

## ЗАЩИТА ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ОТ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СТРАТЕГИИ «ПОЛЕЗНОЕ СОЛНЦЕ»

© 2017 г. А.Б. Гапеев, Д.А. Юршенас\*, А.А. Манохин, Р.Н. Храмов\* \*\*

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3

\*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3

\*\*ЗАО «Полисветан», 119049, Москва, ул. Донская, 4

E-mail: a\_b\_g@mail.ru

Поступила в редакцию 07.06.16 г.

Исследовано повреждающее действие света, излучаемого ртутной лампой ДРШ250-3, на ДНК лейкоцитов крови мыши *in vitro*. Показано, что основной повреждающий эффект обусловлен действием излучения в УФ-В-диапазоне (280–320 нм). В условиях комбинированного действия ультрафиолетового излучения и оранжево-красной люминесцентной компоненты обнаружено, что дополнительное люминесцентное излучение со спектральным максимумом 625 нм, полученное с помощью нанолюминофорных материалов (квантовые точки на основе CdSe/ZnS, CdSe/CdS/ZnS), защищает ДНК клеток от повреждающего действия ультрафиолетового излучения. С использованием наномолярных концентраций перекиси водорода проверена гипотеза о роли активных форм кислорода в реализации защитных эффектов оранжево-красного света *in vitro*. Впервые показано, что механизмы защитных эффектов связаны с индукцией адаптивного ответа наномолярными концентрациями перекиси водорода, индуцируемыми оранжево-красным светом.

*Ключевые слова:* ультрафиолетовое излучение, оранжево-красный свет, лейкоциты крови мыши, повреждение ДНК, комета-тест, перекись водорода, адаптивный ответ, стратегия «Полезное Солнце».

Негативное действие солнечного света на биологические системы обусловлено в основном ультрафиолетовым (УФ) излучением. Из-за поглощения излучения в УФ-С-диапазоне (< 280 нм) и большей части УФ-В-диапазона (280–320 нм) стратосферным озоновым слоем основное повреждающее действие оказывают излучение УФ-А-диапазона (320–400 нм) (95%) и УФ-В-диапазона (5%). Показано, что солнечное излучение способно вызывать путем различных механизмов повреждения клеточной ДНК [1]. При прямом возбуждении молекулы ДНК происходит генерация циклобутан-пиримидиновых димеров, 6-4-фотопродуктов пиримидина и тиминового димеров, которые имеют важное значение для цитотоксических, мутагенных и канцерогенных эффектов УФ-С и УФ-В. В диапазонах длин волн УФ-А и видимого света молекула ДНК поглощает очень слабо [2], и механизмы повреждения ДНК и генотоксических эффектов обусловлены действием ак-

тивных форм кислорода, которые возникают из-за светоокислородного эффекта [3]. С использованием «комета-теста» было обнаружено, что уровень повреждений ДНК, индуцированных солнечным светом, в моноцитах и лимфоцитах крови человека выше в летний период по сравнению с зимним [4,5]. Эти результаты указывают на то, что солнечный свет проникает достаточно глубоко, достигая микроциркуляторного русла кожи, и может оказывать как повреждающее, так и фотобиомодулирующее действие на клетки крови.

Стратегия фотобиомодуляции «Полезное Солнце», впервые сформулированная для живых систем [6], основана на использовании светопреобразующих фотолюминофорсодержащих материалов, поглощающих коротковолновое солнечное или искусственное излучение и преобразующих его в биостимулирующее оранжево-красное и/или инфракрасное излучение. Предпосылкой для разработки стратегии «Полезное Солнце» послужили исследования, в которых было установлено, что искусственное из-

Сокращение: УФ – ультрафиолетовый.

