течение приблизительно 15 с в каждом направлении. Лазерный луч имеет, но необязательно, длину волны 674 нм. Неактивированные стволовые клетки являются, но необязательно, аутологичными или экзогенными. По сравнению с неактивированными стволовыми клетками активированные стволовые клетки обнаруживают, но необязательно, по меньшей мере одно из таких свойств, как увеличение уровня экспрессии альфа- или бета-интегрина, повышение уровня CD34 или усиленную миграцию в направлении самонаводящегося луча. Частота лазерного луча модулируется, но необязательно, в диапазоне от 8 до 12 МГц. В одном из вариантов осуществления изобретения затухание фазы лазерного луча корректируют для достижения предварительно определенной выходной мощности перед обработкой неактивированных стволовых клеток.

Экзогенные неактивированные стволовые клетки выделяют, но необязательно, из плаценты и/или крови пупочного канатика.

Настоящее изобретение также относится к системам для репарации, регенерации, отверждения или лечения поврежденной биологической ткани, такой как ткань легких, почечная ткань, кровеносные сосуды, клетки иммунной системы, ткань сердца, хрящевая ткань, костная ткань, зубы, ткань печени, эндокринные ткани, ткань гипофиза, ткань тимуса, межпозвоночные диски, ткань головного мозга, ткань позвоночника или нервная ткань. Эта система включает модулятор амплитуды для генерирования модулированного по амплитуде лазерного луча; расширитель пучка для расширения модулированного по амплитуде лазерного луча; устройство для затухания фазы лазерного луча, применяемое для коррекции затухания фазы лазерного луча в целях получения предварительно определенной выходной мощности лазерного луча; контейнер, адаптированный так, чтобы он содержал стволовые клетки, где конфигурация лазерного луча позволяет направлять этот луч на контейнер в течение предварительно определенного периода времени с образованием активированных стволовых клеток, а самонаводящийся луч адаптирован так, чтобы он был направлен на указанную поврежденную биологическую ткань и имел конфигурацию, позволяющую доставлять активированные стволовые клетки в указанную поврежденную биологическую ткань.

Эта система также включает, но необязательно, генератор узлов Страхана-Овокейта для генерирования лазерного луча с предварительно заданной длиной волны. Модулированный по амплитуде лазерный луч имеет, но необязательно, длину волны в диапазоне от 405 до 980 нм. Модулированный по амплитуде лазерный луч модулируют, но необязательно, так, чтобы он имел частоту в диапазоне от 8 до 12 МГц. Модулированный по амплитуде лазерный луч имеет, но необязательно, конфигурацию, позволяющую этому лучу проходить через расширитель пучка и расширять модулированный по амплитуде лазерный луч в 2-10 раз. Контейнер адаптируют, но необязательно, так, чтобы он вращался со скоростью один полный оборот в каждые 3-5 с и одновременно перемещался вверх и вниз в течение приблизительно 15 с. После обработки указанным модулированным по амплитуде лазерным лучом активированные стволовые клетки обнаруживают, но необязательно, по меньшей мере одно из таких свойств, как повышение уровня экспрессии альфа- или бета-интегрина, повышение уровня CD34 или усиленную миграцию в направлении самонаводящегося луча по сравнению со стволовыми клетками до их обработки указанным модулированным по амплитуде лазерным лучом.

В настоящем документе описан способ репарации поврежденной биологической ткани, включающий получение неактивированных стволовых клеток; образование активированных стволовых клеток из неактивированных стволовых клеток путем обработки стволовых клеток модулированным по амплитуде лазерным лучом, имеющим предварительно заданную длину волны и предварительно заданную амплитуду; введение активированных стволовых клеток в организм, содержащей биологическую ткань; и чрескожную подачу самонаводящегося когерентного лазерного луча по меньшей мере вдоль одной оси так, чтобы этот самонаводящийся когерентный лазерный луч взаимодействовал с указанной поврежденной биологической тканью.

Самонаводящийся когерентный лазерный луч генерируют посредством 20-90% затухания фазы. Неактивированные стволовые клетки собирают из аутологичного источника, включая по меньшей мере периферическую кровь, костный мозг, жир или пульпу зуба. Неактивированные стволовые клетки собирают из экзогенного источника, включая по меньшей мере кровь пупочного канатика или плаценту пациента. Неактивированные стволовые клетки могут быть также взяты у генетически совместимого донора стволовых клеток. Предварительно заданная длина волны составляет в диапазоне от 405 до 980 нм. Лазерный луч имеет длину волны 674 нм. Лазерный луч включает серию импульсов малой длительности в

субфемто-диапазоне второй генерации. Перед обработкой неактивированных стволовых клеток, лазерный луч расширяют от двух до десяти раз путем пропускания лазерного луча через расширитель пучка. Перед обработкой неактивированных стволовых клеток лазерный луч пропускают через генератор узлов Страхана-Овокейта, а затухание фазы лазерного луча корректируют для достижения предварительно определенной выходной мощности до обработки неактивированных стволовых клеток. Обработка неактивированных стволовых клеток включает, но необязательно, наведение модулированного по амплитуде лазерного луча на контейнер, содержащий неактивированные стволовые клетки, так, чтобы контейнер вращался и одновременно перемещался вверх и вниз в вертикальном положении в течение всего процесса активации. Контейнер вращают со скоростью в один полный оборот в каждые 3-5 с и одновременно перемещают вверх и вниз в течение 15 с в каждом направлении. По сравнению с неактивированными стволовыми клетками активированные стволовые клетки обнаруживают, но необязательно, по меньшей мере, одно из таких свойств, как повышение уровня экспрессии альфа- или бета-интегрина, повышение уровня CD34 или усиленную миграцию в направлении самонаводящегося когерентного лазерного луча. Биологической тканью является по меньшей мере одна из таких тканей, как ткань миокарда, ткань легких, почечная ткань, кровеносные сосуды, клетки иммунной системы, ткань сердца, хрящевая ткань, костная ткань, зубы, ткань печени, эндокринные ткани, ткань гипофиза, ткань тимуса, межпозвоночные диски, ткань головного мозга, ткань позвоночника, ткань поджелудочной железы и нервная ткань. Неактивированными стволовыми клетками являются, но необязательно, "дремлющие клетки", которые присутствуют в крови и в изолированном виде.

В настоящем документе описан способ лечения поврежденной ткани сердца у пациента, включающий получение неактивированных стволовых клеток; образование активированных стволовых клеток из неактивированных стволовых клеток путем обработки стволовых клеток модулированным по амплитуде лазерным лучом, имеющим предварительно заданную длину волны и предварительно заданную амплитуду; внутривенное введение активированных стволовых клеток пациенту; и чрескожную подачу самонаводящегося когерентного лазерного луча по меньшей мере вдоль одной оси так, чтобы этот самонаводящийся лазерный луч взаимодействовал с указанной тканью сердца. Самонаводящийся когерентный лазерный луч генерируют посредством 20-90% затухания фазы.

В настоящем документе описан способ лечения нервного заболевания у пациента, включающий получение неактивированных стволовых клеток; образование активированных стволовых клеток из неактивированных стволовых клеток путем обработки стволовых клеток модулированным по амплитуде лазерным лучом, имеющим предварительно заданную длину волны и предварительно заданную амплитуду; внутривенное введение активированных стволовых клеток пациенту и чрескожную подачу самонаводящегося когерентного лазерного луча по меньшей мере вдоль одной оси так, чтобы этот самонаводящийся когерентный лазерный луч взаимодействовал с тканью головного мозга и/или тканью спинного мозга пациента. Самонаводящийся когерентный лазерный луч имеет развертку, которая проходит, но необязательно, по всей указанной ткани спинного мозга и по всей указанной ткани головного мозга. Самонаводящийся когерентный лазерный луч генерируют, но необязательно, посредством 20-90% затухания фазы.

Все вышеупомянутые и другие варианты осуществления изобретения будут более подробно описаны на чертежах и в подробном описании изобретения, приведенном ниже.

Краткое описание чертежей

Эти и другие отличительные признаки и преимущества настоящего изобретения будут более понятны специалистам из нижеследующего подробного описания изобретения, которое рассматривается вместе с прилагаемыми чертежами, где:

На фиг. 1 проиллюстрирован генератор узлов Страхана-Овокейта, описанный в патенте США № 6811564, который во всей своей полноте вводится в настоящее описание посредством ссылки.

На фиг. 2 показан конструктивный эффект рассеяния-интерференции в пластине с 1%-ным затуханием по ширине полосы пропускания, где пластина имеет отверстие в 5 мм.

На фиг. 3 представлена блок-схема, иллюстрирующая способ активации стволовых клеток и их использование для лечения поврежденной ткани в соответствии с одним из вариантов осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 4 проиллюстрированы стадии активации стволовых клеток с помощью лазера в соответствии с одним из вариантов осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 5 представлена блок-схема, иллюстрирующая систему генерации активированных стволовых клеток путем подачи модулированного по амплитуде лазерного луча, имеющего предварительно заданную длину волны и выходную мощность, на контейнер, содержащий неактивированные стволовые клетки, в соответствии с одним из вариантов осуществления настоящего изобретения.

На фиг. 6 представлена таблица, где указаны значения фракции выброса для пациентов, участвующих в клиническом испытании, в различные интервалы времени в течение 90 дней после имплантации стволовых клеток для лечения сердечной недостаточности в терминальной стадии.

На фиг. 7 представлен график, где указаны значения фракции выброса для пациентов, участвующих в клиническом испытании, в различные интервалы времени в течение 90 дней после имплантации ство-

ловых клеток для лечения сердечной недостаточности в терминальной стадии.

На фиг. 8 представлен график, иллюстрирующий суммарное изменение значений фракции выброса для пациентов, участвующих в клиническом испытании, через 90 дней после лечения.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к композиции активированных стволовых клеток, полученных путем обработки неактивированных стволовых клеток. В одном из вариантов осуществления изобретения способы и системы, описанные в настоящем документе, включают подачу модулированных по амплитуде импульсов лазерного луча на неактивированные стволовые клетки для получения указанных активированных стволовых клеток. В различных вариантах осуществления изобретения "стволовая клетка" может быть определена как недифференцированная клетка многоклеточного организма, которая способна продуцировать значительно большее число клеток того же типа и от которой могут происходить клетки некоторых других видов посредством дифференцировки.

Стволовые клетки способны делиться и создавать идентичную себе копию по механизму, называемому "самообновлением". Стволовые клетки могут также делиться с образованием клеток, которые созревают и образуют клетки, составляющие ткань и органы каждого типа в организме. Теоретически, достаточно высокая доза устойчивых стволовых клеток может полностью восстановить любую поврежденную или разрушенную ткань. Однако, на практике, введение стволовых клеток в нужную ткань организма человека представляет определенные трудности. Существуют серьезные проблемы, ассоциированные с транспортировкой клеток в нужный участок, их пребыванием и репарацией в этом нужном участке. Неудачи, которые до сих пор ассоциировались с невозможностью достижения этих целей, ограничивают ценность терапии стволовыми клетками и дают весьма неоднозначные результаты.

Лазерная терапия стволовыми клетками дает обнадеживающие результаты. Использование лазерного луча способствует быстрому и интенсивному притягиванию клеток к местоположению луча, что также повышает адгезию клеток, а поэтому клетки остаются в нужном участке, а не проходят через него. Клеточная адгезия представляет собой межклеточное взаимодействие, которое обеспечивает непосредственную репарацию ткани в нужном участке.

Для проведения стандартной терапии стволовыми клетками может потребоваться от трех до шести недель, а полученные результаты могут быть ограниченными или статистически незначимыми. В противоположность этому, терапия стволовыми клетками, активированными и наведенными лазером, как описано в настоящем документе, дает клиническое улучшение менее чем за 24 ч. Кроме того, этот способ дает гораздо большую степень симптоматического и объективного восстановления, чем другие способы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения описана уникальная лазерная платформа, которая позволяет осуществлять предварительную активацию стволовых клеток для улучшения их адгезивных свойств и последующую доставку таких клеток в нужные ткани с использованием глубоко проникающего лазерного луча низкой энергии.

В одном из вариантов осуществления изобретения неактивированные стволовые клетки являются аутологичными или экзогенными. Импульсы лазерного излучения имеют длину волны в диапазоне от 300 до 1000 нм, а в одном из вариантов осуществления изобретения приблизительно 674 нм. В одном из вариантов осуществления изобретения импульсы лазерного излучения пропускают через расширитель пучка и перед подачей на неактивированные стволовые клетки синхронизируют по фазе.

В различных вариантах осуществления активированной стволовой клеткой является клетка, которая по сравнению с исходной стволовой клеткой обнаруживает по меньшей мере одно из таких улучшенных свойств, как повышение уровня экспрессии альфа-или бета-интегрина на клеточной поверхности, а более конкретно, интегрин альфа-4, бета-1 или бета 2; повышение уровня CD34 или усиление миграции в направлении подаваемого луча.

В другом варианте осуществления изобретения описан способ лечения пациента, имеющего участок ткани, нуждающийся в регенерации, восстановлении или репарации, где указанный способ включает введение пациенту композиции, содержащей активированные стволовые клетки, и с помощью лазерного луча доставку активированных стволовых клеток в указанный участок ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретения лазерный луч включает модулированные по амплитуде импульсы лазерного излучения и способствует трехмерной направленной локализации указанных активированных стволовых клеток. Адгезия активированных стволовых клеток к ткани-мишени превышает адгезию неактивированных стволовых клеток. В одном из вариантов осуществления изобретения такой способ лечения позволяет устранять неврологический дефицит, вызываемый церебральным параличом у пациента. В другом варианте осуществления изобретения у некоторых других пациентов способ лечения позволяет осуществлять регенерацию ткани миокарда и улучшать сердечную функцию. В еще одном варианте осуществления изобретения способ лечения позволяет осуществлять репарацию повреждений спинного мозга у пациента.

