

ВОЗДЕЙСТВИЕ ИНФРАКРАСНОГО ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РАЗМНОЖЕНИЕ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА В КУЛЬТУРЕ

© 2016 г. Н.В. Андреева, К.В. Зотов*, Е.Е. Егоров, М.В. Калашникова**, В.И. Юсупов*, В.Н. Баграташвили*, А.В. Белявский

Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32;

**Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, 142092, Москва, Троицк, ул. Пионерская, 2;*

***Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина МЗ РФ, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24*

E-mail: abelyavs@yahoo.com

Поступила в редакцию 21.07.16 г.

Облучение низкоинтенсивным лазерным излучением оказывает влияние на различные биологические объекты и в настоящее время находит применение в различных областях медицины. С практической точки зрения наиболее интересным представляется излучение в ближней инфракрасной области, которое обладает наиболее проникающей способностью для тканей организма человека. В настоящей работе мы исследовали эффекты облучения низкоинтенсивным лазерным излучением с длиной волны 835 нм на двух линиях клеток меланомы человека – Mel II и MeWo – в культуре. Полученные данные показывают, что инфракрасное лазерное излучение низкой интенсивности оказывает воздействие на скорость роста меланомных клеточных линий Mel II и MeWo, при этом динамика ответов этих линий на лазерное облучение в целом весьма близка, несмотря на некоторые количественные отличия. Стимуляция роста клеток происходит в относительно узком диапазоне малых доз (около 0,17 Дж/см²). При значительном увеличении дозы происходит, наоборот, торможение размножения. Предварительное облучение клеток малыми дозами, однако, защищает их от негативного действия повышенных доз. Защитное действие малых доз развивается постепенно, в течение примерно 10–30 мин, и сохраняется в течение по крайней мере 3 ч. Предоблучение клеток также расширяет диапазон стимулирующего действия малыми дозами облучения. Предложена теоретическая модель, объясняющая динамику ответов клеток на различные дозы облучения.

Ключевые слова: меланома, рост клеток, лазеры, низкоинтенсивное инфракрасное лазерное облучение, малые дозы, протекторное действие.

Лазерная терапия, связанная с действием на человеческий организм низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в видимой и ближней инфракрасной области спектра, возникла достаточно давно. В настоящее время она используется относительно широко в медицинской практике, главным образом для уменьшения воспалительных процессов и стимуляции заживления ран и нейрогенерации [1–4]. Многочисленные исследования в области биологических эффектов НИЛИ показали, что такое излучение способно воздействовать на самые различные биологические объекты. Так, низкоинтенсивное облучение различных опухолевых клеток может изменять скорости их пролиферации [5–8]. Кроме того, низкоинтенсивное ла-

зерное облучение может стимулировать регенерацию мышц у земноводных [9], способствовать выживанию и вызывать пролиферацию сателлитных мышечных клеток [10], активировать пролиферацию и дифференцировку остеобластов [11]. Действие излучения на некоторые биологические объекты может наблюдаться и при весьма низких дозах порядка 10⁻⁴ Дж/см², как показано для секреции интерферона лейкоцитами [12].

Лазерное излучение в инфракрасном диапазоне 800–900 нм представляет собой значительный интерес с точки зрения использования в терапевтических целях, поскольку именно в этой области ткани организма наиболее проницаемы для излучения. В настоящей работе мы исследовали эффекты различных доз низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения с длиной волны 835 нм на две мела-

Сокращение: НИЛИ – низкоинтенсивное лазерное излучение.

номные линии. Полученные данные показывают, что при малых дозах наблюдается стимуляция размножения клеток, а при повышенных дозах, напротив – подавление размножения. Нами также обнаружено, что предоблучение малыми дозами способно защитить клетки от негативного действия повышенных доз, и изучены факторы, влияющие на этот процесс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лазерная установка. Установка для облучения клеток была сконструирована из источника лазерного излучения переменной мощности, регулируемого источника тока и штатива. В качестве источника излучения в экспериментах использовали многомодовый лазерный диод с волоконно-оптическим выходом фирмы Coherent (США) с центральной длиной волны 835 ± 2 нм и максимальной выходной мощностью 2 Вт. Оптическое волокно закреплялось на штативе таким образом, что его выходной торец был направлен вниз. Однородное поле облучения диаметром 3,5 см, соответствующее по своим размерам диаметру культуральной чашки Петри, формировали на расстоянии 15 см от выходного торца оптического волокна. Калибровку интенсивности излучения осуществляли при помощи измерителя оптической мощности Coherent Field max II (США).

