

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-9-618-623>

УДК 577.344

© Коллектив авторов, 2020

Жукова Е.С.¹, Щербатюк Т.Г.^{1,2,3}, Потапов А.А.⁴, Чернигина И.А.⁴, Чернов В.В.⁵, Гапеев А.Б.^{3,6}**Исследование эффектов фотобиомодуляции фиолетово-синим и красным светом в условиях экспериментального онкогенеза**¹Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и пропатологии Роспотребнадзора, ул. Семашко, 20, Нижний Новгород, Россия, 603005;²Пушкинский государственный естественно-научный институт Минобрнауки России, пр-т Науки, 3, г. Пушкино Московской обл., Россия, 142290;³Московский государственный областной университет, ул. Веры Волошиной, 24, г. Мытищи, Россия, 141014;⁴Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Нижний Новгород, Россия, 603005;⁵Институт прикладной физики РАН, ул. Ульянова, 46, Нижний Новгород, Россия, 603950;⁶Институт биофизики клетки РАН — обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», ул. Институтская, 3, Пушкино, Россия, 142290

До сих пор остается открытым вопрос о границах медицинского применения низкоинтенсивного электромагнитного излучения оптического диапазона при опухолевом росте в связи с риском усиления пролиферации опухолевых клеток. Условия, при которых происходит стимулирование опухолевого процесса, а также механизмы фотобиомодуляции при онкологической патологии остаются неясными.

Цель исследования — *in vitro* оценка и сравнение действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения с длинами волн 400, 460 и 660 нм на активность свободнорадикальных процессов в опухолевой ткани и крови в норме и в условиях роста экспериментальной неоплазии.

Исследование проведено на биологическом материале, полученном от белых нелинейных крыс интактных и с подкожно трансплантированным холангиоцеллюлярным раком РС-1. Источниками низкоинтенсивного излучения с длинами волн 400, 460 и 660 нм служили светодиодные генераторы. Исследованы содержание гемоглобина, активность супероксиддисмутазы и каталазы, изменение общего уровня свободнорадикальных процессов и антиоксидантной активности методом индуцированной хемилюминесценции, повреждение ДНК — методом ДНК-комет. Анализ данных проводился с использованием методов непараметрической статистики. Обнаружено разнонаправленное действие излучения с длинами волн 400, 460 и 660 нм на показатели свободнорадикального гомеостаза на ранних и поздних стадиях роста опухоли, а также зависимость биологических эффектов от длины волны излучения. Полученные результаты позволяют сделать ряд предположений о механизмах действия исследуемых электромагнитных волн при опухолевом росте, модулирующих свободнорадикальные процессы в организме опухоленосителя.

Ключевые слова: экспериментальная онкология; холангиоцеллюлярный рак; фотобиомодуляция; электромагнитное излучение оптического диапазона; гемоглобин; супероксиддисмутаза; каталаза; повреждение ДНК

Для цитирования: Жукова Е.С., Щербатюк Т.Г., Потапов А.А., Чернигина И.А., Чернов В.В., Гапеев А.Б. Исследование эффектов фотобиомодуляции фиолетово-синим и красным светом в условиях экспериментального онкогенеза. *Мед. труда и пром. экол.* 2020; 60(9). <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-9-618-623>

Для корреспонденции: Жукова Евгения Сергеевна, мл. науч. сотр. отдела медико-профилактических технологий управления рисками общественному здоровью ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и пропатологии» Роспотребнадзора. E-mail: medprof_otd@nniigr.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-02-00667).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 15.06.2020 / Дата принятия к печати: 12.08.2020 / Дата публикации: 07.10.2020

Evgeniya S. Zhukova¹, Tatiana G. Shcherbatyuk^{1,2,3}, Arseniy L. Potapov⁴, Irina A. Chernigina⁴, Vladimir V. Chernov⁵, Andrew B. Gapeyev^{3,6}**Study of photobiomodulation effects with violet-blue and red light in experimental oncogenesis**¹Nizhny Novgorod Research Institute for Hygiene and Occupational Pathology, 20, Semashko Str., Nizhny Novgorod, Russia, 603005;²Pushchino State Institute of Natural Science, 3, Nauki Ave., Pushchino, Moscow region, Russia, 142290;³Moscow Region State University, 24, Vera Voloshina Str., Mytishchi, Moscow Region, Russia, 141014;⁴Privolzhsky Research Medical University, 10/1, Minina and Pozharskogo Square, Nizhny Novgorod, Russia, 603005;⁵Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences, 46, Ul'yanov Str., Nizhny Novgorod, Russia, 603950;⁶Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, 3, Institutskaya Str., Pushchino, Moscow Region, Russia, 142290

Introduction. There is still an open question about the limits of medical use of low-intensity electromagnetic radiation of the optical range in tumor growth due to the risk of increased proliferation of tumor cells. The conditions under which the tumor process is stimulated, as well as the mechanisms of photobiomodulation in oncological pathology, remain unclear.

The aim of the study — *in vitro* evaluation and comparison of the effect of low-intensity electromagnetic radiation with wavelengths of 400, 460 and 660 nm on the activity of free-radical processes in tumor tissue and blood in normal and growing experimental neoplasia.