Различные варианты осуществления изобретения основаны на экспериментах, которые включают подачу модулированного по амплитуде лазерного луча через колбу с клетками. Общие наблюдения в описанных выше экспериментах показали, что эти клетки способны выстраиваться в один ряд с образованием цепи из множества клеток, прилипших друг к другу в области подачи луча. В одном из вариантов

осуществления изобретения было обнаружено, что в первичной клеточной линии Kgl₁, которая имеет признаки стволовых клеток, наблюдалось повышение уровня экспрессии маркера гемопоэтических стволовых клеток CD34. При последующей оценке было также обнаружено, что природа модулированного лазерного сигнала будет в широкой степени стимулировать молекулы клеточной адгезии и клеточного взаимодействия, известные как альфа- и бета-интегрины. Проточная цитометрия указывала на вариабельное и достаточно значительное увеличение параметров для молекул интегринов бета 1, бета 2 и альфа 4 на клеточной поверхности, которое достигало пика через 24 ч и снижалось через 48 ч. Визуальное наблюдение межклеточной адгезии и адгезии клеток к поверхности (колбы) показало заметное увеличение такой адгезии, если в колбу с клетками был направлен луч. Раздражитель, который повышает степень миграции и точной локализации стволовых клеток, а также повышает уровень экспрессии молекул клеточной адгезии в стволовых клетках и в ткани, стимулированной таким резонансным сигналом, направляет стволовые клетки в область подачи луча и способствует сохранению клеток в ткани, которые были также стимулированы для сообщения им более высоких адгезивных свойств.

В одном из вариантов осуществления изобретения стволовые клетки, которые были активированы описанными здесь способами, имеют более высокую степень клеточной адгезии по сравнению со стволовыми клетками, которые не были активированы. В одном из вариантов осуществления изобретения стволовые клетки, которые были активированы описанными здесь способами, имеют более высокую степень экспрессии CD34 по сравнению со стволовыми клетками, которые не были активированы. В одном из вариантов осуществления изобретения стволовые клетки, которые были активированы описанными здесь способами, имеют более высокую степень экспрессии молекул интегрин по сравнению со стволовыми клетками, которые не были активированы.

Как более подробно описано ниже, луч, генерируемый в устройстве SONG, имеет тенденцию к гораздо более глубокому проникновению с интактной модуляцией. Это позволяет осуществлять направленную миграцию и адгезию стволовых клеток с конкретной целью увеличения выхода стволовых клеток, доставляемых в ткань-мишень, нуждающуюся в регенерации или репарации. Следует отметить, что настоящее изобретение позволяет достичь заметного улучшения терапевтических результатов по сравнению со стандартной терапией, поскольку излучение, применяемое в настоящем изобретении, обеспечивает гораздо более глубокое проникновение, чем при проведении ранее описанных способов доставки или самонаведения луча на стволовые клетки. В частности, в описанных ранее методах доставки или самонаведения луча на стволовые клетки используется излучение, которое может проникать максимум на 5 мм ниже поверхности эпидермиса пациента. В противоположность этому, источник излучения, используемый в настоящем изобретении, может проникать глубоко внутрь организма и тем самым контактировать с любым и с каждым внутренним органом, что позволяет направлять любую внутривенно вводимую группу активированных стволовых клеток в любой орган, включая желудок, тонкий кишечник, толстую кишку, прямую кишку, задний проход, легкие, нос, бронхи, почки, мочевой пузырь, уретру, гипофиз, надпочечники, щитовидную железу, поджелудочную железу, парашитовидную железу, предстательную железу, сердце, кровеносные сосуды, селезенку, матку, яички, яичники, молочную железу, головной и спинной мозг. В одном варианте осуществления изобретения каждый из описанных способов лечения включает стадию самонаведения, где описанный ниже источник излучения позиционируется на некотором расстоянии от пациента, так, чтобы испускаемое излучение имело самый короткий и самый прямой путь через тело пациента к ткани-мишени.

Системы и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения каждого органа человеческого организма с использованием активированных стволовых клеток. Путем направления таких стволовых клеток в любую ткань или в любой орган регенерация и репарация ткани или органа ускоряются во много раз. В различных вариантах осуществления изобретения описанные здесь системы и способы применяют для восстановления функций легких, почек, кровеносных сосудов, иммунной системы, костей, зубов, печени, эндокринных тканей, таких как щитовидная железа и поджелудочная железа, гипофиз и тимус; межпозвоночных дисков, а также других тканей и органов. Ниже представлены репрезентативные состояния у пациента, которые подвергаются лечению с использованием описанных здесь вариантов осуществления изобретения:

Застойная сердечная недостаточность, подвергаемая лечению: У пациентов с тяжелой формой заболевания в терминальной стадии (с сердечными фракциями выброса в пределах 15%) наблюдалось улучшение в день лечения. За период времени от 3 до 6 недель, за которое было проведено от 2 до 3 лечебных сеансов, наблюдалось увеличение сердечных фракций выброса на 50-100% или более. Заметные улучшения клинического состояния и ослабление симптомов наблюдались у пациентов, проходивших лечение с применением систем и способов согласно изобретению.

Болезнь Паркинсона, подвергаемая лечению: У пациентов, прошедших лечение, наблюдалось снижение тремора, снижение ригидности и увеличение числа шагов при ходьбе с большей стабильностью. Также значительно улучшились речь, дыхание и координация.

Рассеянный склероз подвергался лечению с большим успехом, когда клетки были направлены в область локализованного повреждения нервов. У одного индивидума, у которого до этого диагностировалась острая фаза обострения, наблюдалось увеличение силы рук и ног, улучшение речи и улучшение ко-

ординации в течение 1 ч после лечения.

Травма позвоночника, подвергаемая лечению: У пациентов, прошедших лечение, наблюдалось улучшение функции рук и ног и повышение чувствительности в области повреждения среднего шейного отдела позвоночника через 6-8 недель после лечения.

Церебральный паралич, подвергаемый лечению: У пациентов, прошедших лечение, наблюдалось снижение спастичности, увеличение свободы движения, а также улучшение тонкой координации движения. Один курс лечения может давать новые функциональные возможности даже у пациентов, которые не могли стоять и ходить.

Амиотрофический боковой склероз (АБС или болезнь Луи-Герига), подвергаемый лечению: Протоколы лечения показали заметное восстановление после быстро прогрессирующего бульбарного синдрома (улучшение речи и глотание в отличие от симптомов на более поздней стадии). После лечения в течение 1 ч у пациентов наблюдалось увеличение силы в руках и ногах, а также улучшение речи, глотания и координации движения языка. Через восемь недель после лечения вместо ожидаемого возвращения к прогрессированию заболевания у пациента продолжало наблюдаться значительное улучшение и стабилизация состояния.

Травма колена, подвергаемая лечению: У пациентов, прошедших лечение, наблюдалось быстрое заживление разрывов хрящевой ткани колена, в частности в мениске, и даже способность к регенерации хряща в кости при заболеваниях костей.

Омолаживающие процедуры: Пациенты, которым была проведена лазерная обработка активированными стволовыми клетками, осуществляемая в целях омоложения, ощущали функциональные улучшения и выглядели более молодо.

В настоящем изобретении описано несколько вариантов осуществления изобретения. Нижеследующее описание дает возможность специалисту средней квалификации осуществить настоящее изобретение на практике. Терминология, используемая в настоящем описании, не должна интерпретироваться как отказ от какого-либо одного конкретного варианта осуществления изобретения или как ограничение притязаний, даже если этот вариант может быть описан другими, не используемыми здесь терминами. Определенные здесь общие принципы могут относиться и к другим вариантам осуществления изобретения и к их применению, если это не выходит за рамки существа и объема изобретения. Кроме того, терминология и фразеология используются здесь в целях описания репрезентативных вариантов осуществления изобретения и не должны рассматриваться как ограничение объема изобретения. Таким образом, настоящее изобретение должно соответствовать самому широкому объему, охватывающему многочисленные альтернативы, модификации и эквиваленты в соответствии с раскрытыми здесь принципами и признаками. Для ясности, детали, относящиеся к техническому материалу, известному специалистам в области, к которой относится настоящее изобретение, подробно не приводятся, чтобы не создавать какой-либо ненужной путаницы в понимании сущности изобретения.

Следует отметить, что любой признак или компонент, описанный в конкретном варианте осуществления изобретения, может быть использован и реализован вместе с любым другим вариантом осуществления изобретения, если это не оговорено особо.

В различных вариантах осуществления изобретения, для активации, стволовые клетки подвергаются лазерной обработке, включающей обработку этих клеток лазерным лучом на предварительно определенной длине волны с предварительно определенной модуляцией амплитуды, где указанный луч проходит через расширитель пучка, такой как генератор узлов Страхана-Овокейта или устройство SONG, описанные в патенте США № 6811564, который вводится в настоящее описание посредством ссылки.

На фиг. 1 проиллюстрировано устройство SONG, описанное в патенте США № 6811564. Как показано на фиг. 1, устройство SONG содержит диодный лазер 2, регулируемый модулятором амплитуды 1. Диодный лазер 2 выбран так, чтобы он имел, по существу, линейную зависимость между током и длиной волны при минимальном скачке мод. Модулятор амплитуды 1 модулирует подачу тока на диодный лазер 2, который, в свою очередь, обеспечивает очень малую модуляцию длины волны лазера, необходимую для целей, обсуждаемых ниже.

Выход диодного лазера 2 коллимируется линзой 3 и поступает на оптический элемент 4. Оптический элемент 4 состоит из первой дифракционной решетки, преломляющего элемента и второй дифракционной решетки, что приводит к значительному затуханию луча. Это позволяет осуществлять затухание лазерного источника с небольшим процентом изменения по всей длине волны, а не в одной критической длине волны. Длины волн за пределами ширины полосы приема затухающего оптического сигнала 4 выше и ниже центральной частоты пропускания без затухания. Это означает, что происходит генерирование комплексной зоны Френеля/Фраунхофера, ограниченной высокой и низкой частотой биений в зависимости от апертуры. Следовательно, наблюдаются относительно разреженные зоны конструктивной интерференции между высокой и низкой частотами пропускания элемента затухания в выбранных направлениях от апертуры, как показано на фиг. 2. На фиг. 2 показан конструктивный эффект рассеяния-интерференции в пластине с 1%-ным затуханием по ширине полосы пропускания, где пластина имеет отверстие в 5 мм. Черным показаны конструктивные узлы.

Как видно на фиг. 1, оптический элемент 4 может регулироваться по углу между положениями 4А и

4В. Это изменяет соотношение конструктивной интерференции и деструктивной интерференции.

Действительно, непрерывный луч преобразуется в ряд импульсов очень короткой длительности обычно в субфемто-диапазоне второй генерации. Малая модуляция длины волны диодного лазера 2 способствует быстрому перемещению конструктивных и деструктивных узлов по объему зоны Френеля апертуры коллиматора линзы. Это создает эффект стимуляции очень коротких (субпикосекундных) импульсов в любой точке зоны Френеля, через которые проходят узлы с частотой повторения импульсов с определенной частотой модулятора амплитуды.

Длина волны затухания и конструктивные зоны интерференции для одного теоретического пути будут отличаться для этих двух частот. Если ширина полосы элемента затухания является узкой, то эта разница очень мала, а эффективная длина волны затухающего/незатухающего цикла будет очень длинной, порядка пикосекунд. Следовательно, эта система будет вести себя в основном аналогично системе без затухания, поскольку для образования подходящей зоны Френеля/Фраунхофера ей требуется гораздо большая апертура, чем для исходной длины волны излучения. Такая апертура будет способствовать значительно увеличению доступных путей на диаграмме Фейнмана с потерей любого полезного эффекта, даже если она может генерировать достаточно когерентный источник.

Если частота биений может быть достаточно высокой, то длина волны затухающего-незатухающего цикла может практически зависеть от апертуры. Это позволяет значительно снизить длину волны, чтобы ограничить фейнмановские пути в пределах одного или двух циклов в свободном пространстве, что позволяет наблюдать эффект Френеля/Фраунхофера. Поскольку центральная частота и спектр распространения диодного лазера модулируются посредством корректировки тока и/или температуры перехода, то паттерн зон Френеля/Фраунхофера будет значительно варьироваться посредством очень малых колебаний длины волны на одной или более частотах пропускания. Такая модуляция генерируется в устройстве, описанном на фиг. 1, с помощью модулятора амплитуды 2.

Стандартный когерентный или некогерентный луч будет иметь пути высокой вероятности на диаграмме Фейнмана. Эти пути будут перекрываться на очень низких частотах (кГц) и имеют очень небольшое практическое применение в стимуляции молекулярного резонанса. Однако в этой связи следует отметить, что описанные выше явления используются как средства увеличения частоты модуляции вплоть до точки, где луч становится фактически непрерывным. Таким образом, при правильном выборе апертуры область пучка, выбранная для пропускания через среду, и частота модуляции могут стимулировать образование конструктивных узлов, проходящих через любую заданную точку в луче на частотах, во много раз превышающих частоту модуляции. В идеальных условиях продолжительность воздействия на конструктивный узел любой точки будет означать период, эквивалентный четверти длительности длины волны для молекулярной частоты, повторяющейся один раз за цикл.