Культура клеток. Линия меланомы кожи Mel IL была получена из банка опухолевых клеток РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Клетки культивировали до 50–60% конfluence в CO_2 -инкубаторе (5% CO_2) в среде RPMI-1640 (Sigma, США), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамин, пенициллин (100 ед/мл) и стрептомицин (100 мкг/мл). Клетки меланомы человека MeWo культивировали в среде DMEM (Sigma, США) с высокой концентрацией глюкозы (4500 мг/л), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамин, пенициллин (100 ед/мл) и стрептомицин (100 мкг/мл). При пассировании меланомные клетки снимали инкубацией в 0,25% растворе трипсина (Sigma, США) в фосфатно-солевом буфере с 0,02% ЭДТА в течение двух–трех минут при 37°C, после чего промывали один раз центрифугированием в соответствующих средах в течение 7 мин при 370 g.

Облучение клеток. Для облучения меланомные клетки в количестве 30 тысяч рассеивали на культуральные чашки Петри диаметром 3,5 см. Облучение проводили при комнатной температуре с помощью описанной выше инфракрасной лазерной установки. В большинстве экспериментов использовали низкодозовый ре-

жим (25 мВт на чашку в течение 1 мин, что соответствует дозе 0,172 кДж/м²) или его кратные производные (0,5×, 2,0×, 4,0×), что достигалось уменьшением или увеличением времени облучения при постоянной интенсивности. Кроме того, использовали повышенную дозу облучения (200 мВт на чашку в течение 2 мин, что соответствует дозе 2,76 Дж/см²). Примененные в экспериментах режимы облучения указаны в подписях к соответствующим рисункам. После облучения клетки культивировали в течение суток, снимали трипсином, как описано выше, после чего окрашивали трипановым синим (0,2%) для дискриминации живых и мертвых клеток и подсчитывали в камере Горяева. Каждый экспериментальный вариант делали в трех повторностях, подсчет числа клеток в каждом повторе проводили дважды для повышения точности и брали среднее из двух подсчетов.

Интегральный индекс размножения клеток в культуре подсчитывали согласно формуле $IP = N_T : N_0$, где IP – индекс размножения, N_0 – число посаженных живых клеток, N_T – число снятых живых клеток после культивирования в течение 24 ч.

Статистический анализ. Для статистического анализа (вычисление стандартных отклонений и достоверности отличий по t -критерию Стьюдента) использовали статистические функции программы Excel (Microsoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вначале мы исследовали действие различных доз инфракрасного лазерного облучения на размножение меланомных клеток Mel IL и MeWo в культуре в течение 24 ч. В качестве единицы дозы было выбрано облучение мощностью 25 мВт в течение 1 мин (доза 0,172 Дж/см²). Результаты этого эксперимента показаны на рис. 1. Для контрольных, не подвергшихся облучению клеток Mel IL (рис. 1а), индекс размножения (увеличение числа клеток за 24 ч культивирования) составил почти 1,5 раза. Облучение половинной дозой (25 мВт × 0,5 мин, доза 0,086 Дж/см²) не имело никакого эффекта на размножение клеток. В то же время при однократной дозе облучения индекс размножения вырос до 2,0, т.е. такая доза облучения привела к значительному увеличению скорости размножения клеток. Еще более высокая активация размножения клеток, до 2,2 раз, происходила в том случае, если две полудозы, составляющие однократную дозу, были разделены временным интервалом продолжительностью 30 мин.