Materials and methods. The study was conducted on biological material obtained from white non-linear rats intact and with subcutaneously transplanted cholangiocellular cancer MS-1. The sources of low-intensity radiation with wavelengths of 400, 460 and 660 nm were led generators. The content of hemoglobin, the activity of superoxide dismutase and catalase, changes in the overall level of free radical processes and antioxidant activity by induced chemiluminescence, and DNA damage by the method of DNA comets were studied. Data analysis was performed using nonparametric statistics methods.

Results. The multidirectional effect of radiation with wavelengths of 400, 460 and 660 nm on free-radical homeostasis indicators at the early and late stages of tumor growth, as well as the dependence of biological effects on the wavelength of radiation, was found.

Conclusions. The results obtained allow making a number of assumptions about the mechanisms of action of the optical electromagnetic waves on tumor growth, modulating free radical processes in the tumor-bearing organism.

Key words: experimental oncology; cholangiocellular cancer; photobiomodulation; optical radiation; hemoglobin; superoxide dismutase; catalase; DNA damage

For citation: Zhukova E.S., Shcherbatyuk T.G., Potapov A.L., Chernigina I.A., Chernov V.V., Gapeyev A.B. Study of photobiomodulation effects with violet-blue and red light in experimental oncogenesis. *Med. truda i prom. ekol.* 2020; 60(9). <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-9-618-623>

For correspondence: Evgeniya S. Zhukova, junior researcher of the department of medical and preventive technologies of managing public health risks, Nizhny Novgorod Research Institute of Hygiene and Occupational Pathology. E-mail: medprof_otd@nniigp.ru

Information about authors:

Zhukova E.S. <https://orcid.org/0000-0002-9016-2390> Shcherbatyuk T.G. <https://orcid.org/0000-0003-1144-8006>

Potapov A.L. <https://orcid.org/0000-0003-4343-2500> Chernigina I.A. <https://orcid.org/0000-0002-8300-196X>

Chernov V.V. <https://orcid.org/0000-0002-0871-5954> Gapeyev A.B. <https://orcid.org/0000-0001-9149-0591>

Funding. The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 19-02-00667).

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 15.06.2020 / Accepted: 12.08.2020 / Published: 07.10.2020

По данным ВОЗ, причиной более 70% случаев смертей в мире являются хронические неинфекционные заболевания, среди которых на первый план выходят злокачественные новообразования (ЗНО) [1], что актуализирует разработки более эффективных, безопасных, доступных, экономически рентабельных и обладающих минимальной ятрогенностью терапевтических методов и корригирующих технологий.

Известно, что процесс инициации и развития опухоли связан с состоянием окислительного стресса¹. Учитывая, что одними из механизмов действия электромагнитных излучений (ЭМИ) являются генерация свободных радикалов и влияние на антиоксидантную систему [2, 3], можно рассматривать перспективы применения ЭМИ в качестве основы для новых подходов в лечении ЗНО. Однако как в ранних экспериментальных работах 70-х годов, так и в современных публикациях [4] показаны случаи интенсификации опухолевого роста при использовании низкоинтенсивного оптического излучения, что является серьезным препятствием применения этого типа ЭМИ в онкологии. Условия, при которых происходит стимуляция роста неоплазии, неясны, так как биология опухолевого роста сложна и до конца не изучена.

Большинство работ по изучению биологических эффектов лазерного излучения было проведено с использованием гелий-неоновых лазеров с длиной волны 633 нм. Главная причина заключается в технической доступности этих источников и в слабом поглощении гемоглобина в этом диапазоне, что обеспечивает достаточно глубокое проникновение света [5]. Считается, что процесс поглощения излучения и последующая фотодиссоциация компонентов биоткани вносит значительный вклад в механизмы действия лазерной терапии за счет образования биологически активных молекул, способных оказывать позитивное влияние на живую ткань [6, 7]. Анализ спектров поглощения гемоглобина и меланина [5], показал, что их пики находятся в фиолетово-синей области спектра и соответствуют 410 ± 10 и 450 ± 10 нм.

Ранее показано, что низкоинтенсивное ЭМИ с длинами волн 460–475 нм вызывает дистрофические и некротические изменения в клетках экспериментальной лимфосаркомы Плисса и приводит к торможению ее роста [8].

Цель исследования — оценка и сравнение действия низкоинтенсивного ЭМИ с длинами волн 400, 460 и 660 нм *in vitro* на активность свободнорадикальных процессов в опухолевой ткани и крови в норме и в условиях роста экспериментальной неоплазии.

В экспериментах использовали половозрелых белых нелинейных крыс, как самцов, так и самок: интактных ($n=10$) и животных с подкожно трансплантированной экспериментальной опухолью на разных сроках роста ($n=13$). В качестве модели неоплазии использовали холангиоцеллюлярный рак РС-1 (РОНЦ им. Н.Н. Блохина, г. Москва). Лабораторные крысы содержались в стандартных условиях вивария *ad libitum*. Животные выводились из эксперимента декапитацией с последующим обезкровливанием. Все манипуляции проводились с соблюдением

этических принципов и рекомендаций^{2,3}.

Исследования проводили на плазме крови и эритроцитах интактных крыс и животных-опухоленосителей (сроки роста неоплазии — 31, 40, 49 и 57 сут); гомогенатах опухолевой ткани.

В качестве источников низкоинтенсивного ЭМИ использовали генераторы на основе излучающих диодов с выходной мощностью 50 мВт, 34,6 мВт и 6,7 мВт для длин волн 400 ± 2 нм, 460 ± 2 нм и 660 ± 2 нм соответственно, разработанные в ФГБНУ «ФИЦ Институт прикладной физики Российской академии наук» (ИПФ РАН) (г. Нижний Новгород).