Если длина волны лазера выбирается так, чтобы она легко поглощалась атомными структурами, то желательно вызвать резонанс, а затем эффективно направлять луч с нужной частотой модуляции на нужные молекулы. Молекулы клеточной адгезии и человеческие интегрины, такие как альфа-4 бета-1, идеально подходят для возбуждения химической активности с применением этого способа.

Источники клеток для проведения описанной здесь процедуры могут быть аутологичными или экзогенными. Аутологичные стволовые клетки представляют собой клетки, которые были взяты у того же самого индивидуума, который должен быть подвергнут лечению такими клетками. Эти клетки будут генетически совместимыми, что позволит исключить риск отторжения клеток. В современных методах аутологичные стволовые клетки либо получают, либо выделяют из периферической крови, костного мозга или жира, однако источником аутологичных стволовых клеток могут быть и другие ткани, а фактически любая ткань организма, которая имеет свой собственный резервуар стволовых клеток.

Предпочтительным экзогенным источником стволовых клеток является кровь пупочного канатика. Стволовые клетки, происходящие из крови пупочного канатика, являются очень прочными, имеют длинные теломеры (генетические часы старения, присутствующие у новорожденного) и обладают высокой способностью к восстановлению тканей. Функционально, проблемы, связанные с синдромами отторжения клеток и реакцией "трансплантат против хозяина (РТПХ)", не возникают при использовании этого источника клеток в неповрежденной иммунной системе. Соответствующим источником клеток может быть также костный мозг, хотя, во избежание отторжения и РТПХ, необходима высокая степень соответствия. На практике, в отличие от терапевтического лечения лейкоза, для регенерации безопаснее использовать стволовые клетки пупочного канатика.

В одном из вариантов осуществления изобретения экзогенные стволовые клетки, используемые в лечении, получают из мозга клеток крови пупочного канатика и плаценты. В одном из вариантов осуществления изобретения, используемого в одобренных правительством клинических испытаниях, стволовые клетки, происходящие от клеток крови пупочного канатика и плаценты, после первой доставки, были использованы для лечения сердечной недостаточности на терминальной стадии, а полученные результаты были весьма обнадеживающими.

На фиг. 3 представлена блок-схема, иллюстрирующая способ активации стволовых клеток и их использование для лечения ткани, требующей лечения в соответствии с одним из вариантов осуществления изобретения. Как показано на фиг. 3, вводимые аутологичные или экзогенные стволовые клетки предва-

рительно обрабатывают сверхбыстрыми импульсами модулированного лазерного излучения, а затем вводят пациенту. Общая процедура включает сначала приготовление клеток для лечения (стадия 301) путем выделения аутологичных или экзогенных стволовых клеток в биологически совместимом растворе. Затем эти стволовые клетки обрабатывают лазером (стадия 305), и такая обработка включает воздействие на эти клетки лазерного излучения на предварительно заданной длине волны с предварительно заданной модуляцией амплитуды, которое проходит через расширитель пучка в генераторе узлов Страхана-Овокейта, как подробно описано в приведенных ниже примерах.

Только что активированные стволовые клетки вводят пациенту (стадия 310) обычно путем внутривенного вливания, хотя могут быть применены и другие способы, такие как интраназальная инъекция, инъекция вовнутрь цереброспинальной жидкости и селективная внутрисуставная или внутриаартериальная инъекция. Стволовые клетки доставляют в нужный участок обработки (стадия 315) путем направления самонаводящегося луча через кожу в ткань-мишень по двум или более осям, которые пересекаются в нужном объеме мишени. Затем оценивают клинический ответ пациента и, если это необходимо, процедуру повторяют (стадия 320) до тех пор, пока не будут достигнуты оптимальные или желаемые результаты.

Самонаводящимся лучом или направляющим сигналом предпочтительно является лазерный луч, который направляют через кожу по всей поверхности всего объема органа или ткани, подвергаемых обработке по меньшей мере по одной, а предпочтительно по двум-трем осям. В соответствии с этим пациента помещают на стол в таком положении, чтобы испускаемый извне лазерный луч проделывал самый прямой путь к ткани-мишени вдоль первой оси, и так, чтобы этот лазерный луч мог быть перемещен во вторую и/или третью позицию и напрямую попадать в ткань-мишень по второй и третьей оси, где вторая и третья оси находятся в разных направлениях по отношению друг к другу и по отношению к первой оси. Затем генерируют когерентный лазерный луч с использованием 20-90% затухания фазы, предпочтительно 50-70% затухания фазы, а более предпочтительно 60% затухания фазы. Затем когерентный лазерный луч преобразуют в конфигурацию, подходящую для нацеленной доставки в определенное анатомическое положение либо делают развертку луча, охватывающую всю анатомическую область, в зависимости от размера обрабатываемой области. Так, например, наводящийся или самонаводящийся лазерный луч может иметь развертку, охватывающую более крупный орган со скоростью приблизительно от 1 до 2 см/с.

На фиг. 4 показаны стадии активации стволовых клеток методом с использованием лазера в соответствии с одним из вариантов осуществления изобретения. В различных вариантах осуществления изобретения стадии получения аутологичных или экзогенных стволовых клеток и их обработки лазером включают помещение неактивированных стволовых клеток во вращающийся контейнер (стадия 410). В одном варианте осуществления изобретения скорость вращения контейнера составляет приблизительно один оборот за 3-5 с. В одном варианте осуществления изобретения контейнер также перемещается в плоскости, перпендикулярной плоскости вращения. Контейнер перемещается в направлении вверх и вниз по отношению к плоскости вращения в течение приблизительно 15 с в каждом направлении. В одном варианте осуществления изобретения высота контейнера в несколько раз превышает высоту лазерного луча, используемого для обработки неактивированных стволовых клеток.

Затем на стадии 420 генерируют модулированный по амплитуде лазерный луч, имеющий предварительно заданную длину волны. В различных вариантах осуществления изобретения лазерный луч имеет длину волны в диапазоне от 405 до 980 нм. В одном варианте осуществления изобретения лазерный луч имеет длину волны приблизительно 674 нм. В одном варианте осуществления изобретения частота лазерного луча модулируется в диапазоне от 8 до 12 МГц.

На стадии 430 лазерный луч проходит через расширитель пучка для расширения пучка в 2-10 раз. В других вариантах осуществления изобретения лазерный луч расширяется менее чем в два раза или более чем в десять раз. Далее, на стадии 440 лазерный луч проходит через генератор узлов Страхана-Овокейта (SONG), как объясняется со ссылкой на фиг. 1 и 2, описанные выше.

На стадии 450 затухание фазы регулируют для достижения требуемой выходной мощности лазерного луча. Затухание фазы регулируют путем измерения выходной мощности, настройки луча на минимальное затухание, определяемое по максимальной измеренной мощности, а затем изменения угла до получения желаемого процента путем доведения определенной мощности до этого уровня.

На стадии 460 лазерный луч направляют на вращающийся контейнер для активации стволовых клеток.

В одном из вариантов осуществления изобретения описанный выше способ позволяет получить стволовые клетки, которые в отличие от вводимых неактивированных стволовых клеток имеют повышенный уровень экспрессии интегринов альфа 4, бета 1 и бета 2 на клеточной поверхности. В одном варианте осуществления изобретения описанный выше способ позволяет получить стволовые клетки, которые в отличие от вводимых неактивированных стволовых клеток обнаруживают приблизительно 30-35% увеличение уровня экспрессии CD34, т.е. маркера гемопоэтических стволовых клеток на поверхности клеток.

На фиг. 5 показана блок-схема, иллюстрирующая систему для генерации активированных стволовых клеток путем подачи модулированного по амплитуде лазерного луча, имеющего предварительно

заданную длину волны и выходную мощность, на контейнер, содержащий неактивированные стволовые клетки. Система 50 0 включает вращающийся контейнер 510, содержащий неактивированные стволовые клетки, модулятор амплитуды 520 для модуляции лазерного луча с получением лазерного луча, имеющего модуляцию по амплитуде в диапазоне от 405 до 980 нм; расширитель пучка 530 для расширения лазерного луча в 2-10 раз, генератор узлов Страхана-Овокейта 540, используемый как устройство для затухания фазы лазерного луча 550 в целях получения предпочтительно заданной выходной мощности лазерного луча. В различных вариантах осуществления изобретения скорость вращения контейнера составляет приблизительно один оборот за 3-5 с и/или этот контейнер перемещается одновременно вверх и вниз в течение приблизительно 15 с в каждом направлении.

В этих вариантах осуществления изобретения системы и способы, описанные в настоящем документе, позволяют получить стволовые клетки, которые имеют биологическую активность клеток новорожденных. В этих вариантах осуществления изобретения неактивированные стволовые клетки обрабатывают так, чтобы положительные частицы в таких клетках были обработаны теломеразой, и которые после их активации имели теломеры почти такие же, как у новорожденного или, возможно, даже больше. Кроме того, полученные активированные стволовые клетки не содержат каких-либо добавленных факторов роста или химических веществ.

Типичное лечение на основе стволовых клеток требует введения приблизительно 1 млн клеток/кг массы тела, что соответствует приблизительно 50-100 млн клеток для большинства взрослых. В этих вариантах осуществления изобретения процедура, описанная в настоящем документе, позволяет получить приблизительно 1 млрд частиц или стволовых клеток, которые имеют высокую степень активации. В этих вариантах осуществления изобретения, включающих усовершенствованный метод иммуномагнитного разделения, может быть получено приблизительно 10 млрд частиц.

Другим существенным преимуществом систем и способов, описанных в настоящем документе, является размер активированных частиц. Типичные стволовые клетки размером в 10 мкм при лечении аутологичными или аллогенными клетками с высокой вероятностью захватываются капиллярами легких при внутривенном введении этих клеток, что соответствует фактической системной доставке в виде небольшой дозы. В этих вариантах осуществления изобретения получают частицы небольшого размера, которые преимущественно используются в неврологии. В одном из вариантов осуществления изобретения, размер активированных частиц в 1-2 мкм позволяет этим частицам легче проходить через легкие, а также через гематоэнцефалический барьер.

Описанная в настоящем документе лазерная терапия стволовыми клетками, активируемыми и направляемыми лазером, является уникальной по двум важным аспектам. Первым аспектом является возможность стимулировать "дремлющие" циркулирующие клетки, ответственные за репарацию, которые уже погибли, а поэтому не могут стать активными и в высокой степени функциональными. Другим аспектом является генерирование направляемого лазером сигнала, который притягивает клетки к месту направления луча в ткань, повышает адгезионную способность клеток и, тем самым, поддерживает их интеграцию в участок, в который они были направлены. Оба эти свойства реализуются независимо от всех других методов, применяемых в этой активно развивающейся области. "Пробудившиеся" таким образом стволовые клетки идеально подходят индивидууму, у которого они были взяты, что делает их безопасным и особенно мощным источником клеток для регенерации.

Необычное свойство "покоящихся" частиц для репарации заключается в том, что они являются позитивными по теломеразе. Теломераза представляет собой фермент, который удлиняет область на концах хромосом, известных как теломеры. Человек рождается с длинными теломерами. Каждый раз, при делении клеток, от теломер отщепляются небольшие кусочки, и со временем эти теломеры становятся короче. Теломеры напоминают пластиковые кончики шнурков ботинок, которые необходимы для предохранения шнурков ботинок от развязывания и разрушения. Когда теломеры укорачиваются, клетки делятся реже, а поэтому размер и функции органов и тканей снижаются. Когда теломеры становятся слишком короткими, приблизительно до половины их длины при рождении (и до одной трети их длины в момент зачатия), то, это, как правило, определяет предел продолжительности жизни человека. Теломераза может снова удлинять теломеры и может буквально повернуть вспять часы старения. Этот фермент обычно включается, что является причиной старения клеток и тканей. Когда покоящиеся клетки пробуждаются, то они "оживают" и приобретают жизнеспособность благодаря активированной теломеразе, обеспечивающей исключительно длинные теломеры, соответствующие возрасту одного дня биологической жизни или даже моложе.

Самым главным недостатком терапии стволовыми клетками обычно являются локализация и адгезия этих клеток в нужном участке, что не позволяет осуществлять желаемую репарацию. Для лечения сердечной недостаточности применяется сердечная катетеризация для инфузии стволовых клеток непосредственно в артерии сердца. Множество опубликованных исследований, по существу, показали, что этот метод позволяет улучшать функции сердца примерно на 8% в течение 180 дней. В сравнительных клинических испытаниях, проводимых с использованием стволовых клеток, активированных и направляемых лазером, стволовые клетки, вводимые по минимальному курсу инвазивного внутривенного введения, но направляемые лазером, давали более чем 50% клинический эффект, который наступал прибли-

зительно в 60 раз быстрее, т.е. уже через 3 дня после начала лечения. Лазерное наведение оказалось гораздо более эффективным для локализации клеток, чем более инвазивные методы введения непосредственно в артерии. Степень такого эффекта была сравнима с обратным развитием патологического процесса на 5-15 лет, что для ткани, по сути, означает повернуть время вспять.

Исследование заболевания 1. Направляемые лазером стволовые клетки, используемые для обратного развития церебрального паралича.