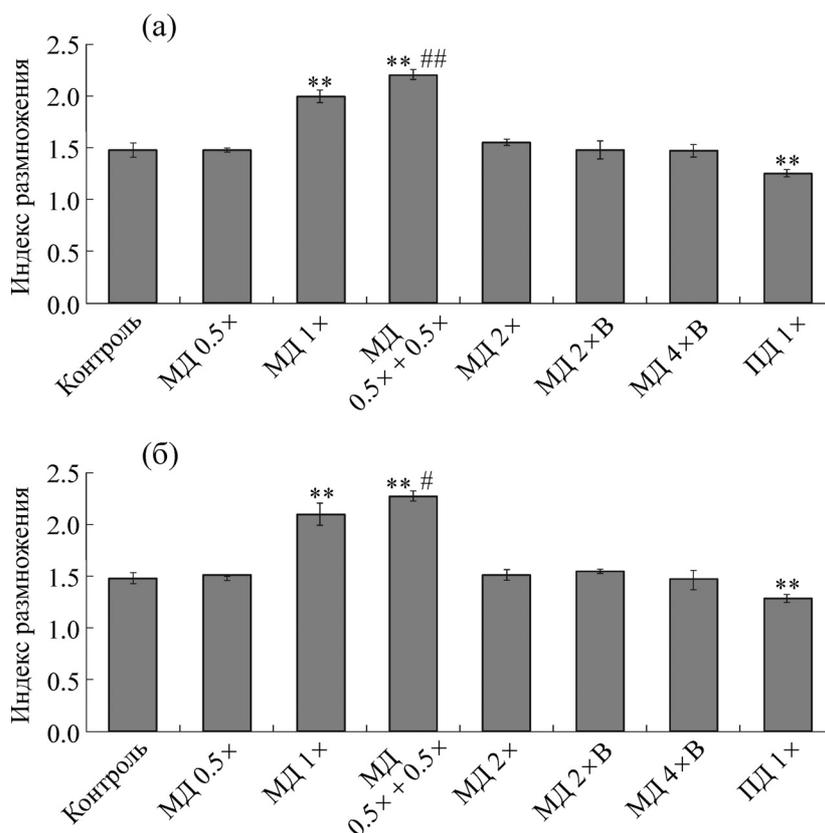


Рис. 1. Анализ действия различных малых доз лазерного облучения на рост меланомных клеток: (а) – анализ действия облучения на рост клеток Mel II, (б) – анализ действия облучения на рост клеток MeWo. По оси ординат представлен индекс размножения клеток, определяемый как соотношение числа снятых живых клеток к числу посеянных живых клеток после культивирования в течение 24 ч. Обозначения: контроль – контрольные клетки, не подвергавшиеся облучению; МД 0,5× – половинная доза облучения (25 мВт × 0,5 мин); МД 1× – однократная доза облучения (25 мВт × 1 мин); МД 0,5× + 0,5× – однократная доза облучения с интервалом (25 мВт × 0,5 мин, интервал 30 мин, 25 мВт × 0,5 мин); МД 2× – двухкратная доза облучения (25 мВт × 2 мин); МД 2×V – двухкратная доза при повышенной мощности облучения (200 мВт × 0,25 мин); МД 4×V – четырехкратная доза при повышенной мощности облучения (200 мВт × 0,5 мин); ПД 1× – повышенная (МД 16×) доза облучения (200 мВт × 2 мин). Показаны средние значения (три повтора) и среднеквадратичное отклонение. По *t*-критерию Стьюдента $p < 0,01$ (**) по сравнению с контролем; $p < 0,05$ (#), $p < 0,01$ (##) по сравнению с однократной дозой облучения.

Активация роста клеток лазерным облучением имеет ярко выраженный дозовый оптимум. Так, при увеличении дозы до 2-кратной или 4-кратной (0,344 и 0,688 Дж/см² соответственно) активационный эффект снимается, скорость размножения клеток почти не отличается от контроля (хотя для 4-кратной дозы в некоторых экспериментах наблюдалось небольшое снижение скорости размножения по сравнению с контролем). В то же время более существенное увеличение дозы (в 16 раз, до 200 мВт × 2 мин, или 2,76 Дж/см²) облучения вызывает уже заметный негативный эффект на рост клеток – число клеток, снятых после культивирования, оказывается достоверно ниже, чем в контроле.

Данные эксперимента с меланомными клетками MeWo показаны на рис. 1б. Результаты,

полученные на этих клетках, весьма близки к результатам, полученным на клетках Mel II, и за небольшими количественными отличиями показывают те же закономерности.

Поскольку результаты вышеописанных экспериментов обнаружили как активацию, так и негативный эффект облучения в зависимости от дозы, мы далее исследовали эффекты облучения на клетки при комбинации низкой (активирующей рост клеток) и повышенной (подавляющей рост клеток) доз. При этом низкая и повышенная доза разделялись интервалом в 30 мин или 3 ч. Полученные в этом эксперименте данные представлены на рис. 2. Результаты подтверждают выводы предыдущего эксперимента о том, что повышенная доза облучения вызывает подавление роста клеток Mel II

по сравнению с контрольными клетками. В то же время предоблучение малой дозой (25 мВт × 1 мин) за 30 мин до облучения повышенной дозой снимает негативные последствия последней. Более того, протекторный эффект малой дозы сохраняется в течение как минимум 3 ч, поскольку при использовании даже такого протяженного интервала между облучениями нейтрализующий эффект слабой дозы по-прежнему четко выражен. Как и для предыдущего эксперимента, закономерности, полученные на клетках Mel IL, также подтверждаются данными с клетками MeWo.