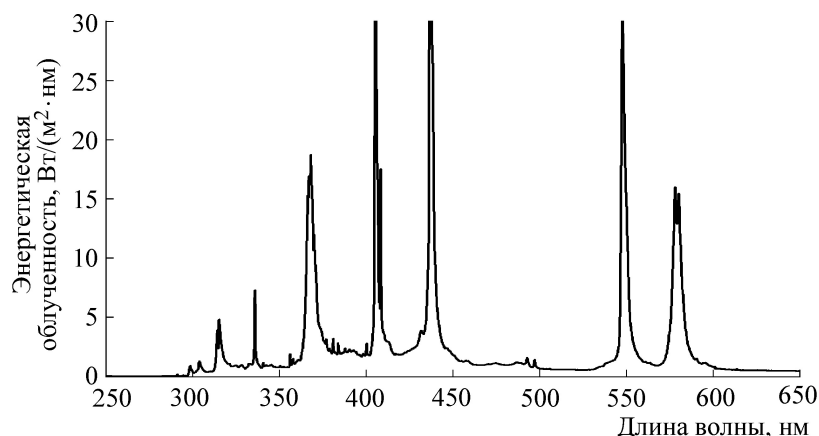


Рис. 1. Энергетический спектр ртутной лампы ДРШ 250-3.

лучение (лазерное, светодиодное, ламповое) красного и ближнего инфракрасного света оказывает лечебно-профилактическое действие, снижает интенсивность воспалительных реакций, повышает тканевую регенерацию, местную сопротивляемость и противоинфекционную защиту, оказывает ряд других позитивных изменений в живых системах [7,8]. Ранее на животных и человеке было впервые установлено, что стратегия «Полезное Солнце» (преобразование УФ-излучения) по сравнению со стратегией «Безопасное Солнце» (поглощение или экранирование УФ-излучения без преобразования) оказывает следующие положительные эффекты: а) сокращает до 30% сроки заживления трофических язв, длительно незаживающих ран, а также ожоговых ран кожи человека [9]; б) повышает с кумулятивным эффектом более чем в полтора раза физическую работоспособность адаптированных к нагрузке животных, с улучшением морфологических характеристик миокарда [10]; в) увеличивает в 2,8 раза число развивающихся в культуре эмбрионов мыши *in vitro* [11]; г) снижает уровень химически-индуцированных повреждений ДНК в лейкоцитах крови крыс [12,13]; д) улучшает функциональное состояние клеток *in vitro* и *in vivo* [14]. Эти данные демонстрируют универсальность стратегии «Полезное Солнце» и биостимулирующее действие преобразованного оранжево-красного света для живых систем.

Цель настоящей работы состояла в оценке повреждающего действия излучения УФ-А- и УФ-В-диапазонов на ДНК лейкоцитов крови мыши *in vitro*, возможности защиты клеточной ДНК от повреждений при действии оранжево-красного света и выяснении возможных механизмов защитного действия.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Получение биологических образцов.** Во всех экспериментах использовали взрослых мышей-самцов (возраст 2 месяца, масса 20–23 г) линии К $\nu$ :SHK. Мышей выращивали и содержали в контролируемых условиях при периодическом световом режиме 12 : 12, животные получали стандартную лабораторную диету и воду *ad libitum*.

Периферическую кровь мышей забирали из хвостовой вены в пробирки, содержащие фосфатный буфер с добавлением 1 мМ ЭДТА в качестве антикоагулянта. Для приготовления препаратов использовали цельную кровь, разведенную в 10 раз для того, чтобы конечная концентрация лейкоцитов в составе агарозных слайдов составляла около 0,5 млн/мл.

**Облучение ультрафиолетовым и оптическим излучением.** Для облучения использовали лампу ДРШ 250-3, спектр излучения которой представлен на рис. 1. Лампа ДРШ 250-3 была выбрана в качестве модельного источника света, поскольку она имеет линейчатый спектр в УФ-области спектра, а одной из решаемых задач была именно оценка повреждающего действия УФ компонент света. Для выделения отдельных областей спектра применяли светофильтры УФС5 (280–400 нм), УФС6 (300–395 нм), комбинация УФС5 с ЖС20 (260–340 нм) и поликарбонатный, не пропускающий УФ-излучение. Для получения в световом потоке дополнительной оранжево-красной компоненты применяли люминесцентный экран с нанолуминофором КТ625 на основе CdSe/ZnS и CdSe/CdS/ZnS (активный экран), спектр возбуждения которого располагается в области УФ, фиолетового и синего света [14]. Длина волны максимума дополнительного люминесцентного потока соответствовала 625 нм. В качестве референтного