Пациентка: 20-летняя женщина с церебральным параличом, вызванным гипоксией головного мозга, имела полную инвалидность с детства. Хотя ее когнитивные способности довольно хорошо сохранились, однако у нее наблюдалась заметная спастичность и значительные ограничения сгибаемости коленей. Ее речь была понятной и последовательной, но с придыханием. При обследовании наблюдался дисбаланс сопряженного движения глаз, а правый глаз имел тенденцию к выпячиванию. Оценка другого черепного нерва указывала на отсутствие повреждений, однако при этом наблюдалось небольшое нарушение артикуляции речи. Сила ее верхних конечностей была нормальной, но со слабым захватом, а тонус был относительно нормальным. В противоположность этому, в ее нижних конечностях наблюдалась заметная спастичность со сгибанием коленей до 45°, а поэтому она не могла стоять без посторонней помощи.

Процедура: Для инъекций приготавливали 10 млн стволовых клеток крови пупочного канатика. Эти клетки концентрировали приблизительно до объема 3 см³. Перед введением, эти клетки обрабатывали лазерным лучом с длиной волны 674 нм и модуляцией амплитуды на частоте 10 МГц, который сначала пропускали через 5× расширитель пучка, а затем через генератор узлов Страхана-Овокейта или устройство SONG, описанные в настоящем документе.

При минимальном затухании фазы лазерного луча при прохождении через устройство выходная мощность составляла 1,15 мВт, а затем затухание фазы корректировали путем регулировки оптического сигнала до выходной мощности 0,46 мВт. Остаточное излучение подавали в форме разреженных узлов конструктивной интерференции, которые имели гораздо большую глубину проникновения, чем обычное лазерное излучение в видимом диапазоне длин волн, которое интенсивно рассеивалось за пределами 2-5 мм. Клетки активировали путем медленного вращения шприца, содержащего клетки, путем подачи луча в течение 77 с.

Активированные стволовые клетки были введены пациенту путем медленного внутривенного вливания в течение 3 мин. После вливания активированных стволовых клеток они были направлены в головной мозг и спинной мозг путем медленного сканирования лучом вверх и вниз по центральному отделу позвоночника или медленного сканирования назад и вперед, а затем вверх и вниз по соответствующим областям головного мозга и далее по всей площади. Скорость перемещения луча составляла приблизительно 1-2 см/с по всем соответствующим проецируемым областям посредством чрескожной подачи следующим образом:

нижний отдел позвоночника: 2,5 мин;
верхний отдел позвоночника: 2,5 мин;
правая затылочная доля: 1 мин;
правая височно-теменная доля: 3 мин;
правая фронтальная доля: 1 мин;
левая фронтальная доля: 1 мин;
левая височно-теменная доля: 3 мин;
левая затылочная доля: 1 мин.

В различных вариантах осуществления изобретения молекулы клеточной адгезии стволовых клеток активируются путем подачи модулированного по амплитуде лазерного луча, как объясняется выше. Дальнейшая активация стволовых клеток происходит тогда, когда эти клетки направляют в организм до достижения ткани-мишени с применением метода лазерного наведения. В некоторых вариантах осуществления изобретения наблюдается эффект светового захвата направляющим лазерным лучом, который может также ассоциироваться с активацией состояния молекул клеточной адгезии. Активность молекул клеточной адгезии в объеме ткани, в которую направлен лазерный луч, стимулирует прилипание стволовых клеток к ткани-мишени. Следовательно, стволовые клетки имеют более высокую тенденцию не только сохраняться в месте подачи направляющего лазерного луча, который циркулирует по всему телу, но и сообщать нативной ткани о состоянии притягивания стволовых клеток и характере их интеграции в ткани.

В различных вариантах осуществления изобретения область охвата направляющего лазерного луча представляет собой область, которая позволяет направлять луч по проекции поверхности всего объема подлежащих обработке органа или ткани по меньшей мере по одной, а предпочтительно по двум-трем осям, причем последние были коллимированы для осуществления наиболее эффективной общей суммарной обработки нужного объема ткани. В одном из вариантов осуществления изобретения было достигнуто 20-90% затухание фазы направляющего лазерного луча. В другом варианте осуществления изобретения затухание фазы лазерного луча составляло от 50 до 70%. В еще одном варианте осуществления изобретения затухание фазы составляло приблизительно 60%. В различных вариантах осуществления изобретения направляющий луч лазера может оставаться на участке ткани, требующей лечения, в тече-

ние всего времени обработки, если участок, требующий лечения, является небольшим, как в случае болезни Паркинсона, или этот луч может охватывать более крупный орган со скоростью приблизительно от 1 до 2 см/с.

Результаты: Эта процедура хорошо переносилась пациенткой. Сразу же после проведения этой процедуры, у пациентки наблюдался прилив энергии и покалывание в голове и в теле, а особенно в нижней части ног и ступней. Кроме того, она уже почувствовала уменьшение спастического мышечного тонуса и вела себя спокойно и расслабленно.

Через одну неделю у пациентки отмечалось значительное увеличение гибкости нижних конечностей, и она могла вытянуть ноги под углом 10-12°. Через месяц она была в состоянии стоять без посторонней помощи. Примечательно, что через семь недель после процедуры, она могла ходить на короткие расстояния без посторонней помощи. У нее также наблюдалось значительное улучшение тонкой координации рук и пальцев, что впервые позволило ей нарисовать прямоугольники и треугольники. Ее дыхание улучшилось, и она могла говорить по телефону, при этом ее речь была намного понятней, чем раньше.

Исследование заболевания 2. Направляемые лазером стволовые клетки для регенерации ткани и функции миокарда.

Пациент: 69-летний белый мужчина страдал застойной кардиомиопатией на терминальной стадии и перенес несколько инфарктов миокарда, и у него была зарегистрирована фракция сердечного выброса в пределах 15-17%. Его прогноз был очень плохой, и надежду на продление жизни давала только имплантация вспомогательного устройства, стимулирующего работу левого желудочка. Его лицо было бледным и синюшным, и при этом у него нарушалась коммуникативная способность, что было обусловлено низкой перфузией крови.

Процедура: 120 см³ периферической крови брали из вены индивидуума. Эту смесь концентрировали в 20 см³ богатой стволовыми клетками плазмы с помощью стандартного устройства, применяемого для этой процедуры. В результате было получено приблизительно 10 млн аутологичных стволовых клеток крови и, возможно, еще 1 млрд стволовых клеток, активированных из "дремлющей" популяции циркулирующих стволовых клеток.

Клетки озонировали 15 см³ озона, который барботировали через клетки. Лазер с конфигурацией лазерного луча на 674 нм был модулирован по частоте 10 МГц, а затем этот луч проходил через 5× расширитель пучка и был совмещен по фазе с помощью устройства SONG, работающего на 1,80-0,69 мВт. Стволовые клетки в шприце обрабатывали этим пучком в течение 3 мин.

Уже активированные стволовые клетки были введены пациенту путем медленного внутривенного вливания в течение 5 мин. После вливания активированных стволовых клеток они были введены в сердце с помощью луча, направленного чрескожно в миокард по передней проекции миокарда от передней стенки грудной клетки в течение 5 мин и боковой проекции миокарда по боковой стенке грудной клетки в течение 5 мин. Луч направляли во все эти соответствующие области путем медленного охвата лучом всех боковых сторон, а также сверху и снизу по всей области миокарда по обоим этим осям со скоростью приблизительно 1-2 см/с.

Результаты: Эта процедура хорошо переносилась пациентом. Через 15-20 мин кожа пациента имела более здоровый цвет и его синюшные губы порозовели и были более энергичными. Отмечаемая ранее спутанность сознания значительно снизилась. Через 45-60 мин у него наблюдалось повышение физической энергии, он мог вставать со стула и танцевать под музыку, играющую в клинике.

Эту процедуру повторяли еще два раза с интервалами приблизительно в 3 недели, после чего у пациента наблюдалось восстановление сил и функций. У пациента наблюдалось улучшение физической активности, например, если раньше он мог пройти только половину квартала и страдал одышкой из-за напряжения, то теперь он был в состоянии пройти несколько кварталов и вернуться к своей работе. Эхокардиограмма, полученная после третьей процедуры, показала весьма заметное улучшение функции, т.е. удвоение фракции сердечного выброса до 30-34%.

Исследование заболевания 3. Лазерная терапия стволовыми клетками для восстановления после травмы позвоночника.

Пациент: 24-летний мужчина четыре года страдал квадриплегией после перелома С4-С5 в результате несчастного случая на серфинге, и у него, по существу, не функционировали ноги, и наблюдалась ограниченная подвижность проксимального отдела верхних конечностей. Он имел заметно сниженный уровень чувствительности ниже сосковой линии.

Процедура: Было приготовлено 20 млн стволовых клеток крови пупочного канатика, и эти клетки концентрировали приблизительно до объема 5 см³. Лазер с конфигурацией лазерного луча на 674 нм был модулирован по частоте 10 МГц, а затем этот луч проходил через 5× расширитель пучка и был совмещен по фазе с помощью устройства SONG, работающего на 0,85-0,33 мВт. Клетки медленно вращали через луч вверх и вниз в течение приблизительно 3 мин. 5 млн клеток вводили интраназально после того, как носовой проход был обработан гиалуронидазой для повышения их способности к пересечению решетчатой пластины.

15 млн активированных стволовых клеток крови пупочного канатика были введены пациенту путем

медленного внутривенного вливания в течение 5 мин. После инфузии активированных стволовых клеток они были направлены в область обработки с помощью лазерного луча, который был чрескожно направлен в область С2-С8 путем медленного вертикального охвата центрального отдела позвоночника, а затем в горизонтальном направлении из стороны в сторону на 2,5 см по обе стороны от средней линии в течение 15 мин.

Результаты: Эта процедура хорошо переносилась пациентом, хотя у него не наблюдалось конкретного субъективного ощущения результатов эксперимента во время всей процедуры. Через неделю его сестра (его главный опекун) сообщила, что у него появилась еще большая чувствительность в области живота. Он также ощущал повышение физической энергии и почувствовал легкость в руках. Через шесть-восемь недель у него наблюдалось даже еще большее восстановление, а именно более интенсивные движения рук, включая способность отразить обратно удар теннисным мячом обеими ладонями. Наблюдалось также некоторая регуляция дистальных функций, т.е. способность принимать пищу с помощью небольшой механической поддержки. После использования аппарата Локомата для имитации движений при ходьбе у него наблюдалось улучшение состояния, т.е. он мог поддерживать приблизительно 30% его веса и мог выполнять толчковые движения ногами в бассейне.

Исследование заболевания 4. Лазерная терапия стволовыми клетками для восстановления функций при рассеянном склерозе (РС).

Пациентка: 52-летняя белая женщина имела в анамнезе РС в течение 8 лет с обострением неврологических симптомов. Сначала она жаловалась на слабость в левой руке и левой ноге и на нарушение речи и глотания, что было подтверждено при обследовании.

Процедура: 30 мл жира, взятого из ее медиальных областей бедра, собирали, а затем обрабатывали с получением концентрата мезенхимальных стволовых клеток, происходящих от жировой ткани. Затем брали приблизительно 60 мл периферической крови и обрабатывали ее для концентрирования стволовых клеток, как описано в примере 2. Затем эти клетки смешивали в пакете, содержащем приблизительно 150 мл 5% декстрозы в половинном нормальном физиологическом растворе.

Лазер с конфигурацией лазерного луча на 674 нм был модулирован по частоте 10 МГц, а затем этот луч проходил через 5× расширитель пучка и был совмещен по фазе с помощью устройства SONG, работающего на 1,40-0,55 мВт. Стволовые клетки обрабатывали этим лучом в пакете для внутривенного введения, медленно перемещая его по горизонтали и из стороны в сторону в течение 5 мин. Затем, в течение 95 мин внутривенно вливали комбинацию стволовых клеток, происходящих от жировой ткани и от периферической крови.

После вливания активированных стволовых клеток, они были направлены в головной мозг и спинной мозг с помощью луча, медленно сканирующего вверх и вниз по центральному отделу позвоночника и/или назад и вперед, а затем вверх и вниз по всем соответствующим областям головного мозга до полного сканирования всей области. Скорость движения луча составляла приблизительно 1-2 см/с на соответствующих областях, чрескожно проецируемых лазером, где стадию наведения лазерного луча проводили в начале инфузии и снова после инфузии всех клеток. Первую процедуру начинали через 35 мин после начала инфузии, а вторую процедуру проводили сразу после завершения инфузии через 95 мин после ее начала. Каждая из этих двух процедур имела следующий профиль и соответствующие длительности:

правая затылочная доля: 1 мин;
 правая височно-теменная доля: 3 мин;
 правая фронтальная доля: 1 мин;
 левая фронтальная доля: 1 мин;
 левая височно-теменная доля: 3 мин;
 левая затылочная доля: 1 мин;
 позвоночник: 5 мин.

Во время первого лечения лазером пациентка отмечала значительное покалывание и ощущения электротока в области лица и шеи, а затем в верхней и нижней части спины. При втором сеансе лечения она почувствовала значительное покалывание в области лица и шеи и в органах речевого аппарата. Она чувствовала тепло и сильное покалывание при прохождении луча между лопатками, а затем вверх и вниз по позвоночнику.

Результаты: Через 20 мин после завершения процедуры сила ее левой руки заметно повысилась и составляла 3/5 (три по пятибалльной шкале) по оценке силы проксимального мышцы-сгибателя и -разгибателя, а затем улучшалась до 4,5/5 (четыре с половиной по пятибалльной шкале). Сила проксимального и дистального отдела ее левой ноги почти полностью восстанавливалась с 3,5/5 (три целых и пять десятых по пятибалльной шкале) до 5/5 (пять по пятибалльной шкале). После наблюдения в течение более чем одного года такое улучшение сохранялось, и обострения заболевания больше не наблюдались.