Воздействие на биологический материал объемом 0,5 мл проводили в полистироловых чашках Петри ($\varnothing 35$ мм) на расстоянии 1 см от поверхности в течение 42, 60 и 310 с для длин волн 400, 460 и 660 нм соответственно, при этом энергетическая экспозиция (доза) для каждой длины волны составляла 0,2 Дж/см².

Оценивали влияние ЭМИ на содержание гемоглобина в эритроцитах гемиглобинцианидным методом, активность эритроцитарных супероксиддисмутазы (СОД) по реакции восстановления нитросинего тетразолия и каталазы по скорости разложения перекиси водорода [9], свободнорадикальную активность (АСР) и общую антиоксидантную активность (АОА) плазмы крови и гомогенатов опухолевой ткани методом индуцированной хемилюминесценции⁴. После облучения биологический материал инкубировали 5 мин при комнатной температуре, замораживали при -18°C и хранили при такой температуре до биохимических исследований. Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах периферической крови исследовали методом «ДНК-комет» с модификациями [10]. Для каждого образца крови готовили слайды в двух повторах и получали средние значения уровня повреждений ДНК (процентное содержание ДНК в «хвосте кометы» — %TDNA) после анализа 50 комет.

Статистический анализ данных проводили по критерию Уилкоксона и U-критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$); все результаты представлены в виде медианы и 25 и 75%-го интерперцентильного размаха — Me [25%; 75%].

При воздействии низкоинтенсивным ЭМИ на эритроциты крови интактных животных наблюдалось снижение содержания гемоглобина при длинах волн 400 нм ($n=10$, 326 [311; 344], $p=0,017$ по критерию Уилкоксона) и 660 нм ($n=10$, 323 [313; 335], $p=0,007$), но не при 460 нм ($n=10$, 332 [322; 348], $p=0,059$), по сравнению с образцами, которые не облучались ЭМИ ($n=10$, 347 [339; 357]).

У животных-опухоленосителей была зарегистрирована более низкая концентрация гемоглобина в эритроцитах по сравнению с интактными крысами (288 [281; 335] и 347 [339; 357] соответственно, $p=0,017$ по U-критерию Манна-Уитни), что косвенно указывает на усиление окислительной нагрузки в орга-

¹ Журавлев А.И. Квантовая биофизика животных и человека: учебное пособие. М.: БИНОМ Лаборатория знаний; 2011.

² Директива Европейского Парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых в научных целях.

³ Приказ Минздрава России от 01.04.2016 №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

⁴ Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободнорадикальных реакций в биологических субстратах. В кн.: «Биохимия и биофизика микроорганизмов». Горький: ГГУ; 1983: 41-8.

Таблица 1 / Table 1

Изменение активности СОД и каталазы в эритроцитах intactных крыс и животных-опухоленосителей после действия ЭМИ с длинами волн 400, 460 и 660 нм *in vitro*
Changes in the activity of SOD and catalase in erythrocytes of intact rats and tumor-bearing animals after the action of EMR with wavelengths of 400, 460 and 660 nm *in vitro*

Активность ферментов, ед.акт./г Нв	Интактные (n=10)				Опухоленосители (n=10)			
	без воздействия	400 нм	460 нм	660 нм				
СОД	185 [106; 208]	201 [149; 217]*	194 [99; 238]	156 [123; 173]	217 [183; 251]			
каталаза	19 [16; 24]	18 [17; 24]	20 [17; 24]	22 [17; 25]	7 [0; 18]**			
Опухоленосители								
Активность ферментов, ед.акт./г Нв	Масса опухоли менее 50 г (n=5)				Масса опухоли более 50 г (n=5)			
	РС-1 без воздействия	400 нм	460 нм	660 нм	РС-1 без воздействия	400 нм	460 нм	660 нм
СОД	205 [197; 221]	242 [219; 275]^	193 [182; 204]	161 [151; 229]	251 [116; 276]	117 [110; 221]	182 [173; 201]	202 [130; 233]
каталаза	10 [0; 18]	17 [0; 17]	14 [5; 18]	21 [15; 23]^	6 [4; 8]	18 [15; 20]	23 [16; 25]	28 [19; 34]

Примечание: * $p=0,028$ по сравнению с образцами intactных животных без воздействия по критерию Уилкоксона, $n=10$; ** $p=0,041$ по сравнению с образцами intactных животных без воздействия по U-критерию Манна-Уитни, $n=10$; ^ $p<0,05$ по сравнению с образцами без воздействия при массах опухоли менее 50 г по критерию Уилкоксона, $n=5$.

Note: * $p=0.028$ compared to samples of intact animals without exposure according to the Wilcoxon criterion, $n=10$; ** $p=0.041$ compared to samples of intact animals without exposure according to the Mann-Whitney U-test, $n=10$; ^ $p<0.05$ compared to unaffected samples with tumor masses less than 50 g according to the Wilcoxon criterion, $n=5$.