Чтобы выяснить минимальную величину интервала между предоблучением и облучением повышенной дозой, которая позволяет предоблучению оказывать протекторное действие, мы провели эксперимент с клетками MeWo, в котором предоблучение и облучение были разделены интервалами 5, 12 и 30 мин. Результаты (рис. 3а) показывают, что при интервале 5 мин предоблучение не оказывает протекторного действия, в то же время интервал 12 мин достаточен для значительной нейтрализации негативного эффекта повышенной дозы. Наибольший протекторный эффект, однако, наблюдается при 30-минутном интервале.

Мы далее задались вопросом, как протекторный эффект предоблучения связан с его дозой. Для этого был проведен эксперимент с клетками Mel IL, в котором применяли разные дозы предоблучения и после 30-минутного интервала проводили облучение повышенной дозой. Результаты (рис. 3б) показывают, что не только однократная малая доза (25 мВт × 1 мин) предоблучения частично нейтрализует негативное действие повышенной дозы облучения, но также половинная и двухкратная дозы обладают сопоставимым нейтрализующим эффектом.

Полученные в предыдущих экспериментах данные показали, что позитивное действие облучения на рост клеток наблюдается при узком диапазоне значений дозы, в то время как нейтрализующее действие предоблучения характеризуется относительно широким диапазоном действующих доз. В связи с этим мы исследовали, какой эффект может иметь предоблучение на стимуляцию роста клеток MeWo малыми дозами облучения. Результаты этого эксперимента, представленные на рис. 3в, показывают, что при введении предоблучения диапазон доз, в которых наблюдается стимуляция размножения клеток, существенно расширяется. Это выражается в том, что 2-кратные и 4-кратные дозы также значительно стимулируют размно-

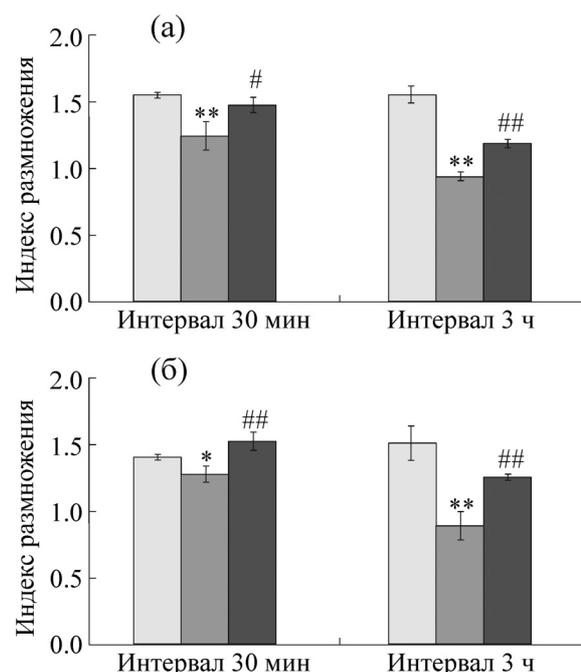


Рис. 2. Анализ эффекта предоблучения малыми дозами на действие повышенной дозы облучения на меланомные клетки: (а) – анализ влияния предоблучения на клетках Mel IL, (б) – анализ влияния предоблучения на клетках MeWo. Обозначения: светлые столбики – контрольные клетки, не подвергавшиеся облучению; серые столбики – клетки, подвергнутые облучению только повышенной дозой (200 мВт × 2 мин); темные столбики – клетки, подвергнутые предоблучению малой дозой (25 мВт × 1 мин), а затем, после интервала 30 мин или 3 ч – облучению повышенной дозой (200 мВт × 2 мин или 200 мВт × 2,5 мин соответственно). По *t*-критерию Стьюдента $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) по сравнению с необлученным контролем; $p < 0,05$ (#), $p < 0,01$ (##) по сравнению с облученными повышенной дозой клетками. Остальные обозначения – как на рис. 1.

жение, хотя и в меньшей степени, чем однократная доза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные в настоящем исследовании эксперименты показывают, что низкоинтенсивное инфракрасное лазерное облучение с длиной волны 835 нм способно оказывать действие на клетки меланомных линий Mel IL и MeWo, стимулирующее их деление. Полученные данные указывают на пороговый характер действия лазерного облучения на размножение меланомных клеток – половинная доза облучения является подпороговой и никак не влияет на размножение, в то же время однократная доза, являющаяся комбинацией двух подпороговых половинных доз, вызывает значительную акти-