Исследование заболевания 5. Лазерная терапия стволовыми клетками для обратного развития болезни Паркинсона.

Пациент: 71-летний белый мужчина, которому за 12 лет до данного исследования был поставлен диагноз болезнь Паркинсона, которая постепенно прогрессировала. Пациент принимал лекарственные

средства, такие как Мирапекс, Сталево и аспирин. Он жаловался на невнятную речь, трудности в написания строчных букв, шаркающую походку, трудности поворота туловища и тремор рук. При его неврологическом обследовании наблюдалась небольшая потеря слуха в правом ухе, ухудшение двигательной функции, проявляющееся в небольшом уменьшении силы сгибания конечностей обеих ног, невозможность поднести палец к носу из-за кинетического тремора, замедленное поочередное касание пальцами и размашистая походка небольшими шагами, при которой наблюдалось медленное движение почти без ритмичной работы рук, и нестабильная походка с пятки на носок.

Процедура: 30 мл жира, взятого из медиальных областей бедра, собирали, а затем обрабатывали с получением концентрата мезенхимальных стволовых клеток, происходящих от жировой ткани. Затем брали приблизительно 60 мл периферической крови и обрабатывали ее для концентрирования стволовых клеток, как описано в примере 2. Затем эти клетки смешивали в пакете, содержащем приблизительно 150 мл 5% декстрозы в половинном нормальном физиологическом растворе.

Лазер с конфигурацией лазерного луча на 674 нм был модулирован по частоте 10 МГц, а затем этот луч проходил через 5× расширитель пучка и был совмещен по фазе с помощью устройства SONG, работающего на 1,36-0,52 мВт. Стволовые клетки обрабатывали этим лучом в пакете для внутривенного введения, медленно перемещая его по горизонтали и из стороны в сторону в течение 5 мин. Затем в течение 84 мин внутривенно вливали комбинацию стволовых клеток, происходящих от жировой ткани и от периферической крови.

Приблизительно через 25 мин после начала инфузии самонаводящийся лазерный луч направляли на кожу от левой боковой черепной области перпендикулярно коже и до черного вещества в течение 3 мин. Затем луч подавали под углом приблизительно 45° по отношению к оси первого луча так, чтобы он поступал в черное вещество по двум различным осям также в течение 3 мин. Эту процедуру повторяли с правой стороны для двух введений по 3 мин каждое. После завершения инфузии эту процедуру повторяли еще 2 раза по 3 мин каждая на правой и левой стороне. Эта процедура хорошо переносилась пациентом.

Результаты: Сразу после завершения вышеописанного протокола был повторно проведен анализ неврологических функций, и наблюдались некоторые улучшения. Пациент мог быстрее и точнее поднести палец к носу со значительно меньшим тремором. Поочередное касание пальцами было более быстрым и более аккуратным. Его шаг был длиннее и более уравновешенным с улучшением движения рук. Походка с пятки на носок была лучше и более стабильной. И что особенно бросалось в глаза, это то, что его речь была более громкой и членораздельной.

После проведения процедуры у пациента наблюдались как улучшение, так и ухудшение состояния, но в целом его состояние улучшалось. Его трудоспособность ежедневно увеличивалась с 2 до 3 клиентов за прием. Через 1 и 3 месяца после первой процедуры эту процедуру повторяли. Единственное отличие заключалось в том, что лазерное облучение было увеличено до подачи лазерного луча по трем различным осям, направленным на черное вещество с каждой стороны по 3 мин на каждую. Одна ось шла с боковой стороны головного мозга параллельно основанию черепа, вторая ось шла с верхней части головы, а третья находилась приблизительно на полпути между ними. После третьей процедуры у пациента сохранялось общее улучшение состояния в течение 10 месяцев наблюдения.

Исследование заболевания 6. Лазерная терапия стволовыми клетками для лечения амиотрофического бокового склероза (АБС).

Пациентка: у 69-летней белой женщины был диагностирован агрессивный бульбарный вариант АБС 6 месяцев назад. В течение 1-1,5 года у нее наблюдалась слабость в руках и ногах, причем в правых больше, чем в левых, а руки были более слабыми, чем ноги. Она не смогла снять рубашку или вытереть шею полотенцем. В течение 6 месяцев у нее наблюдалось прогрессирующее и изнурительное ухудшение речи и функции глотания. Она также жаловалась на накопление слюны с периодическими слюнотечениями, а поэтому она использовала экстрактор слюны, если накопление слюны было чрезмерным. Она отказалась от употребления булочек и мягкого хлеба из-за тенденции закупорки кишечника. За прошедший год она похудела на 40 фунтов. Пациентка также жаловалась на боли в средней-верхней части грудной клетки, и МРТ за один год до этого показала фораминальное сужение сегментов позвоночника С3-С6 с умеренной до тяжелой степени.

Обследование показало, что эта женщина была очень худой и имела относительно небольшую жировую и мышечную массу. Ее неврологическое обследование указывало на невнятную речь, которая была нечленораздельной и трудно слышимой. У нее наблюдались проблемы с высывиванием языка, которое было трудно контролировать. Сила правой руки снижалась до 2-3 по 5-балльной шкале, а левой до 3-4 по 5-балльной шкале. Сила правой ноги в проксимальной и дистальной области составляла 3 по 5-балльной шкале, а сила левой ноги в проксимальной и дистальной области составляла 4 по 5-балльной шкале. Глубокие сухожильные рефлексы были подавлены с правой, но не с левой стороны, что, вероятно, обусловлено просто слабостью. Фаза релаксации для рефлекса сгибания правой лодыжки была замедленной.

Процедура: Лазер с конфигурацией лазерного луча на 674 нм был модулирован по частоте 10 МГц,

а затем этот луч проходил через 5× расширитель пучка и был совмещен по фазе с помощью устройства SONG, работающего на 1,28-0,53 мВт.

Было приготовлено 2 контейнера со стволовыми клетками крови пупочного канатика (CBSC), один из которых содержал 2 мл с 50 миллионами CBSC, а другой - 9 мл со 100 миллионами CBSC. Контейнеры обрабатывали лазером, медленно поворачивая их перед лучом и одновременно перемещая вверх и вниз в течение 3 мин каждый.

Более крупный контейнер с клетками был использован для инъекции в параспинальные горячие точки воспаления на уровне следующих позвонков: С6, Т2, Т4, Т12, L1, L2, L4 и L5. Инъекция в правую область С6 вызывала сильную боль во время инъекции и в течение нескольких минут после инъекции. После инъекции в другие параспинальные области наблюдался небольшой дискомфорт. Для этих целей использовали две трети от 100 млн клеток, а остальные неиспользованные 33 млн клеток добавляли в шприц, содержащий 50 млн клеток. Полученные таким образом 83 млн клеток вводили после стерилизации и интратекальной анестезии посредством люмбальной пункции.

Лазерное сканирование проводили по всей области ствола головного мозга, шейного отдела позвоночника и верхней части грудного отдела позвоночника путем медленного охвата дорсальной части сверху вниз, а затем снизу вверх по всей этой инзоне, приблизительно со скоростью 1-2 см/с, в общей сложности 8 м. Люмбальная пункция и подача лазерного луча переносились пациенткой без каких-либо значимых побочных эффектов.

Результаты: Приблизительно через 10 мин после проведения этого протокола, неврологический статус пациентки снова оценивали и наблюдали уже заметное улучшение состояния. Ее речь была уже более громкой и отчетливой, и она могла лучше регулировать движения языком и протрузию. В частности, она продемонстрировала и отметила улучшение артикуляции и уже была способна гораздо лучше выговаривать и различать буквы "m" и "n". Сила ее правой руки повышалась и почти была равна силе левой руки. Фаза релаксации для рефлекса сгибания правой лодыжки была менее замедленной.

Была начата программа по регуляции метаболизма, заключающаяся в удалении избыточных уровней свинца и ртути.

Самочувствие пациентки постоянно улучшалось в течение 6 недель, при этом в другом цикле лечения наблюдалось снижение содержания металлов.

Исследование заболевания 7. Лазерная терапия стволовыми клетками для регенерации хряща.

Пациентка: У 73-летней белой женщины было повреждено правое колено при аварии на байдарках, и у нее имелось несколько небольших разрывов в медиальной части мениска. Она испытывала боль и ограничение движения в течение нескольких месяцев до начала лечения. Осмотр колена показал его полную подвижность, небольшую мягкую болезненность при пальпации медиальной области надколенной чашечки и слабое похрустывание. При этом выпоты отсутствовали, а нейрососудистая система и связки оставались неповрежденными.

Процедура: 30 мл жира, взятого из медиальных областей бедра, собирали, а затем обрабатывали с получением концентрата мезенхимальных стволовых клеток, происходящих от жировой ткани. Затем брали приблизительно 60 мл периферической крови и обрабатывали ее для концентрирования стволовых клеток, как описано в примере 2. Затем приготавливали три контейнера с мезенхимальными жировыми клетками и два контейнера со стволовыми клетками периферической крови по 6-8 мл в каждом.

Лазер с конфигурацией лазерного луча на 674 нм был модулирован по частоте 10 МГц, а затем этот луч проходил через 5× расширитель пучка и был совмещен по фазе с помощью устройства SONG, работающего на 1,36-0,52 мВт. Контейнеры были обработаны лазером путем медленного их поворачивания в передней части луча и их перемещения вверх и вниз, где каждый контейнер с мезенхимальными клетками, полученными из жировой ткани, обрабатывали 3 мин, а каждый контейнер со стволовыми клетками периферической крови обрабатывали 2 мин.

После стерильного приготовления хирургической обработки и местной анестезии в правое колено вводили указанные ниже клетки в следующей последовательности:

7 мл мезенхимальных стволовых клеток, происходящих от жировой ткани (МСК);

7 мл стволовых клеток периферической крови (СКПК);

7 мл МСК;

7 мл СКПК;

7 мл МСК.

Для обработки правой передней стороны колена был применен лазер с медленной разверткой, который перемещали из стороны в сторону, а также вверх и вниз по нижней половине колена приблизительно при скорости 1 см/с в течение 5 мин. Эта процедура хорошо переносилась пациенткой, и в течение 1 ч после процедуры она не чувствовала какого-либо дискомфорта в правом колене.

Весь этот процесс повторяли еще два раза с интервалом в один месяц в общей сложности в три сеанса. Все процедуры хорошо переносились пациенткой без каких-либо значительных побочных эффектов.

Результаты: Через четыре месяца после последней процедуры пациентка обычно не ощущала боли

и лишь изредка ощущала дискомфорт из-за нагрузки массы тела. Обследование пациентки показало отсутствие болезненности при пальпации, а похрустывание сводилось к минимуму. Последующее МРТ-сканирование показало, что большинство разрывов в медиальной части мениска были полностью устранены, за исключением лишь нескольких минимальных остаточных дефектов, которые не рассматривались как клинически значимые.

Исследование заболевания 8. Лазерная терапия стволовыми клетками для лечения травмы спинного мозга.

Пациент: Мужчина среднего возраста, бывший шеф полиции. Пациент получил травму верхней грудной клетки в инциденте, в результате чего у него наблюдалось отсутствие двигательной функции или чувствительности ниже верхнего отдела спины.

Лечение и результаты.

Первый курс лечения проводили приблизительно через 7 месяцев после травмы.

Стойкая, неизлечимая крестцовая язва, наблюдаемая три месяца, была полностью излечена за десять дней лечения.

Было отмечено частичное возвращение эректильной функции.

Более чем через 6 недель отмечалось улучшение чувствительности позвоночника на уровне 15 см ниже грудной клетки и спины.

Во время 2-го курса лечения (через 6 недель после первого) у пациента появилась чувствительность в животе и в ногах, и он ощущал IV-введение иглы в ногу.

Две недели спустя он начал шевелить пальцами ног при стимуляции подошвы.

Исследование заболевания 9. Лазерная обработка стволовыми клетками для лечения инсульта.

Пациент: Мужчина среднего возраста с диабетом. Шесть лет назад у пациента был диагностирован инсульт с синдромом "когтистой лапы" и онемение правой руки и плотное онемение правой руки, и это состояние не улучшилось в течение нескольких лет. 30 лет назад он также получил травму позвоночника в области T4, и с тех пор никаких изменений не наблюдалось, но затем появились осложнения в виде болей/спазм.

Лечение и результаты.

Во время 1-часового лечения у пациента появилась подвижность пальцев с возвращением чувствительности правой руки.

В первый раз за шесть лет в течение 2 ч ему проигрывали "Лунную сонату".

Через 24 ч функция правой руки восстановилась почти полностью, а уровень чувствительности позвоночника улучшился на 3-5 см спереди и сзади.

В первые же 24 ч лечения болезненные спазмы мышц значительно снизились.

Через 6 недель уровень чувствительности позвоночника заметно улучшился до нижней части спины.

Исследование заболевания 10. Лазерная обработка стволовыми клетками для улучшения сердечной функции.

Большие ожидания и надежды, связанные с проведением терапии стволовыми клетками, продиктованы возможностью восстановления структуры и функции сердца, а не просто устранения симптомов, которые со временем "берут реванш", т.е. имеют тенденцию к возвращению, и такое лечение можно назвать "проигранной битвой".