низме в результате развития окислительного стресса. При небольших массах опухолей (условная граница до 50 г, $n=5$) под воздействием ЭМИ с длинами волн 400 и 660 нм наблюдалось снижение содержания гемоглобина в эритроцитах по сравнению с образцами без воздействия, что аналогично эффекту у intactных крыс. На более поздних стадиях роста опухолей, когда их масса превышала 50 г ($n=5$), зарегистрировано увеличение концентрации гемоглобина в эритроцитах после воздействия *in vitro*: статистически значимо при длинах волн 460 нм и 660 нм, но не при 400 нм, по сравнению с образцами опухоленосителей без воздействия. При этом более выражено действие ЭМИ с длиной волны 460 нм.

Результаты действия ЭМИ на активность антиоксидантных ферментов СОД и каталазы в эритроцитах intactных животных представлены в таблице 1. Обнаружено, что только при действии ЭМИ с длиной волны 400 нм наблюдается статистически значимое повышение активности СОД на 8,6%.

При сравнении активности исследуемых антиоксидантных ферментов у intactных животных и крыс-опухоленосителей со сроками роста неоплазии 31, 40, 49 и 57 сут. не было обнаружено различий для СОД, но выявлено статистически значимое снижение активности каталазы (табл. 1). У животных-опухоленосителей с массами карциномы менее 50 г в эритроцитах крови обнаружено, что после облучения ЭМИ с длиной волны 400 нм статистически значимо на 13,6% увеличилась активность СОД, а после действия ЭМИ с длиной волны 660 нм наблюдалось увеличение активности каталазы (табл. 1).

У животных-опухоленосителей не было выявлено различий показателей АСР и АОА плазмы крови по сравнению с intactными крысами (табл. 2). При воздействии ЭМИ на плазму крови intactных животных наблюдали статистически значимое увеличение АСР при длинах волн 460 и 660 нм, но не при 400 нм, по сравнению с образцами без воздействия (табл. 2). При этом после действия ЭМИ снижалась АОА (табл. 2). Этот эффект можно объяснить изменением конформации белков плазмы крови. При этом слабое влияние ЭМИ с длиной волны 400 нм, вероятно, связано с активацией антиоксидантных свойств сывороточного альбумина [11].

При воздействии ЭМИ на плазму крови, полученную от животных-опухоленосителей, только при небольших размерах опухоли и только для излучения с длиной волны 460 нм удалось зафиксировать статистически значимое увеличение АСР по сравнению с образцами без воздействия (табл. 2). В отличие от intactных животных не выявлено влияние излучения с длиной

волны 660 нм, что может свидетельствовать о снижении концентрации хромофоров для этой части спектра в плазме крови при опухолевой прогрессии. При массах опухоли более 50 г в плазме крови животных наблюдалась тенденция к снижению АСР и повышению общей АОА после действия ЭМИ *in vitro* (табл. 2).

Воздействие ЭМИ на лейкоциты периферической крови intactных животных не вызвало изменений в фоновом уровне повреждений ДНК. При этом в образцах встречались различные типы ДНК-комет, но в 80-94% случаях были ядра с повреждениями ДНК по типу С1 (рисунок). После тест-нагрузки ОФР на лейкоциты крови наблюдалась тенденция к снижению уровня повреждений ДНК для воздействия ЭМИ с длинами волн 460 и 660 нм (табл. 3).

У животных-опухоленосителей не было выявлено отличий в фоновом уровне повреждений ДНК (%TDNA=3,1 [2,3; 3,9]) по сравнению с intactными животными (%TDNA=2,7 [2,3; 3,5]), и воздействие ЭМИ не привело к существенным изменениям фонового уровня повреждений ДНК в лейкоцитах крови крыс с РС-1.

Стоит отметить, что эффективность систем репарации ДНК в лейкоцитах крови опухоленосителей после воздействия ЭМИ стала более низкой, о чем свидетельствует повышенный уровень повреждений ДНК после тест-нагрузки ОФР при длинах волн 460 и 660 нм (табл. 3).

При воздействии ЭМИ на гомогенаты периферической области карциномы РС-1 наблюдали статистически значимое увеличение АСР на 3,0% и снижение общей АОА на 13,5% при длине волны 660 нм по сравнению с необлученными образцами (табл. 2). Действие фиолетово-синей области спектра носило разнонаправленный характер. В большинстве исследуемых образцов было выявлено усиление АСР после воздействия ЭМИ с длинами волн 400 нм на 4,6% (1,13 [1,01; 1,25], $p=0,005$, $n=9$) и 460 нм на 5,4% (1,15 [0,99; 1,47], $p=0,005$, $n=9$) по сравнению с образцами без воздействия (1,09 [0,76; 1,34] и 1,08 [0,76; 1,14] соответственно) по критерию Уилкоксона. В этих же гомогенатах наблюдалось снижение общей АОА после действия ЭМИ с длинами волн 400 нм на 9,7% (0,121 [0,116; 0,129], $p=0,028$, $n=9$) и 460 нм на 11,2% (0,119 [0,109; 0,132], $p=0,008$, $n=9$) по сравнению с необлученными образцами (0,134 [0,112; 0,135]) по критерию Уилкоксона. В 4 из 13 гомогенатах после действия ЭМИ фиолетово-синего спектра наблюдалось отсутствие изменений или снижение АРС на фоне увеличения общей АОА.