контроля в этих экспериментах использовали такой же светообразующий экран, но с инaktivированным люминофором, структура квантовых точек в котором была нарушена за счет обработки 3%-й перекисью водорода («пассивный экран»). Толщину «пассивного экрана» подбирали таким образом, чтобы спектры пропускания обоих светообразующих экранов в УФ-области совпадали. Фильтры и светообразующие экраны размещали между световым источником – лампой и объектом – агарозными слайдами с иммобилизованными клетками. Слайды помещали в стеклянные чашки Петри диаметром 60 мм, заполненные 15 мл фосфатного буфера, для компенсации возможного нагрева в процессе облучения. Спектральные характеристики светофильтров и световые потоки, получающиеся при их использовании, определяли с помощью автоматизированного спектрометрического комплекса на базе монохроматора МДР-41 (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Россия) в диапазоне от 200 до 1000 нм, а энергетические характеристики определяли с помощью пиранометра СМР-3 (Kipp & Zonen, Нидерланды), обладающего постоянной спектральной чувствительностью в диапазоне от 310 до 2800 нм.

Энергетическая облученность суммарного светового потока от лампы ДРШ250-3 (без фильтров) составляла 100 мВт/см<sup>2</sup> на расстоянии 45 см от лампы. Длительность экспозиции лейкоцитов была выбрана равной 10, 20, 40 и 60 с, что соответствовало энергетическим экспозициям 1, 2, 4 и 6 Дж/см<sup>2</sup>. Энергетическая облученность светового потока в видимой области спектра (> 400 нм) составляла около 70 мВт/см<sup>2</sup> на расстоянии 45 см от лампы. Для создания соответствующих энергетических экспозиций (1, 2, 4 и 6 Дж/см<sup>2</sup>) время облучения равнялось 15, 30, 60 и 90 с. Исходя из этих оценок, доля УФ-компоненты в общей энергетической облученности составляла около 30 мВт/см<sup>2</sup> на расстоянии 45 см от лампы. Реальная доля УФ в суммарной энергетической экспозиции при облучении в течение 10, 20, 40 и 60 с составляла 0,3, 0,6, 1,2 и 1,8 Дж/см<sup>2</sup> соответственно. Аналогично были определены энергетические облученности светового потока в областях спектра 280–320 и 320–400 нм, которые составили около 4 и 26 мВт/см<sup>2</sup> на расстоянии 45 см от лампы. При облучении в течение 10 с энергетические экспозиции составили 0,04 и 0,26 Дж/см<sup>2</sup> соответственно. При использовании различных фильтров с учетом их характеристик пропускания длительность экспозиции выбирали таким образом, чтобы

обеспечить соответствие энергетических экспозиций.

**Обработка перекисью водорода.** Обработку клеток H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в концентрациях 0,1–30 мкМ осуществляли в составе микроскопных слайдов, которые инкубировали в присутствии соответствующих концентраций H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в течение 10 мин при 37°C. При комбинированном действии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и УФ-излучения процедуры УФ-облучения начинали непосредственно после обработки клеток H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в концентрациях 0,1–2 мкМ в течение 10 мин при 37°C.

**Анализ уровня повреждений ДНК в клетках** проводили с использованием щелочного варианта «комета-теста» с некоторыми модификациями [15]. Метод основан на анализе картины электрофореза индивидуальных клеток, ДНК которых окрашена флуоресцентным красителем [16]. Свое название метод получил из-за визуального сходства получаемых электрофореграмм с кометами: наблюдаются яркая флуоресцирующая «голова кометы» и «хвост», образующийся в результате миграции поврежденных или расплетенных участков ДНК после электрофореза в геле агарозы. Микроскопные слайды готовили из трех слоев 0,5%-й легкоплавкой агарозы (Serva, Германия) с клетками, иммобилизованными в средний слой. После различных воздействий слайды подвергали процедурам «комета-теста»: лизис клеток в лизирующем растворе (1%-й лаурилсаркозинат натрия, 2,5 М NaCl, 0,1 М ЭДТА, 0,01 М трис-HCl, pH 10,0, 1%-й тритон X-100) в течение 25 мин при 37°C; щелочная денатурация ДНК в щелочном растворе (0,3 М NaOH, 0,001 М ЭДТА, pH > 13) в течение 20 мин при 4°C; электрофорез в свежей порции щелочного раствора в течение 20 мин при 4°C в электрофоретической камере SE-1/S-1N (ООО «Компания Хеликон», Москва) при напряженности электрического поля 2 В/см и силе тока 300 мА; нейтрализация щелочи дистиллированной водой; окрашивание ДНК в фосфатном буфере, содержащем 1 мкг/мл бромистого этидия, в течение 1 ч. Перед анализом каждый слайд в течение 5 мин промывали в дистиллированной воде и накрывали покровным стеклом. Все процедуры проводили при искусственном освещении с использованием ламп накаливания во избежание возникновения дополнительных повреждений ДНК в клетках. Препараты анализировали с использованием аппаратно-программного комплекса «Комет Эксперт» (ООО «Ген Эксперт», Пушкино). В качестве индикатора величины повреждения ДНК использовали процентное содержание ДНК в «хвосте кометы» [17]. Из каждого образца крови гото-