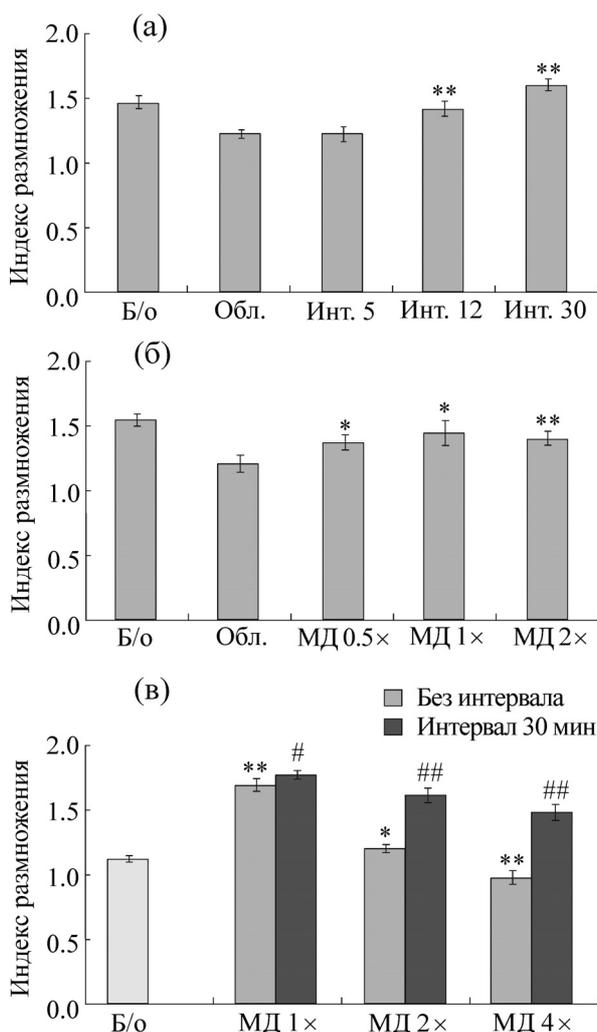


Рис. 3. Анализ влияния длины интервала и дозы на нейтрализующий эффект предоблучения или стимуляцию роста клеток. (а) – Влияние длины интервала между предоблучением и облучением повышенной дозой на нейтрализующий эффект предоблучения на клетках MeWo. Обозначения: б/о – контрольные клетки, не подвергавшиеся облучению; обл. – клетки, подвергнутые облучению только повышенной дозой (200 мВт × 2 мин); инт. 5, инт. 12, инт. 30 – клетки, подвергнутые предоблучению малой дозой (25 мВт × 1 мин), а затем, после интервала 5, 12 и 30 мин соответственно – облучению повышенной дозой (200 мВт × 2 мин). (б) – Влияние дозы предоблучения на его нейтрализующий эффект на клетках Mel II. Обозначения: б/о – контрольные клетки, не подвергавшиеся облучению; обл. – клетки, подвергнутые облучению только повышенной дозой (200 мВт × 2 мин); МД 0,5×, МД 1×, МД 2× – клетки, подвергнутые предоблучению малыми дозами (25 мВт × 0,5, 1 и 2 мин соответственно), а затем, после интервала 30 мин – облучению повышенной дозой (200 мВт × 2 мин). По *t*-критерию Стьюдента $p < 0,02$ (*), $p < 0,01$ (**). (в) – Влияние дозы второго раунда облучения на стимуляцию роста клеток MeWo. Обозначения: б/о – контрольные клетки, не подвергавшиеся облучению; МД 1×, МД 2×, МД 4× – клетки, подвергнутые облучению малыми дозами (25 мВт × 1, 2 и 4 мин соответственно). Варианты с интервалами (интервал 30 мин) МД 1×, МД 2×, МД 4× были подвергнуты предоблучению малой дозой (25 мВт × 0,5 мин), а затем, после интервала 30 мин, – второму облучению малыми дозами (25 мВт × 0,5 мин, 1,5 мин, 3,5 мин соответственно). По *t*-критерию Стьюдента, $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**). Для вариантов без интервала по сравнению с необлученным контролем, $p < 0,05$ (#), $p < 0,01$ (##) для вариантов с интервалом по сравнению с соответствующими вариантами без интервалов. Остальные обозначения – как на рис. 1.