Показано, что действие низкоинтенсивного ЭМИ оптического диапазона зависит не только от длины волны, но и от ста-

Таблица 2 / Table 2

Изменение АРС и общей АОА в гомогенатах опухолевой ткани и плазме крови интактных крыс и животных-опухоленосителей после действия ЭМИ с длинами волн 400, 460 и 660 нм *in vitro*
Changes in FRA and total AOA in tumor tissue homogenates and blood plasma of intact rats and tumor-bearing animals after the action of EMR with wavelengths of 400, 460 and 660 nm *in vitro*

Плазма крови	Интактные (n=10)				Опухоленосители (n=10)			
	без воздействия	400 нм	460 нм	660 нм				
АСР, усл. ед.	2,00 [1,79; 2,03]	2,00 [1,89; 2,03]	2,06 [1,84; 2,23]*	2,06 [1,80; 2,10]*	2,04 [1,90; 2,08]			
АОА, усл. ед.	0,070 [0,062; 0,080]	0,068 [0,061; 0,077]*	0,066 [0,060; 0,077]*	0,066 [0,062; 0,078]*	0,066 [0,064; 0,072]			
Опухоленосители								
Плазма крови	Масса опухоли менее 50 г (n=5)				Масса опухоли более 50 г (n=5)			
	РС-1 без воздействия	400 нм	460 нм	660 нм	РС-1 без воздействия	400 нм	460 нм	660 нм
АСР, усл. ед.	1,90 [1,64; 2,10]	1,96 [1,71; 2,21]	1,98 [1,79; 2,22]^	2,04 [1,65; 2,09]	2,05 [2,04; 2,05]	2,02 [1,86; 2,11]	1,81 [1,68; 1,83]	1,84 [1,83; 2,07]
АОА, усл. ед.	0,064 [0,064; 0,081]	0,065 [0,062; 0,076]	0,063 [0,061; 0,074]	0,062 [0,060; 0,082]	0,066 [0,065; 0,072]	0,065 [0,061; 0,074]	0,070 [0,068; 0,080]	0,065 [0,063; 0,074]
Гомогенаты опухолевой ткани (n=13)								
	без воздействия		400 нм		460 нм		660 нм	
АСР, усл. ед.	1,09 [0,96; 1,14]		1,09 [0,99; 1,25]		1,12 [0,99; 1,31]		1,13 [1,07; 1,33]#	
АОА, усл. ед.	0,13 [0,12; 0,14]		0,12 [0,12; 0,14]		0,13 [0,11; 0,14]		0,12 [0,11; 0,13]#	

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с образцами интактных животных без воздействия, $n=10$; ^ $p=0,043$ по сравнению с образцами без воздействия при массе опухоли до 50 г, $n=5$; # $p=0,002$ по сравнению с образцами гомогенатов ткани без воздействия, $n=13$, по критерию Уилкоксона.

Note: * $p < 0.05$ compared to samples of intact animals without exposure, $n=10$; ^ $p=0.043$ compared to samples without exposure at a tumor mass of up to 50 g, $n=5$; # $p=0.002$ compared to samples of tissue homogenates without exposure, $n=13$, according to the Wilcoxon criterion.

дии развития и характера протекания патологического процесса при опухолевой прогрессии.

Так, действие ЭМИ с длиной волны 660 нм на кровь и ее компоненты интактных крыс *in vitro* потенцирует свободно-радикальные процессы в плазме (табл. 2) и эритроцитах, вероятно, за счет фотосенсибилизации порфиринов, поглощающих свет в красном диапазоне [12]. Но уровень образующихся активных форм кислорода не вызывает генотоксического эффекта в лейкоцитах, а оказывает стимулирующее действие на системы репарации ДНК (табл. 3). При этом зарегистрировано подавление общей АОА плазмы, что, вероятно, не связано с изменением активности СОД и каталазы (табл. 1 и 2).

Воздействие ЭМИ на компоненты крови животных-опухоленосителей носит другой характер. Вероятно, в результате накопления опухоли порфиринов [13] снижается их концентрация в плазме крови, а на более поздних этапах развития неоплазии и в эритроцитах. Аккумуляция в опухолевой ткани порфиринов, поглощающих в красном диапазоне, подтверждается повышением АСР в гомогенатах опухоли под действием ЭМИ с длиной волны 660 нм (табл. 2). Кроме того, при развитии окислительного стресса снижается концентрация гемоглобина за счет его окисления [14]. При этом гемоглобин депонирует избыточно образующийся в процессе жизнедеятельности опухолевых клеток NO [15, 16]. Преобразования же в гемоглобине, вероятно, вносят изменения в работу гемоглобиновой буферной системы и приводят к смещению внутриклеточного pH эритроцитов в щелочную сторону, о чем косвенно свидетельствует снижение активности каталазы и тенденция к повышению активности СОД (табл. 1). Вероятно, также происходит реактивация эритроцитарной каталазы за счет ее конформационных перестроек (табл. 1) [17]. Таким образом, эффекты ЭМИ с длиной волны 660 нм в большей степени обусловлены фотосенсибилизацией эндогенных порфиринов, поглощающих в красном диапазоне.