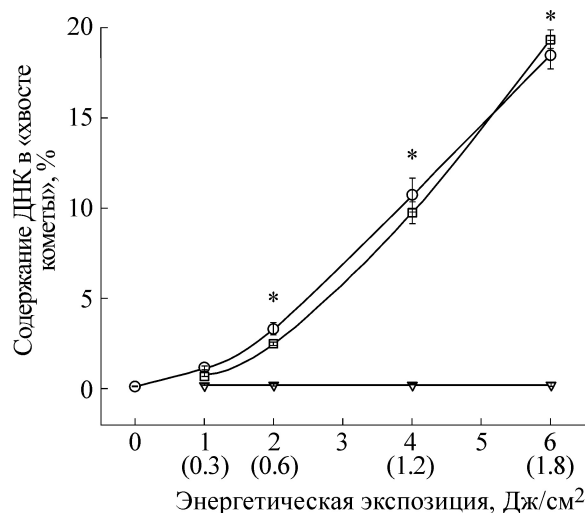
вили необходимое число слайдов в соответствии с числом воздействий. На каждом слайде регистрировали по 30–50 изображений «комет», по которым рассчитывали средний уровень процентного содержания ДНК в «хвосте кометы». Средние значения и стандартные ошибки среднего для каждого варианта воздействия вычисляли по результатам независимых экспериментов ( $n \geq 9$ ).

**Статистический анализ.** Все эксперименты проведены по протоколу «слепого контроля», когда экспериментатор, проводивший измерения, не знал, какие воздействия были использованы. Все данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка. Поскольку все данные имели нормальное распределение (по тесту Колмогорова–Смирнова), то статистический анализ проводили с использованием ANOVA и критерия Даннета для множественного сравнения ( $p < 0,01$ ), при парном сравнении групп данных использовали критерий Стьюдента ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При облучении лейкоцитов крови мыши суммарным излучением от лампы ДРШ250-3 без фильтров были обнаружены повреждения клеточной ДНК, уровень которых увеличивался при увеличении энергетической экспозиции в диапазоне от 1 до 6 Дж/см<sup>2</sup> (рис. 2). Для конструирования светопреобразующих экранов и выбора определенного люминофора важно было выяснить, какие области спектра оказывают наибольшее повреждающее действие на ДНК лейкоцитов. С помощью поликарбонатного фильтра мы выделили область спектра больше 400 нм. Воздействие излучения с данными спектральными характеристиками не вызвало повреждений ДНК клеток (рис. 2). Следует отметить, что световой поток в диапазоне 400–650 нм не вызывал повреждений ДНК даже при увеличении экспозиции до 20 мин (данные не представлены), т.е. повреждения ДНК при действии суммарного излучения от лампы ДРШ250-3 индуцировались, вероятно, световым потоком в диапазоне 280–400 нм. В отдельной серии экспериментов с применением фильтра УФС5, выделяющего УФ-область спектра, это предположение было проверено и показано, что действительно результаты по действию суммарного излучения и УФ-излучения при соответствующих энергетических экспозициях совпадают в пределах ошибки измерений (рис. 2).