Хотя существует множество причин возникновения сердечной недостаточности различных типов, однако наиболее распространенной причиной является повреждение мышцы в результате ишемической болезни сердца и гипертензии. Ишемия означает недостаточное кровоснабжение сердца обычно из-за сужения коронарных артерий, хотя иногда ишемические повреждения могут вызываться спазмами сосудов, даже если артерии имеют нормальный размер. Гипертензия оказывает механическую нагрузку на стенки сердца, что может перегружать мышцы и приводить к потере функции. После потери клеток сердечной мышцы и связанной с этим сократительной силы такая потеря сократительной силы становится постоянной. По мере ослабления сердечного насоса сердечные камеры расширяются и процент крови, выбрасываемый сердцем с каждым ударом, снижается. Чем больше расширение камер и чем ниже процент выбрасываемой крови, тем более серьезными становятся клинические симптомы.

Большая привлекательность терапии стволовыми клетками является хорошей перспективой с точки зрения восстановления клеточной структуры и механической способности самой сердечной мышцы. Несмотря на большие ожидания, результаты клинических исследований в основном оказались неутешительными. Мета-анализ представляет собой анализ, который позволяет объединить результаты нескольких опубликованных клинических испытаний, удовлетворяющих критериям включения. В качестве компаратора инноваций недавно был проведен мета-анализ исследований, в которых использовали катетеризацию сердца для инфузии стволовых клеток непосредственно в артерии или сердечную мышцу, и в таком анализе, специалисты столкнулись с определенными проблемами. Главная проблема состоит в том, что при терапии стволовыми клетками возникает вопрос, могут ли стволовые клетки действительно попадать в ткань, нуждающуюся в репарации. Ответ на вопрос, могут ли полученные клетки доставляться в органе-мишени клетки, был получен при инфузии клеток в коронарные артерии, снабжающие кровью

сердце или поставляющие кровь непосредственно в сердечную мышцу. Даже при прямой инфузии результат, полученный через шесть месяцев, указывал, в среднем, лишь на 2,55%-ное увеличение фракции выброса крови сердцем, что не соответствовало статистической значимости. Учитывая общий уровень сердечной функции для обследуемой группы, такое увеличение общей сердечной функции составляет приблизительно 8%. Хотя некоторые пациенты порадовались улучшению функции сердца и повышению качества жизни, однако общий результат был ниже ожидаемого из-за агрессивности процедуры прямой доставки в сердце.

В приведенных выше объединенных исследованиях были использованы аутологичные клетки костного мозга. Это позволяло решить проблему, связанную с тканевым соответствием, поскольку клетки были получены от того же самого индивидуума, который проходил лечение. При адгезии стволовых клеток на ткани сердца, они могут быть включены как нормальные клетки для ткани этого человека. Тот факт, что результаты не были убедительными, позволяет предположить, что многие клетки не прилипают, не дифференцируются и не приживаются. Без сильного сигнала на адгезию многие клетки могут проходить напрямую через сердце и попадать в общий кровоток.

Новые особенности раскрываемой здесь терапии стволовыми клетками, активированными и наведенными лазером, позволяют преодолеть эти ограничения и сделать эту процедуру менее инвазивной. Такой способ предусматривает предварительную активацию клеток для сообщения им большей адгезивности по отношению к ткани-мишени. Более конкретно, трехмерный сигнал самонаведения подается через ткань для сообщения клеткам способности мигрировать в ткань, где необходимо, и что самое главное, прилипнуть к этой ткани. Этот метод дал обнадеживающие результаты для аутологичных клеток человека или даже для аллогенных клеток, взятых от другого человека.

Новые системы и способы, раскрытые в настоящем изобретении, были применены в одобренном клиническом испытании для оценки безопасности и эффективности этой процедуры при лечении тяжелой сердечной недостаточности в терминальной стадии. В одном из вариантов осуществления изобретения для этих испытаний было отобрано десять пациентов с тяжелой сердечной недостаточностью в терминальной стадии.

Фракция выброса (ФВ) является общим медицинским термином, который используется в качестве общего показателя сердечной функции человека. Этот термин означает количество крови, нагнетаемой левым желудочком сердца при каждом биении. Нормальный человек имеет фракцию выброса в диапазоне от 55 до 70%. Фракция выброса ниже 55% означает наличие некоторых проблем в работе сердца, а фракция выброса менее 40%, как правило, означает в высокой степени недостаточную систолическую активность сердца.

В упомянутом выше клиническом испытании все десять пациентов имели базовые ФВ, равные 25% или ниже, это означает, что в начале процедуры их сердечные функции были сильно нарушены, и у этих пациентов наблюдалась тяжелая сердечная недостаточность.

Процедура: В упомянутом выше клиническом испытании в данной процедуре были использованы экзогенные стволовые клетки, выделенные из крови пупочного канатика и из плаценты. В одном из вариантов осуществления изобретения неактивированные стволовые клетки были активированы путем их обработки лазерным излучением. В одном из вариантов осуществления изобретения лазер с конфигурацией лазерного луча на 674 нм был модулирован по частоте 10 МГц, а затем этот луч проходил через 5× расширитель пучка и был совмещен по фазе с помощью устройства SONG, работающего на 1,80-0,69 мВт. Стволовые клетки в шприце обрабатывали этим лучом в течение 3 мин. Обычному специалисту в данной области будет очевидно, что в некоторых вариантах осуществления изобретения могут быть также использованы модулирующие устройства с различными лазерными характеристиками и конфигурациями.

В одном из вариантов осуществления изобретения стволовые клетки, активированные описанным выше способом, были введены пациентам путем медленного внутривенного вливания в течение 5 мин. После вливания активированных стволовых клеток они были чрескожно введены в сердце с помощью луча, прямо направленного в миокард по передней проекции миокарда от передней стенки грудной клетки в течение 5 мин и по боковой проекции миокарда через боковую стенку грудной клетки в течение 5 мин. Луч был направлен во все эти соответствующие области с медленной разверткой из стороны в сторону, а также вверх и вниз, чтобы покрыть всю область миокарда по обоим этим осям, со скоростью приблизительно 1-2 см/с.

Результаты клинического исследования представлены в табл. 600 на фиг. 6, где указан коэффициент ФВ для всех индивидуумов на различных стадиях заболевания в течение трех месяцев после лечения. Как показано на фиг. 6, в клиническом испытании участвовали десять пациентов (пациент 1, пациент 2, <...>, пациент 9 и пациент 10), и ФВ-данные для пациента 1, пациента 2, 3 пациента, пациента 4, пациента 5, пациента 6, пациента 7, пациента 8, пациента 9 и пациента 10 в различные моменты времени указаны в соответствующих строках 601, 602, 603, 604, 605, 607, 608, 609 и 610 соответственно. Данные ФВ для каждого пациента получали на шести различных стадиях: в столбце 620 приведены базовые данные ФВ (в предварительной стадии лечения); в столбце 630 приведены данные ФВ I (на 3-й день после лечения); в столбце 640 приведены данные ФВ II (на 7-й день после лечения); в столбце 650 приведены дан-

ные ФВ III (через 30 дней после лечения); в столбце 660 приведены данные ФВ IV (через 60 дней после лечения); и в столбце 670 приведены данные ФВ V (через 90 дней после лечения). Как показано в таблице на фиг. 6, у всех пациентов наблюдалось значительное улучшение состояния, причем у 20% пациентов (пациента 2 и пациента 3) наблюдалась почти нормальная ФВ через три месяца после лечения. Далее, как показано на фиг. 6, у всех пациентов наблюдалось статистически значимое улучшение показателя ФВ, как подробно описано ниже:

- пациент 1 - коэффициент ФВ повысился с 20 до 32% за три месяца;
- пациент 2 - коэффициент ФВ повысился с 25 до 44% за три месяца;
- пациент 3 - коэффициент ФВ повысился с 20 до 43% за три месяца;
- пациент 4 - коэффициент ФВ повысился с 23 до приблизительно 28-29% за три месяца;
- пациент 5 - коэффициент ФВ повысился с 20 до 27% за три месяца;
- пациент 6 - коэффициент ФВ улучшилась с 20 до 28% за три месяца;
- пациент 7 - коэффициент ФВ повысился с 20 до 23% за три месяца;
- пациент 8 - коэффициент ФВ повысился с 23 до 32% за три месяца;
- пациент 9 - коэффициент ФВ повысился с 20 до 25% за три месяца;
- пациент 10 - коэффициент ФВ повысился с 22 до 25% за три месяца.

На графике на фиг. 7 указан коэффициент ФВ, зарегистрированный у пациентов при проведении клинических испытаний в различные промежутки времени в течение 90 дней после имплантации стволовых клеток для лечения сердечной недостаточности в терминальной стадии. На линейном графике 700 по оси X 780 указано время скрининга, а по оси Y 790 указано значение ФВ. Время скрининга, за которое проводили измерения фактических значений ФВ, показаны как 720 (базовый уровень или уровень на предварительной стадии лечения); 730 (через 3 дня после лечения), 740 (через 7 дней после лечения), 750 (через 30 дней после лечения), 760 (через 60 дней после лечения) и 770 (через 90 дней после лечения). На линейных графиках 701, 702, 703, 704, 705, 706, 708, 709 и 710 показаны изменения величин ФВ в различные моменты времени для пациента 1, пациента 2, пациента 3, пациента 4, пациента 5, пациента 6, пациента 7, пациента 8, пациента 9 и пациента 10, соответственно.

Пациентом, описанным на линейном графике 701, приведенном на фиг. 700, является тот же пациент, который был описан в строке 601 на фиг. 600, и аналогично, любой пациент, соответствующий линейному графику 70n, приведенному на фиг. 700, является тем же пациентом, который был описан в ряду 60n на фиг. 600, где n равно от 1 до 10 и представляет собой соответствующий номер пациента.

На гистограмме, представленной на фиг. 8, проиллюстрировано суммарное изменение величин ФВ для всех пациентов, участвующих в клинических испытаниях, через 90 дней после лечения. На графике 800 по оси X 880 указаны данные для десяти пациентов, участвовавших в клиническом исследовании, и эти данные представлены как 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809 и 810 соответственно, а по оси Y 890 проиллюстрировано суммарное изменение величин ФВ для каждого пациента через 90 дней после лечения. Пациентом 801, описанным на фиг. 800, является тот же пациент, который был описан в строке 601, приведенной на фиг. 600, и аналогично, любой пациент, обозначенный 80n на фиг. 800, является тем же пациентом, который был описан в ряду 60n на фиг. 600, где n равно от 1 до 10 и представляет собой соответствующий номер пациента. Длина столбца, соответствующая каждому пациенту, представляет абсолютное изменение величин ФВ, регистрируемое в начале лечения и через 90 дней после лечения. На графике 800 показано значительное изменение величин ФВ для всех пациентов, где минимальное изменение величин ФВ составляло 3% для пациента 7 и пациента 10, а максимальное изменение величин ФВ составляло 23% для пациента 3.

Для того чтобы подчеркнуть всю глубину результатов этих клинических исследований, может быть использован сравнительный индекс регенерации сердца (CRI), определенный как процент (%) улучшения сердечной функции, деленный на время (на дни или другие интервалы времени) после лечения. По предположению априори, клетки, введенные внутривенно, будут иметь приблизительно 10% вероятность того, что они достигнут миокарда посредством случайного попадания в кровоток после инфузии. Ожидаемый CRI будет по меньшей мере в 10 раз выше для клеток, вводимых путем катетеризации сердца, по сравнению с клетками, вводимыми внутривенно.

Для прямой инфузии стволовых клеток или инъекций непосредственно в сердце в указанном крупномасштабном мета-анализе CRI составлял 2,55%/180 дней или 0,014% в день. В противоположность этому, стволовые клетки, вводимые внутривенно путем лазерного наведения, давали результат CRI 14,3%/3 дня или 4,77% в день. Этот индекс репарации сердца при применении лазерного метода неожиданно достигался в 300 раз быстрее, чем при введении клеток вовнутрь сердца, которое является более инвазивным, опасным и дорогостоящим. После этого клинического испытания, у группы пациентов наблюдалось в среднем 50% улучшение функции сердца. Приблизительно 50% пациентов были исключены из списка по пересадке сердца. Приблизительно у 20% пациентов состояние улучшалось почти до нормального. В вышеописанном клиническом испытании, проведенном с применением стволовых клеток, был впервые получен самый быстрый и самый лучший результат.

Из приведенных выше клинических результатов можно сделать вывод, что описанные здесь способ и система, используемые в процедурах доставки стволовых клеток в сердце, являются значительно более

эффективными, чем способы и системы, используемые в инвазивной процедуре катетеризации.

Полная программа доставки стволовых клеток включает не только доставку терапевтических клеток, которые были активированы и доставлены в нужный участок, но также и доставку в систему питательного и метаболического носителя для наилучшей физиологической репарации. Программа и носитель могут быть индивидуально подобраны для каждого пациента с учетом ситуации в соответствии со следующими общими принципами. При этом важно знать биохимические характеристики для поддержания данной системы и выбрать такие питательные вещества и метаболические кофакторы, которые будут лучше всего подходить для создания и баланса этой системы. Лекарственные средства продолжают вводиться без изменений до тех пор, пока у человека не будут наблюдаться физиологические изменения, которые позволят скорректировать схему лечения. После необходимого периода наблюдения, обычно по меньшей мере 2-3 месяца, человека снова обследуют, и программа может быть скорректирована, в зависимости от ответа.