Действие ЭМИ с длиной волны 460 нм обусловлено другими хромофорами, динамика изменений концентраций которых

Таблица 3 / Table 3

Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови интактных крыс и животных-опухоленосителей после воздействия ЭМИ различных длин волн до и после тест-нагрузки озонированным физиологическим раствором (ОФР)

The level of DNA damage in the blood leukocytes of intact rats and tumor-bearing animals after exposure to EMR of different wavelengths before and after the test load with ozonated saline solution (OSS)

	Фоновый уровень повреждений ДНК (%TDNA)	Уровень повреждений ДНК после тест-нагрузки ОФР (%TDNA)
Интактные животные		
Без воздействия ЭМИ	2,7 [2,3; 3,5]	3,2 [3,0; 4,8]
После воздействия ЭМИ с длиной волны 400 нм	3,9 [2,6; 4,9]	5,6 [3,6; 6,2]
После воздействия ЭМИ с длиной волны 460 нм	4,6 [3,0; 5,7]	3,2 [1,9; 4,5]
После воздействия ЭМИ с длиной волны 660 нм	4,6 [2,7; 7,1]	3,1 [1,6; 4,4]
Опухоленосители		
РС-1 без воздействия ЭМИ	3,1 [2,3; 3,9]	4,4 [3,2; 5,6]
РС-1 после воздействия ЭМИ с длиной волны 400 нм	2,7 [2,3; 3,9]	3,8 [2,8; 7,5]*
РС-1 после воздействия ЭМИ с длиной волны 460 нм	3,9 [2,8; 4,8]	6,6 [4,6; 8,3]**
РС-1 после воздействия ЭМИ с длиной волны 660 нм	3,7 [2,9; 5,4]	5,0 [4,6; 7,7]***

Примечание: $p < 0,05$ по сравнению с образцами опухоленосителей после воздействия ЭМИ с длинами волн 400 (*), 460 (**) и 660 (***) нм без тест-нагрузки по критерию Уилкоксона, $n=7-8$.

Note: $p < 0.05$ compared to samples of tumor carriers after exposure to EMR with wavelengths 400 (*), 460 (**) and 660 (***) nm without the Wilcoxon test load, $n=7-8$.

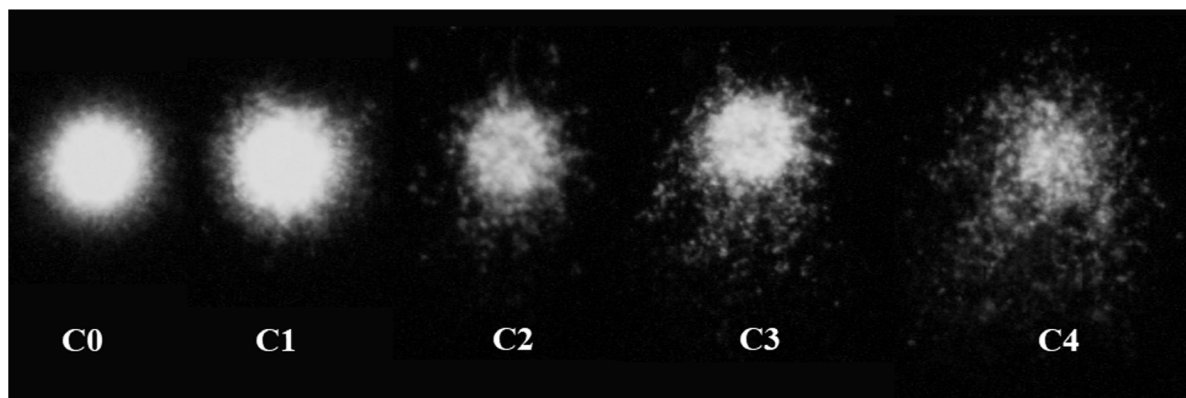


Рисунок. Типы ДНК-комет лейкоцитов периферической крови крыс с разным уровнем повреждений ДНК (увеличение 200)
Figure. Types of DNA comets of peripheral blood leukocytes of rats with different levels of DNA damage (increase 200)

в биоматериале при опухолевой прогрессии отличается от порфиринов, поглощающих в красном диапазоне. Это подтверждается отсутствием косвенного или прямого влияния ЭМИ синего диапазона на гемоглобин эритроцитов intactных животных и крыс с РС-1 с небольшими массами опухоли (рисунок), но более интенсивным, по сравнению с ЭМИ с длиной волны 660 нм, воздействием на АСР в плазме крови как intactных животных, так и опухоленосителей (табл. 2). При этом зафиксировано снижение общей АОА в плазме крови, но влияние на СОД и каталазу не было установлено (табл. 1). На основании полученных данных и анализа литературы предполагается, что наиболее вероятным хромофором для ЭМИ с длиной волны 460 нм является билирубин, так как он поглощает излучение синего диапазона и может проявлять в зависимости от условий как про-, так и антиоксидантные свойства [18, 19].

Что касается поздних сроков роста опухоли, то ЭМИ с длиной волны 460 нм также, как и с длиной волны 660 нм, восстанавливает гемоглобин за счет фотодиссоциации его нитрозильных комплексов и высвобождения NO [20]. При этом эффект ЭМИ синей области спектра более выражен.

Однако влияние на АСР в гомогенатах опухолевой ткани носит неоднозначный характер, вероятно, связанный с интенсивностью роста РС-1 и опосредован через рибофлавин [21].

При недостатке рибофлавина действие ЭМИ с длиной волны 460 нм на опухолевую ткань будет снижено.

Отличительной особенностью влияния ЭМИ с длиной волны 400 нм является активация эритроцитарной СОД в норме и на ранних стадиях развития опухоли (табл. 1) на фоне невыраженного действия на другие исследуемые параметры.