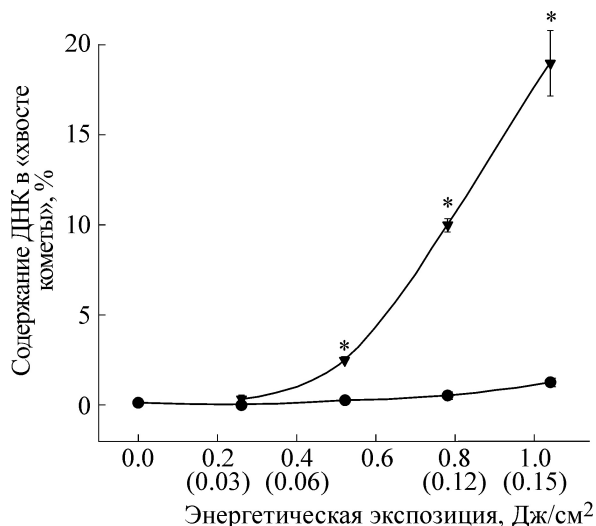
Для исследования действия различных компонент УФ-излучения выделяли УФ-А-диапазон с помощью фильтра УФС6 и УФ-В-диапазон –



**Рис. 2.** Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши при действии излучения от ртутной лампы ДРШ250-3 без фильтров (кружки), с использованием поликарбонатного фильтра (треугольники) и УФС5 (квадраты). Поликарбонатный фильтр пропускает свет в спектральной области более 400 нм, УФС5 – в диапазоне 280–400 нм. В скобках по оси абсцисс указаны энергетические экспозиции для УФ-области спектра. \* $p < 0,001$  по критерию Даннета относительно контроля и уровня повреждений под действием видимой области спектра.

с помощью комбинации фильтров УФС5 + ЖС20. При облучении клеток излучением УФ-А-диапазона (320–400 нм) были обнаружены слабые повреждения ДНК. При облучении клеток излучением УФ-В-диапазона (280–320 нм) был выявлен высокий уровень повреждений ДНК, возрастающий с увеличением энергетической экспозиции. Таким образом, установлено, что при действии излучения от лампы ДРШ250-3 на лейкоциты крови мыши основные повреждения ДНК вызывает излучение УФ-В-диапазона (рис. 3).

Для защиты от УФ-излучения в последние годы эффективно применяются светопреобразующие экраны на основе нанолюминофоров. Стратегия «Полезное Солнце» широко используется в биотехнологиях, для стимуляции развития растений [18], для стимуляции динамики численности микроорганизмов загрязненных почв [19], перспективна в биомедицине и спорте для увеличения физической работоспособности, для лечения ран кожи и ожогов сетчатки [9]. Для оценки защитного действия оранжево-красного света при повреждении ДНК клеток УФ-излучением мы применяли люминесцентные экраны (с активным и инактивированным люминофором). Энергетические спектры световых потоков, проходящих через эти экраны, были идентичны в УФ-области за счет подбора тол-



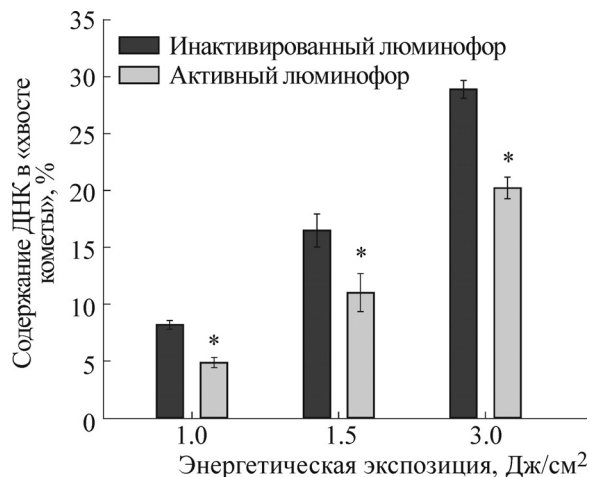
**Рис. 3.** Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши при действии излучения от ртутной лампы ДРШ250-3 с использованием фильтров УФС6 (кружки) и УФС5 + ЖС20 (треугольники). В скобках по оси абсцисс указаны энергетические экспозиции для УФ-В-излучения. \* $p < 0,001$  по критерию Даннета относительно контроля и уровня повреждений под действием УФ-А-излучения.