вацию деления клеток. Важно, что для достижения эффекта две половинные дозы не обязательно должны следовать непосредственно друг за другом – если они разделены интервалом 30 мин, то позитивный эффект на размно-

жение клеток не только не падает, но, наоборот, оказывается достоверно выше, чем в отсутствие интервала. На основании этих результатов можно предположить, что первая полудоза облучения уже запускает определенные процессы,

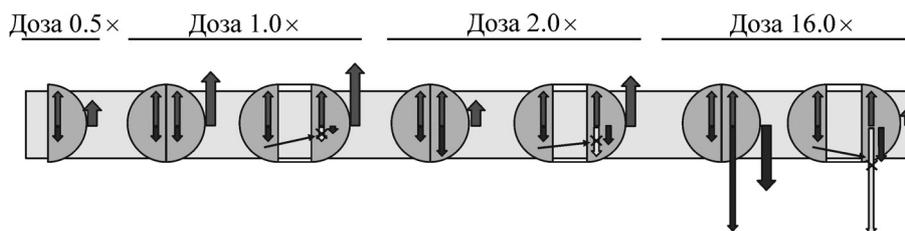


Рис. 4. Теоретическая схема, объясняющая полученные в работе эффекты инфракрасного лазерного облучения на размножение меланомных клеток. Подробное объяснение схемы см. в тексте. Для каждого варианта дозы, кроме 0,5-кратного, сначала приведен вариант без интервала, а затем вариант с интервалом. Стрелки, направленные вверх, обозначают позитивный компонент облучения, вниз – негативный компонент. Для вариантов с интервалом стрелки, идущие от первого облучения ко второму, обозначают нейтрализующий эффект предоблучения. Результирующая (баланс позитивного и негативного компонентов) в каждом случае показана справа, в виде более толстой стрелки. Область, закрашенная серым цветом, обозначает те значения результирующей, которые не влияют или оказывают небольшой эффект на рост клеток.

которые связаны с активацией деления клеток, но внешне не проявляются и непосредственно не вызывают изменений в поведении клеток, однако могут быть «проявлены» при применении второй полудозы.

Стимулирующее рост меланомных клеток низкоинтенсивное лазерное облучение не только обладает пороговым характером, но и характеризуется относительно узким дозовым диапазоном. При повышении дозы облучения в два и более раз стимулирующее действие почти полностью пропадает. При более значительном повышении дозы облучения наблюдается негативный эффект, что выражается в подавлении размножения клеток.

Нами также был обнаружен протекторный эффект малых доз, который выражается в том, что предоблучение малыми дозами обладает способностью снимать или уменьшать негативный эффект повышенных доз облучения на рост клеток. Протекторный эффект при этом возникает не мгновенно, а в результате относительно продолжительного процесса, занимающего от одной до нескольких десятков минут. При этом, один раз возникнув, протекторный эффект сохраняется довольно продолжительное время, не менее 3 ч и, вероятно, дольше. Важно, что протекторный эффект существенно менее зависим от величины дозы, чем эффект стимуляции размножения, и проявляется при тех дозах (половинной и двухкратной), при которых эффект стимуляции роста отсутствует. Однако при введении предоблучения область доз, стимулирующих рост клеток, также расширяется.

Ранее было показано, что предоблучение He-Ne-лазером с длиной волны 633 нм защищает В-лимфоциты [13] и опухолевые клетки MCF-7 [14] от повреждений ДНК, вызванных ультрафиолетовым светом или интенсивным инфракрасным светом соответственно. В настоя-

щей работе установлено, что протекторный эффект низкоинтенсивного предоблучения распространяется и на более ближнюю инфракрасную часть спектра и, более того, на негативное действие той же модальности, что и предоблучение. В целом же полученные данные о динамике ответа меланомных клеток на инфракрасное лазерное облучение в зависимости от дозы позволяют классифицировать этот ответ как один из видов гормезиса – феномена, при котором воздействие, вредное в больших дозах, в малых дозах оказывает позитивный эффект на организм.

Для объяснения зависимости эффектов облучения на клетки от дозы, мы предлагаем модель, графически представленную на рис. 4. В ее основе лежат следующие положения:

1. Действие инфракрасного лазерного облучения на клетки носит дуалистический характер, активируя как позитивно, так и негативно действующий на размножение клеток компонент.

2. Величина позитивного компонента ограничена и относительно постоянна в исследованных диапазонах доз, в то время как негативный компонент растет с увеличением дозы.

3. Итоговое действие излучения на рост клеток определяется балансом позитивного и негативного компонентов. При этом в определенной области невысоких значений баланса (обозначенной на рис. 4 серой зоной) эффект на размножение клеток невелик или вообще отсутствует.

4. Предоблучение малой дозой вызывает адаптивную реакцию клеток, которая значительно, но не полностью, нейтрализует негативный компонент, что приводит к сдвигу клеточных ответов в область стимуляции размножения для небольших (2x, 4x) доз или в область нейтральных, слабо позитивных или слабо не-

гативных значений ответов для повышенных доз облучения.