В ходе комплексной оценки действия низкоинтенсивного ЭМИ с длинами волн 400, 460 и 660 нм на активность свободнорадикальных процессов в клетках опухолевой ткани и в крови в норме и в условиях роста экспериментального холангиоцелюлярного рака РС-1 разных сроков развития показано, что:

- величина биологического эффекта зависит как от длины волны ЭМИ, так и от стадии развития опухолевого процесса;
- механизм действия ЭМИ с длиной волны 660 нм опосредован в основном через порфирины и фотосенсибилизацию;
- механизм действия ЭМИ с длиной волны 460 нм связан с фотодиссоциацией нитрозильных комплексов гемоглобина и NO, билирубином;
- ЭМИ с длиной волны 400 нм в большей степени оказывает влияние на антиоксидантную систему защиты организма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dagenais G.R., Leong D.P., Rangarajan S. et al. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*. 2019; 395(10225): 785–94. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32007-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32007-0)
2. Gudkova O.Yu., Gapeyev A.B., Chemeris N.K. et al. Study of the mechanisms of formation of reactive oxygen species in aqueous solutions exposed to high-peak-power pulsed electromagnetic radiation of extremely high frequencies. *Biophysics*. 2005; 50(5): 679–84.
3. Gapeyev A.B., Lukyanova N.A., Gudkov S.V. Hydrogen peroxide induced by modulated electromagnetic radiation protects the cells from DNA damage. *Cent. Eur. J. Biol.* 2014; 9(10): 915–21. <https://doi.org/10.2478/s11535-014-0326-x>
4. Hamblin M.R., Nelson S.T., Strahan J.R. Photobiomodulation and Cancer: What Is the Truth? *Photomed. Laser. Surg.* 2018; 36(5): 241–5. <https://doi.org/10.1089/pho.2017.4401>
5. Минаев В.П., Жилин К.М. Современные лазерные аппараты для хирургии и силовой терапии на основе полупроводниковых и волоконных лазеров: рекомендации по выбору и применению. М.: Издатель И.В.Балабанов; 2009.
6. Zalesskaya G.A. The efficiency of blood photomodification with therapeutic doses of optical radiation of different wavelengths. *Biophysics*. 2017; 62(3): 490–8. <https://doi.org/10.1134/S0006350917030265>
7. Dzhagarov B.M., Lepeshkevich S.V., Panarin A.Y. et al. Photoinduced Breaking of the Fe-O₂ Bond in Hemoglobin: Dissociation Quantum Yield, Excited Electronic States, and Nonradiative Relaxation Processes. *Optics and Spectroscopy*. 2018; 125(1): 123–29. <https://doi.org/10.1134/S0030400X1807007X>
8. Кулакова К.В., Щербатюк Т.Г., Чернов В.В. Деструкция клеток лимфоцитов периферической крови крыс после воздействия на нее низкоинтенсивным лазерным излучением в диапазоне синего света. *Биомедицина*. 2012; (2): 68–74.
9. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб.: ООО "Издательство Фолиант"; 2000.
10. Chernigina I.A., Shcherbatyuk T.G. A New Version of Comet Assay. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2016; 8(1): 20–7. <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.1.03>
11. Созарукова М.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Сывороточный альбумин как источник и мишень свободных радикалов в патологии. *Вестник РГМУ*. 2016; (1): 61–7.
12. Бриль Г.Е. Интегральная концепция механизма биологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения. *Лазерная медицина*. 2019; 23(S3): 49.
13. Moesta K.T., Ebert B., Handke T. et al. Protoporphyrin IX Occurs Naturally in Colorectal Cancers and Their Metastases. *Cancer Res.* 2001; 61: 991–9.
14. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. et al. Dinitrosyl iron complexes bind with hemoglobin as markers of oxidative stress. *Methods in Enzymology*. 2008; 436: 445–61.
15. Sybirna N.O., Lyuta M.Ya., Klymyshyn N.I. Molecular mechanisms of nitric oxide deposition in erythrocytes. *Studia Biologica*. 2010; 4(1): 143–60. <https://doi.org/10.30970/sbi.0401.080> (in Ukrainian)
16. Поцелуева М.М., Наумов А.А., Куприянова Е.С. Динамика метаболитов оксида азота в плазме и асцитической жидкости при развитии гепатомы Зайделя *in vivo*. *Цитология*. 2015; 57(6): 436–442.
17. Artyukhov V.G., Basharina O.V., Pantak A.A. et al. Effect of helium-neon laser on activity and optical properties of catalase. *Bulletin of Ex-*