В некоторых вариантах осуществления изобретения пациентам также вводят обработанные лазером питательные вещества, в состав которых входят свободные аминокислоты. Что касается лиц с ишемической болезнью сердца, то им может быть проведена другая вспомогательная терапия, которая включает введение обработанного лазером препарата, содержащего аргинин. Пациентам с тяжелыми формами заболевания коронарной артерии вводили 1,5 г аргинина вместе с кофакторами два раза в день в течение 1-20 месяцев. Критериям включения удовлетворяли лица, у которых ранее были диагностированы один или более инфарктов миокарда, проявлявшихся рецидивирующей болью в груди при физической нагрузке или во время отдыха или в том и другом случае. Контрольная группа не показала ослабления симптомов в течение 30 дней, тогда как группа, получающая питательную поддерживающую терапию, показала 70-80% ослабление боли в груди, возникающей при напряжения или при покое. При этом наблюдались случаи позитивных тестов с физической нагрузкой, которые наоборот указывали на отсутствие ишемии напряжения. Наибольший интерес, вероятно, представляет то, что контрольная группа показала снижение способности переносить максимальную физическую нагрузку на 10%, а активная лечебная группа показала увеличение этой способности на 60%.

Исследование заболевания 11. Лазерная обработка стволовыми клетками для регенерации структур костных сочленений.

Разрушение и заболевания суставов, хрящей и сухожилий являются одними из наиболее распространенных заболеваний, которые вызывают боль, слабость и снижение качества жизни. Хотя соответствующее питание, легкие упражнения и противовоспалительные лекарственные средства в низких дозах могут принести пользу в более легких случаях, однако прогрессирующая дегенерация этих тканей может приводить к сильной хронической боли, которая может быть устранена только путем хирургической операции или замены указанных структур. Новый подход с использованием стволовых клеток, описанных в настоящем документе, применяется для регенерации сустава и сухожилий связанных структур и приносит большее облегчение с меньшим риском и лучшими функциональными результатами по сравнению с инвазивной хирургией, которая может сделать человека постоянно "зависимым от титанового сустава".

Самая большая проблема, которая возникает при проведении терапии стволовыми клетками, связана с состоянием костной ткани по мере разрушения сустава. После так называемого разрушения суставного хряща, которое приводит к натиранию ткани острыми краями кости, защитная подушка и скольжение исчезают, и, по общему мнению, в данном случае требуется замена сустава. При использовании стволовых клеток в качестве лекарственного средства при такой терапии возникают три главные проблемы. Первая проблема заключается в том, что в хряще наблюдается относительно слабое кровообращение и кровоснабжение сосудов. Это является основным фактором, предрасполагающим к разрушению, в первую очередь к ограничению подачи питательных веществ и клеток для репарации на поверхность сустава. Вторая проблема заключается в том, что хронические воспалительные процессы, приводящие к изнашиванию хряща и к образованию костных шпор, ускоряют тенденцию к дальнейшей потере хряща. После полного удаления хряща с поверхности сустава происходит разрушение кости, которое представляет собой деструктивный процесс, приводящий к попаданию осколков кости в полость сустава и, тем самым, к дальнейшему раздражению тканей и к осложнению заболевания.

Замена сустава, особенно коленного и тазобедренного суставов, стала относительно распространенной операцией. Хотя эта операция может уменьшить боль и улучшить функцию сильно разрушенных суставов и хрящей, однако после такой замены нативных структур чужеродным материалом какого-либо возвращения в прежнее состояние не наблюдается. Любая хирургическая операция может вызывать осложнения, такие как боли, кровотечения и инфекции. Возникновение инфекции может быть особенно катастрофичным и привести к необходимости удаления протеза и к длительной госпитализации с лечением антибиотиками для удаления инфекции из костей, а это может быть затруднено, а в некоторых случаях вообще невозможно. Механическая замена может быть также еще менее желательной, поскольку, несмотря на проведенную операцию, может возникать хроническая остаточная боль. Диапазон движения и функций, хотя и зачастую улучшаются после замены, но все же могут не давать восстановления функции природного сустава, но теперь это становится возможным.

Описанная в настоящем документе терапия стволовыми клетками, активируемыми и направляемыми лазером, в сочетании с пищевой и метаболической поддерживающей терапией, улучшает результат по сравнению с хирургической операцией по восстановлению нормальных функций суставов, хрящей и сухожилий. Хотя процедуры на суставах и сухожилиях часто проводят путем локализованной инъекции в суставную полость и в область сухожилий, однако способность лазерной платформы увеличивать адгезию клеток, необходимую для их репарации, приводит к ослаблению симптомов и к улучшению функциональных результатов, которые достигаются лучше и быстрее, чем это ожидается, только с введением местной инъекции стволовых клеток. Так, например, один пациент, мужчина среднего возраста, который получил семь правосторонних вывихов плеча во время матча по армреслингу, страдал хронической болью и ограничением подвижности в течение 35 лет после получения травмы. После сделанной ему хирургической операции, у него наблюдалось повышение стабильности и ослабление симптомов, но при этом, было отмечено еще большее ограничение двигательной активности. Ему вводили множество инъекций обогащенной тромбоцитами плазмы, но без существенного облегчения состояния. В некоторых вариантах осуществления изобретения с использованием протокола введения аутологичных стволовых клеток, выделенных из крови данного пациента и активированных лазером с последующей IV-инфузией и внутрисуставным введением этих клеток (апостериорный подход) и последующим наведением лазера в суставную и околосуставную ткань, были получены поразительные результаты. Сразу же после наведения лазера на правую плечевую область боль почти полностью исчезла, а его ранее ограниченная двигательная активность нормализовалась.

В другом исследовании заболевания, в котором применяется описанный здесь способ лазерной активации и лазерного наведения, в правом ребре у мужчины среднего возраста ощущалась хроническая боль, которая оценивалась как 8-10 по 10-балльной шкале при нагрузке массы тела после длительного сидения. МРТ-сканирование указывало на потерю суставного хряща, а также на разрыв края или выступа капсулы тазобедренного сустава. В этом случае клетки были введены только внутривенно и направлены лазером в бедро без какой-либо прямой инъекции в сустав. Сразу после лазерного наведения свобода движения повышалась до нормальной и боль исчезала. В ближайшие 2 недели был зарегистрирован только один эпизод слабой боли при вставании после длительного сидения по сравнению с обычной сильной болью, которая появлялась каждый раз в этой ситуации.

При применении описанного здесь способа лазерной активации и лазерного наведения степень повреждения сустава, сухожилия и хряща становилась меньше и имела также тенденцию к хорошей и быстрой реакции на такую лазерную активацию и лазерное наведение. С применением этого способа стволовые клетки вводят внутривенно, но затем они могут быть введены, но необязательно, местно, путем внутрисуставной инъекции, инъекции в околосуставное пространство или инъекции в область прикрепления сухожилия к кости. Описанная здесь лазерная технология, способствующая глубокому проникновению, притягиванию и адгезии стволовых клеток, применяемая к пораженному участку, способствовала рекрутингу клеток в окружающую опорную ткань при одновременном повышении адгезии стволовых клеток к конкретным тканям, что приводило к восстановлению, регенерации и сохранению структур и функций.

Суставный хрящ, кости, сухожилия, связки и другие соединительные ткани являются сложными структурными и биохимическими системами, а поэтому для оптимальной репарации и восстановления их функций им требуется множество поддерживающих питательных веществ. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапия стволовыми клетками, активируемыми и направляемыми лазером, проводится в комбинации с индивидуализированными протоколами приема питательных веществ, для поддержания ускоренного восстановления. Так, например, в случае боли и воспаления при дегенеративном артрите клинически подтвержденный препарат FLEX JC был эффективным для ослабления боли у 80% людей и устранения наблюдаемого на рентгенограмме воспаления у 85% пациентов уже в течение одного месяца, что было значительно более эффективно, чем у необработанной контрольной группы.

При лечении данного скелетно-мышечного заболевания рекомендуется лечебная программа приема питательных препаратов для улучшения метаболизма. Затем был определен оптимальный источник и способ доставки клеток. В большинстве случаев это были просто аутологичные клетки крови для репарации, хотя в некоторых вариантах осуществления изобретения могут быть также использованы аутологичные мезенхимальные жировые или аллогенные клетки. После такого лечения улучшение могло наблюдаться уже через три или более месяцев, и в это время было проведено обследование для того, чтобы определить, является ли такое заживление полным или пациент нуждается в проведении какого-либо дополнительного курса лечения или вспомогательного лечения по протоколу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, хотя значительные улучшения были достигнуты через 24 ч с использованием аутологичных стволовых клеток, происходящих от жировой ткани или костного мозга, или аллогенных стволовых клеток, происходящих из крови пупочного канатика, однако наиболее перспективным источником является свежая аутологичная кровь. Системы и способы, описанные в настоящем документе, позволяют стимулировать небольшую часть "дремлющих" клеток в кровотоке, подвергаемых репарации, а поэтому эти клетки представляют собой готовый источник идеально подобранных клеток. После активации *in vitro* исследования показали, что эти репарированные клетки

могут становиться хрящевыми клетками, клетками кости и клетками сухожилий и фактически любой другой клеточной линией организма, в зависимости от их клеточного окружения. Эти клетки, если они находятся в "спящем" состоянии, сохраняют длину теломера, как у новорожденных. Этот источник аутологичных клеток является не только менее инвазивным, чем клетки жировой ткани или костного мозга человека, но также и более надежным из всех этих источников, особенно если пациентом является пожилой человек.

Стволовые клетки, наводимые лазером для лечения диабета.

В одном варианте осуществления изобретения системы и способы, раскрытые в настоящем изобретении, применяются для лечения диабета. Диабет и метаболический синдром достигают масштабов эпидемии в развитых странах мира, а также в развивающихся странах, где их распространенность по всему миру возрастает с быстротой эха. О масштабах проблемы говорит то, что США в 2012 году насчитывалось 29,1 млн взрослых, и из них около 9,3% населения страдает диабетом типа 2. При этом 1,25 млн детей и взрослых также страдают диабетом типа 1. Ориентировочная стоимость лечения диагностированного диабета в 2012 году составила 245 млрд долларов США, причем, прямые затраты составили 176 млрд долларов, а 69 млрд долларов составили затраты на убытки из-за снижения производительности труда.

Хотя ранее стволовые клетки показали обнадеживающие результаты в отношении снижения тяжести осложнений диабета, однако система и способы, раскрытые в настоящем описании, дают многообещающие результаты при использовании стволовых клеток для лечения фактического диабетического состояния. В одном из вариантов осуществления изобретения системы и способы, раскрытые в настоящем описании, применяются для стимуляции "дремлющих" клеток крови, нуждающихся в репарации, так, чтобы эти клетки стали в высокой степени функциональными и имели жизнеспособность молодых стволовых клеток. В одном из вариантов осуществления изобретения стволовые клетки используются для улучшения функции поджелудочной железы, что будет способствовать обратному развитию диабета типа 2. Вместо требуемой инвазивной и потенциально опасной ангиографической локализации и вливания стволовых клеток в полость поджелудочной железы через подвздошную артерию для проведения описанного в настоящем документе способа лазерной активации и лазерного наведения необходимо только внутривенное введение. Стволовые клетки направляют в поджелудочную железу с помощью луча низкой энергии, который является безопасным при его прохождении через кожу. В некоторых вариантах осуществления изобретения сигнал лазерного наведения используется для притягивания стволовых клеток к ткани в конкретной области, нуждающейся в терапии. Лазерный сигнал также стимулирует стволовые клетки и повышает уровень их активности и адгезивность, которые поддерживают их интеграцию в месте подачи сигнала. В другом варианте осуществления изобретения ткани, подверженные осложнению диабета, такие как ткани глаз, сердца и почек, также обрабатывают путем доставки репаративных стволовых клеток в такие ткани посредством лазерного луча. В некоторых вариантах осуществления изобретения мощность лазерного сигнала является невысокой так, чтобы он не нагревал и не повреждал ткань. В одном варианте осуществления изобретения лазерный сигнал на длине волны 674 нм используется так, чтобы индивидуальная энергия фотона была значительно ниже уровня, который может приводить к ионизации. В некоторых вариантах осуществления изобретения длина волны и относительная энергетическая плотность лазерных лучей находятся на уровне, который принят специалистами FDA, США, как безопасный.

В одном из вариантов осуществления изобретения в отдельных случаях терапия стволовыми клетками, активированными и наведенными лазером, как описано в настоящем документе, применяется вместе с импульсной внутривенной инсулинотерапией (PIVIT) для лечения диабета. Протокол проведения импульсной внутривенной инсулинотерапии (PIVIT) включает импульсные инфузии инсулина, откалиброванного по массе тела, в течение нескольких сеансов внутривенного вливания. Этот процесс имитирует физиологические импульсы инсулина у здорового индивидуума, которые достигают печени через воротный кровоток из поджелудочной железы после потребления углевод-содержащей пищи. Эти импульсы восстанавливают и рекалибруют функцию печени, что приводит к улучшению реакции организма на инсулин и на снижение резистентности к инсулину. Для лечения диабета типа 2 после серии из 10-12 сеансов в течение нескольких недель чувствительность к инсулину значительно увеличивается, что приводит к снижению уровня сахара в крови и к снижению потребности в приеме лекарственных средств. При сахарном диабете типа 1 еженедельные сеансы давали положительные результаты в клинических исследованиях со значительным снижением риска хронических осложнений ретинопатии, периферической невропатии и нефропатии.