Разумеется, представленная модель не является единственной, способной удовлетворительно объяснить полученные в данной работе результаты. Например, можно также предположить, что позитивные эффекты малых доз по достижении определенного оптимума постепенно снижаются и далее меняют знак по мере увеличения дозы. Наши дополнительные данные (в работе не представлены), свидетельствующие о том, что увеличение числа мертвых клеток после культивирования наблюдается уже при самых минимальных исследованных дозах, говорят, однако, скорее в пользу модели, представленной на рис. 4.

Что касается механизмов, посредством которых лазерное облучение в видимой и ближней инфракрасной области оказывает наблюдаемые эффекты на клетки, то имеется точка зрения, основанная на работах Т. Кару и соавт. [15], что акцептором лазерного облучения в видимой и ближней инфракрасной области скорее всего является мультисубъединичный комплекс цитохром *c*-оксидазы митохондрий. Эта гипотеза подтверждается рядом данных, полученных на изолированных митохондриях. В частности, было показано, что облучение лазерным светом с длиной волны 633 нм [16] вызывает увеличение поглощения кислорода и активацию работы протонного насоса. Кроме того, подобное облучение вызывает усиление синтеза РНК и белка и репликацию ДНК в изолированных митохондриях [17,18]. Результаты, полученные на изолированных препаратах цитохром *c*-оксидазы, также согласуются с этими данными [19]. Таким образом, первичным акцептором лазерного излучения этой длины волны и, вполне возможно, использованного в нашей работе излучения длиной 835 нм можно считать митохондриальную цитохром *c*-оксидазу. В дальнейшей передаче сигналов, по-видимому, участвуют различные сигнальные пути. Так, на клетках COS-7 было показано [20], что стимулирующий пролиферацию эффект облучения низкими дозами (0,4–1,2 Дж/см²) облучения лазерным светом с длиной волны 633 нм обусловлен сигнальным путем PI3K/Akt. Также было показано, что подобная обработка активирует тирозинкиназу при посредстве активных форм кислорода [21]. Следует, однако, отметить, что эти данные были получены на клетках, которые до и после облучения культивировались в среде без сыворотки, что сильно отличается от стандартных условий культивирования с 10%-й сывороткой, использованных в нашей работе. В отсутствие сыворотки клетки делятся крайне

медленно, и в таких условиях стимуляцию пролиферации лазерным светом легче обнаружить. Вполне возможно, что в условиях культивирования с низким содержанием сыворотки диапазон доз, в которых облучение оказывает позитивное воздействие на размножение клеток, будет более широким.

Обращает на себя внимание, что обе использованные нами меланомные линии показали весьма близкие ответы на различные дозы облучения. Данное наблюдение позволяет предположить, что клетки меланомы человека в целом отвечают сходным образом на облучение различными дозами. Эту гипотезу, однако, необходимо проверить с использованием других меланомных линий человека. На основании полученных результатов возникает важный вопрос – насколько обнаруженная нами картина ответов на различные дозы инфракрасного лазерного облучения характерна для клеточных линий из опухолей других этиологий? Предварительные данные, полученные нами в ходе проводящихся в настоящее время экспериментов, свидетельствуют о том, что ответы меланомных клеток и клеток других опухолевых линий на облучение могут существенно отличаться. Более того, по этим данным различные клеточные линии обладают характерным и относительно специфическим паттерном ответов на различные дозы облучения. Можно предположить, что состояние митохондрий в клеточных линиях опухолей различных этиологий может различаться, что приводит к различиям в реакции опухолевых клеток на облучение.

ВЫВОДЫ

Лазерное излучение низкой интенсивности с длиной волны 835 нм оказывает воздействие на скорость размножения меланомных клеточных линий Mel IL и MeWo в культуре, при этом динамика ответов этих линий на лазерное облучение в целом весьма близка, несмотря на некоторые количественные отличия. Стимуляция размножения клеток происходит в относительно узком диапазоне доз (около 0,17 Дж/см²). При значительном увеличении дозы происходит, наоборот, торможение размножения. Предварительное облучение клеток малыми дозами защищает их от негативного действия повышенных доз, а также расширяет диапазон стимулирующего действия низких доз. Защитное действие малых доз развивается постепенно, в течение примерно 10–30 мин, и сохраняется в течение по крайней мере 3 ч.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда. Разработ-