- perimental Biology and Medicine*. 2000; 129(6): 537–40. <https://doi.org/10.1007/BF02434869>
18. Plavskii V.Y., Mikulich A.V., Leusenko I.A. et al. Spectral Range Optimization to Enhance the Effectiveness of Phototherapy for Neonatal Hyperbilirubinemia. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2017; 84(1): 92–102. <https://doi.org/10.1007/s10812-017-0433-3>
 19. Dudnik L.B., Azyzova O.A., Solovyova N.P. et al. Primary biliary cirrhosis and coronary atherosclerosis: protective antioxidant effect of bilirubin. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2008; 145(1): 18–22. <https://doi.org/10.1007/s10517-008-0019-4>
 20. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов. *Успехи биологической химии*. 2007; 47: 259–92.
 21. Khaydukov E.V., Mironova K.E., Semchishen V.A. et al. Riboflavin photoactivation by upconversion nanoparticles for cancer treatment. *Sci. Rep.* 2016; 6: 35103. <https://doi.org/10.1038/srep35103>
- ### REFERENCES
1. Dagenais G.R., Leong D.P., Rangarajan S. et al. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*. 2019; 395(10225): 785–94. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32007-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32007-0)
 2. Gudkova O.Yu., Gapeyev A.B., Chemeris N.K. et al. Study of the mechanisms of formation of reactive oxygen species in aqueous solutions exposed to high-peak-power pulsed electromagnetic radiation of extremely high frequencies. *Biophysics*. 2005; 50(5): 679–84.
 3. Gapeyev A.B., Lukyanova N.A., Gudkov S.V. Hydrogen peroxide induced by modulated electromagnetic radiation protects the cells from DNA damage. *Cent. Eur. J. Biol.* 2014; 9(10): 915–921. <https://doi.org/10.2478/s11535-014-0326-x>
 4. Hamblin M.R., Nelson S.T., Strahan J.R. Photobiomodulation and Cancer: What Is the Truth? *Photomed. Laser. Surg.* 2018; 36(5): 241–5. <https://doi.org/10.1089/pho.2017.4401>
 5. Minaev V.P., Zhilin K.M. *Sovremennye lazernye apparaty dlya hirurgii i silovoj terapii na osnove poluprovodnikovyh i volokonnyh lazerov: rekomendacii po vyboru i primeneniju*. M.: Izdatel' I.V.Balabanov; 2009 (in Russian)
 6. Zaleskaya G.A. The efficiency of blood photomodification with therapeutic doses of optical radiation of different wavelengths. *Biophysics*. 2017; 62(3): 490–98. <https://doi.org/10.1134/S0006350917030265>
 7. Dzhagarov B.M., Lepeshkevich S.V., Panarin A.Y. et al. Photoinduced Breaking of the Fe-O₂ Bond in Hemoglobin: Dissociation Quantum Yield, Excited Electronic States, and Nonradiative Relaxation Processes. *Optics and Spectroscopy*. 2018; 125(1): 123–9. <https://doi.org/10.1134/S0030400X1807007X>
 8. Kulakova K.V., Shcherbatyuk T.G., Chernov V.V. Destrukciya kletok limfosarkomy Plissa posle vozdejstviya na nee nizkointensivnym lazernym izlucheniem v diapazone sinego sveta. *Biomedicina*. 2012; (2): 68–74. (in Russian).
 9. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. *Metody ocenki svobodnoradikal'nogo okisleniya i antioksidantnoj sistemy organizma*. SPb.: OOO "Izdatel'stvo Foliant"; 2000 (in Russian).
 10. Chernigina I.A., Shcherbatyuk T.G. A New Version of Comet Assay. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2016; 8(1): 20–7. <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.1.03>
 11. Sozarukova M.M., Proskurnina E.V., Vladimirov Ju.A. Syvorotochnyj al'bumin kak istochnik i mishen' svobodnyh radikalov v patologii. *Vestnik RGMU*. 2016; (1): 61–7. (in Russian).
 12. Brill G.E. Integral'naja koncepcija mehanizma biologicheskogo dejstviya nizkointensivnogo lazernogo izlucheniya. *Lazernaja medicina*. 2019; 23(S3): 49 (in Russian).
 13. Moesta K.T., Ebert B., Handke T., Nolte D. et al. Protoporphyrin IX Occurs Naturally in Colorectal Cancers and Their Metastases. *Cancer Res.* 2001; 61: 991–9.
 14. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. et al. Dinitrosyl iron complexes bind with hemoglobin as markers of oxidative stress. *Methods in Enzymology*. 2008; 436: 445–61.
 15. Sybirna N.O., Lyuta M.Ya., Klymyshyn N.I. Molecular mechanisms of nitric oxide deposition in erythrocytes. *Studia Biologica*. 2010; 4(1): 143–60. <https://doi.org/10.30970/sbi.0401.080> (in Ukrainian).
 16. Potselueva M.M., Naumov A.A., Kupriyana E.S. Dinamika metabolitov oksida azota v plazme i asciticheskoj zhidkosti pri razviti gepatomy Zajdelja in vivo. *Citologija*. 2015; 57(6): 436–42 (in Russian).
 17. Artyukhov V.G., Basharina O.V., Pantak A.A. et al. Effect of helium-neon laser on activity and optical properties of catalase. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2000; 129(6): 537–40. <https://doi.org/10.1007/BF02434869>
 18. Plavskii V.Y., Mikulich A.V., Leusenko I.A. et al. Spectral Range Optimization to Enhance the Effectiveness of Phototherapy for Neonatal Hyperbilirubinemia. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2017; 84(1): 92–102. <https://doi.org/10.1007/s10812-017-0433-3>
 19. Dudnik L.B., Azyzova O.A., Solovyova N.P. et al. Primary biliary cirrhosis and coronary atherosclerosis: protective antioxidant effect of bilirubin. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2008; 145(1): 18–22. <https://doi.org/10.1007/s10517-008-0019-4>
 20. Osipov A.N., Borisenko G.G., Vladimirov Ju.A. Biologicheskaja rol' nitrozil'nyh kompleksov gemoproteinov. *Uspеhi biologicheskoy himii*. 2007; 47: 259–92 (in Russian).
 21. Khaydukov E.V., Mironova K.E., Semchishen V.A. et al. Riboflavin photoactivation by upconversion nanoparticles for cancer treatment. *Sci. Rep.* 2016; 6: 35103. <https://doi.org/10.1038/srep35103>