В некоторых вариантах осуществления изобретения используют целевые пищевые добавки, которые способствуют улучшению результатов. Было показано, что активированный лазером препарат, содержащий L-карнитин и ацетил-L-карнитин, снижает массу тела приблизительно на 6 фунтов (2,7 кг) в течение месяца при приеме только этого препарата или на 10 фунтов (4,5 кг) в месяц, если прием этого средства сочетать с ежедневной быстрой ходьбой в течение 30 мин. Среднее потребление калорий также снижается на 300 калорий в день. Было показано, что эти питательные вещества снижают негативные эффекты, связанные с гипергликемией ткани, ассоциированной с увеличением количества сахара в ткани

(где сахара являются химически связанными, там, где этого быть не должно), которое является главной причиной хронической патологии ткани. Хорошо известно, что снижение веса при диабете типа 2 может снижать уровень сахара в крови и регулировать его количество вплоть до клинической ремиссии.

При диабете типа 1 наблюдается абсолютный дефицит инсулина из-за потери бета-клеток в поджелудочной железе, но не из-за резистентности к инсулину. В некоторых вариантах осуществления изобретения системы и способы согласно изобретению применяют для лечения диабета типа 1. Аутологичные стволовые клетки различных типов влияют на модуляцию и баланс иммунной системы. Такое лечение в настоящее время исследуется с точки зрения снижения интенсивности и осложнений основных аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит. Описанное выше применение стволовых клеток позволяет ограничить или снизить вероятность аутоиммунного ответа при диабете типа 1, который селективно разрушает инсулин-секретирующие бета-клетки поджелудочной железы. В одном из вариантов осуществления изобретения описанный в настоящем документе способ лазерной активации и лазерного наведения применяется для безопасной и эффективной замены утраченных бета-клеток путем доставки активированных лазером стволовых клеток в поджелудочную железу для увеличения ее объема и улучшения ее функций.

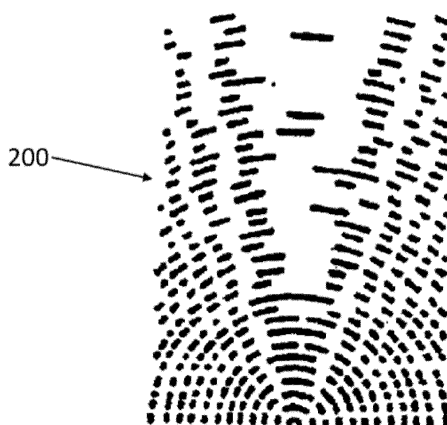
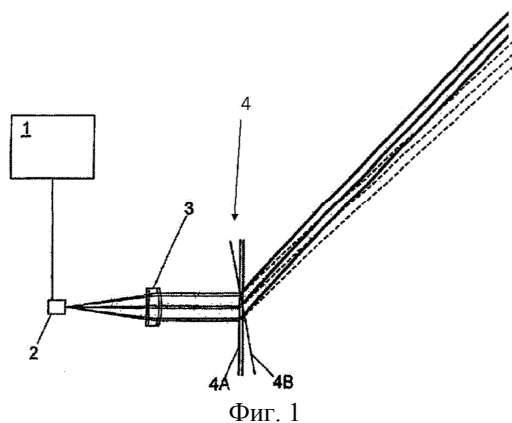
Приведенные выше примеры приводятся лишь для иллюстрации множества применений системы согласно изобретению. Хотя в настоящем описании приводится лишь несколько вариантов осуществления изобретения, однако совершенно очевидно, что в настоящем изобретении могут быть использованы и многие другие конкретные формы, не выходящие за рамки существа и объема изобретения. Следовательно, описанные здесь примеры и варианты осуществления изобретения должны рассматриваться как иллюстративные, а не ограничительные, и в настоящее изобретение могут быть внесены изменения, не выходящие за рамки объема прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ репарации поврежденной биологической ткани, включающий получение неактивированных стволовых клеток; образование активированных стволовых клеток из неактивированных стволовых клеток путем обработки стволовых клеток лазерным лучом; введение активированных стволовых клеток в организм, содержащий биологическую ткань; и чрескожную подачу самонаводящегося когерентного лазерного луча по меньшей мере по одной оси так, чтобы этот самонаводящийся когерентный лазерный луч взаимодействовал с указанной поврежденной биологической тканью.
2. Способ по п.1, где самонаводящийся когерентный лазерный луч генерируют с затуханием фазы на 20-90%.
3. Способ по п.1, где неактивированные стволовые клетки собирают из аутологичного источника, включающего по меньшей мере периферическую кровь, костный мозг или жир.
4. Способ по п.1, где неактивированные стволовые клетки собирают из экзогенного источника, включающего по меньшей мере кровь пупочного канатика и плаценту пациента.
5. Способ по п.1, где неактивированные стволовые клетки берут у генетически совместимого донора стволовых клеток.
6. Способ по п.1, где предварительно заданная длина волны составляет от 405 до 980 нм.
7. Способ по п.1, где лазерный луч имеет длину волны 674 нм.
8. Способ по п.1, где лазерный луч включает серию импульсов малой длительности в субфемтодиапазоне второй генерации.
9. Способ по п.1, где перед обработкой неактивированных стволовых клеток лазерный луч расширяют в пределах от двух до семи раз путем его пропускания через расширитель пучка.
10. Способ по п.1, где перед обработкой неактивированных стволовых клеток лазерный луч пропускают через генератор узлов Страхана-Овокейта.
11. Способ по п.1, где затухание фазы лазерного луча корректируют для достижения предварительно заданной выходной мощности до обработки неактивированных стволовых клеток.
12. Способ по п.1, где обработка неактивированных стволовых клеток включает наведение модулированного по амплитуде лазерного луча на контейнер, содержащий неактивированные стволовые клетки, так, чтобы контейнер вращался и одновременно перемещался вверх и вниз в вертикальном положении в течение всего процесса активации.
13. Способ по п.11, где контейнер вращают со скоростью в один полный оборот в каждые 3-5 с и одновременно перемещают вверх и вниз в течение 15 с в каждом направлении.
14. Способ по п.1, где по сравнению с неактивированными стволовыми клетками активированные стволовые клетки обнаруживают по меньшей мере одно из таких свойств, как повышение уровня экспрессии альфа- или бета-интегрина, повышение уровня CD34 или усиленная миграция в направлении самонаводящегося когерентного лазерного луча.
15. Способ по п.1, где биологической тканью является по меньшей мере одна из таких тканей, как

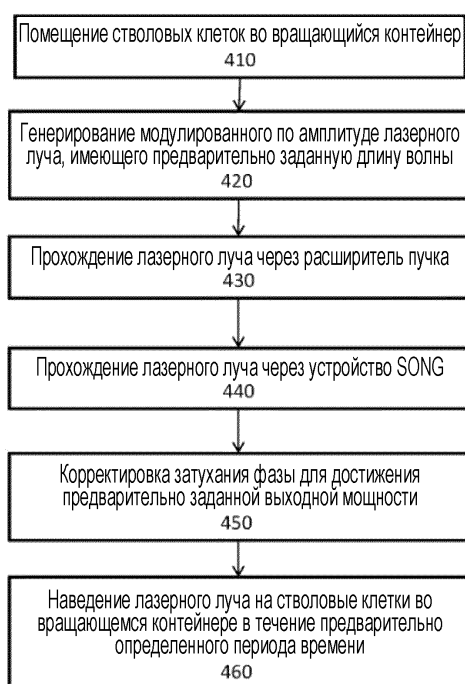
ткань миокарда, ткань легких, почечная ткань, кровеносные сосуды, клетки иммунной системы, костная ткань, зубы, ткань печени, эндокринные ткани, ткань гипофиза, ткань тимуса, межпозвоночные диски, ткань головного мозга, ткань позвоночника, ткань поджелудочной железы и нервная ткань.

16. Способ лечения поврежденной ткани сердца у пациента, включающий
 получение неактивированных стволовых клеток;
 образование активированных стволовых клеток из неактивированных стволовых клеток путем обработки стволовых клеток лазерным лучом;
 внутривенное введение активированных стволовых клеток пациенту;
 чрескожную подачу самонаводящегося лазерного луча по меньшей мере по одной оси так, чтобы этот самонаводящийся лазерный луч взаимодействовал с указанной тканью сердца.
17. Способ по п.1, где самонаводящийся лазерный луч генерируют с затуханием фазы на 20-90%.
18. Способ лечения неврологического расстройства у пациента, включающий
 получение неактивированных стволовых клеток;
 образование активированных стволовых клеток из неактивированных стволовых клеток путем обработки стволовых клеток лазерным лучом;
 внутривенное введение активированных стволовых клеток пациенту;
 чрескожную подачу самонаводящегося когерентного лазерного луча по меньшей мере по одной оси так, чтобы этот самонаводящийся когерентный лазерный луч взаимодействовал с тканью головного мозга и/или с тканью спинного мозга у пациента.
19. Способ по п.18, где самонаводящийся когерентный лазерный луч охватывает всю указанную ткань спинного мозга и всю указанную ткань головного мозга.
20. Способ по п.1, где самонаводящийся когерентный лазерный луч генерируют с затуханием фазы на 20-90%.





Фиг. 3



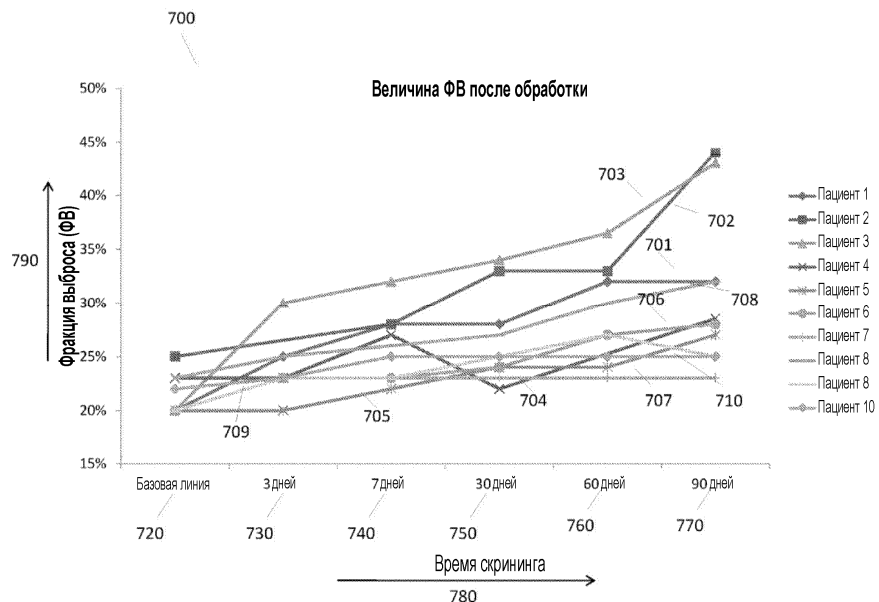
Фиг. 4



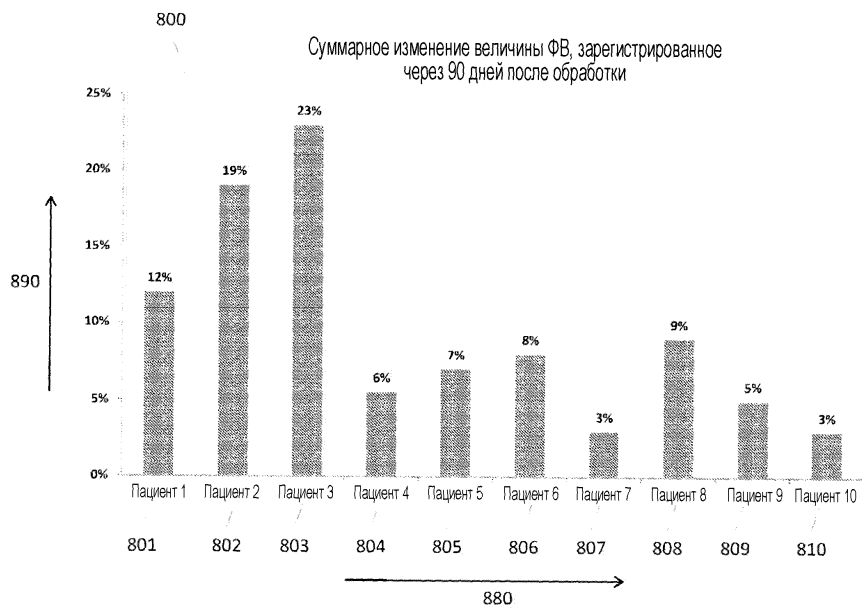
Фиг. 5

Список пациентов	Базовая ФВ	Скрининг ФВ I (3 дня)	Скрининг ФВ II (7 дней)	Скрининг ФВ III (30 дней)	Скрининг ФВ IV (80 дней)	Скрининг ФВ V (90 дней)
Пациент 1	20%	25%	28%	28%	32%	32%
Пациент 2	25%	-	28%	33%	33%	44%
Пациент 3	20%	30%	32%	34%	36-37%	43%
Пациент 4	23%	23%	27%	22%	-	28-29%
Пациент 5	20%	20%	22%	24%	24%	27%
Пациент 6	20%	23%	23%	24%	27%	28%
Пациент 7	20%	23%	23%	23%	23%	23%
Пациент 8	23%	25%	28%	27%	30%	32%
Пациент 9	20%	23%	23%	25%	27%	25%
Пациент 10	22%	23%	25%	25%	25%	25%

Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8