ка концепции исследования, создание, калибровка и метрологическая поддержка работы установки для лазерного облучения были проведены за счет средств гранта № 14-25-00055, эксперименты с меланомными клетками и анализ результатов – за счет средств гранта № 14-35-00107.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. D. Baxter, *Therapeutic Lasers: Theory and Practice* (Churchill Livingstone, UK, 1994).
2. J. Tuner and L. Hode, *Low level laser therapy – clinical practice and scientific background* (Prima Books, Spjutvagen, 1999).
3. A. Schindl, M. Schindl, H. Pernerstorfer-Schön, and L. Schindl, *J. Invest. Med.* **48**, 312 (2000).
4. T. A. Henderson, *Neural Regen. Res.* **11**, 563 (2016).
5. T. I. Karu, *Ten Lectures on Basic Science of Laser Phototherapy* (Prima Books, Spjutvagen, 2007).
6. A. L. Pinheiro, N. S. Carneiro, A. L. Vieira, et al., *J. Clin. Laser Med. Surg.* **20**, 23 (2002).
7. J. L. Castro, A. L. Pinheiro, C. E. Werneck, and C. P. Soares, *Photomed. Laser Surg.* **23**, 586 (2005).
8. A. C. Renno, P. A. McDonnell, N. A. Parizotto, and E.L. Laakso, *Photomed. Laser Surg.* **25**, 275 (2007).
9. A. Bibikova and U. Oron, *Anat. Rec.* **235**, 374 (1993).
10. G. Shefer, T. A. Partridge, L. Heslop, et al., *J. Cell Sci.* **115**, 1461 (2002).
11. A. Stein, D. Benayahu, L. Maltz, and U. Oron, *Photomed. Laser Surg.* **23**, 161 (2005).
12. В. М. Чудновский, Г. Н. Леонова, С. А. Скопинов и др., *Биологические модели и физические механизмы лазерной терапии* (Дальнаука, Владивосток, 2002).
13. A. Dube, C. Bock, E. Bauer, et al., *Radiat. Environ. Biophys.* **40**, 77 (2001).
14. K. Sahu, S. K. Mohanty, and P. K. Gupta, *J. Biophotonics* **2**, 140 (2009).
15. T. I. Karu, *IUBMB Life* **62**, 607 (2010).
16. D. Pastore, M. Greco, V. A. Petragallo, and S. Passarella, *Biochem. Mol. Biol. Int.* **34**, 817 (1994).
17. M. Greco, G. Guida, E. Perlino, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **163**, 1428 (1989).
18. R. A. Vacca, E. Marra, E. Quagliariello, and M. Greco, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **195**, 704 (1993).
19. D. Pastore, M. Greco, and S. Passarella, *Int. J. Rad. Biol.* **76**, 863 (2000).
20. L. Zhang, D. Xing, X. Gao, and S. Wu, *J. Cell. Physiol.* **219**, 553 (2009).
21. J. Zhang, D. Xing, and X. Gao, *J. Cell. Physiol.* **217**, 518 (2008).

Effect of Infrared Laser Irradiation on Growth of Human Melanoma Cells in Culture

N.V. Andreeva*, K.V. Zotov**, Y.E. Yegorov*, M.V. Kalashnikova***, V.I. Yusupov**, V.N. Bagratashvili**, and A.V. Belyavsky*

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia

**Institute of Photon Technologies, Research Center of Crystallography and Photonics, Russian Academy of Sciences, Troitsk, ul. Pionerskaya 2, Moscow, 142092 Russia

***Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kashirskoye shosse 24, Moscow, 115478 Russia

Low intensity laser irradiation exerts effects on various biological objects and is currently exploited in various branches of medicine. From a practical point of view, irradiation in the near infrared range seems most interesting since it has the highest penetration ability for tissues of human organism. In the present work, we studied the effects of 835 nm infrared low intensity laser irradiation on two melanoma cell lines, Mel IL and MeWo, in culture. The data obtained indicate that the low intensity infrared irradiation impacts the growth rate of Mel IL and MeWo melanoma cell lines, and that the response dynamics of two cell lines are similar, in spite of certain quantitative differences. Stimulation of cell growth occurs within a relatively narrow range of low doses (about 0.17 J/cm²). With significantly higher doses, deceleration of growth occurs instead. Pre-treatment of cells with low dose radiation, however, protects them from the negative influence of higher doses. The protective action of low doses develops gradually, within about 10–30 min, and persists for at least 3 hours. Pre-radiation of cells also widens the dynamic range of stimulatory action with small dose radiation. A theoretical model explaining the dynamics of cellular responses to various irradiation doses has been proposed.

Key words: melanoma, cell growth, lasers, low intensity infrared laser irradiation, low doses, protective action