щины пассивного экрана и различались в видимой области спектра, в том числе наличием малой, не более 1%, добавка в полосе  $625 \pm 20$  нм. Энергетическая облученность светового потока в УФ-области (280–400 нм) для обоих экранов составляла около 8 мВт/см<sup>2</sup>. Сравнительный анализ повреждений ДНК при облучении клеток через эти экраны показал, что при активном люминофоре наблюдался защит-

Зависимость повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши от концентрации  $H_2O_2$

Концентрация $H_2O_2$ , мкМ	Содержание ДНК в «хвосте кометы», %
Контроль	$0,12 \pm 0,06$
0,1	$0,26 \pm 0,08$
0,3	$0,30 \pm 0,08$
1,0	$0,37 \pm 0,08^*$
2,0	$0,42 \pm 0,05^*$
5,0	$0,76 \pm 0,18^*$
10,0	$1,54 \pm 0,33^*$
20,0	$5,60 \pm 0,34^*$
30,0	$6,84 \pm 0,57^*$

Примечание. Клетки инкубировали в присутствии перекиси водорода в различных концентрациях в течение 10 мин при 37°C. \* $p < 0,05$  – отличия достоверны по сравнению с контролем по критерию Стьюдента.



**Рис. 4.** Повреждения ДНК в лейкоцитах крови мыши при действии излучения от лампы ДРШ250-3 с использованием экранов с активным и инактивированным нанолуминофорами, указаны энергетические экспозиции для УФ-области спектра (280–400 нм). \* $p < 0,03$  – отличия между группами достоверны по критерию Стьюдента.

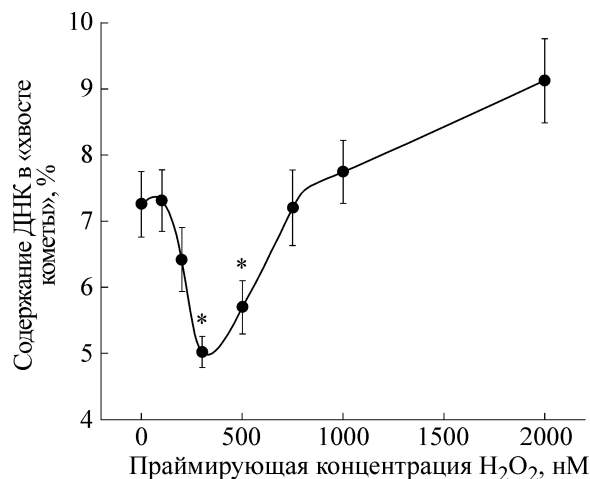
ный эффект, уровень повреждений ДНК снижался в среднем на 30% по сравнению с инактивированным люминофором (рис. 4).

Мы предположили, что защитное действие оранжево-красного света может быть обусловлено действием активных форм кислорода в низких регуляторных концентрациях. Ранее было обнаружено, что под действием оранжево-красного света в водных растворах продуцируются перекись водорода и гидроксильные радикалы в наномолярных концентрациях, которые могут быть медиаторами защитного эффекта [13]. Чтобы напрямую проверить это предположение, исследовали действие экзогенной перекиси водорода в концентрациях от 100 нМ до 30 мкМ на ДНК лейкоцитов крови мыши. Обнаружено, что  $H_2O_2$  в концентрациях  $< 1$  мкМ не вызывала повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши, а при концентрациях  $> 1$  мкМ повреждения ДНК в клетках увеличивались с ростом концентрации (таблица). Учитывая продукцию перекиси водорода в наномолярных концентрациях под действием оранжево-красного света и наличие защитного эффекта оранжево-красного света, мы исследовали комбинированное действие низких концентраций перекиси водорода (100–2000 нМ) и излучения УФ-В-диапазона в повреждающей дозе 0,1 Дж/см<sup>2</sup>, при которой уровень повреждений ДНК был не слишком высок. Предварительная инкубация клеток в присутствии экзогенной  $H_2O_2$  в концентрациях 300–500 нМ в течение 10 мин при 37°C приводила к снижению

уровня повреждений ДНК, индуцируемых УФ-В-излучением, в среднем на 25–30% (рис. 5).

Адаптивный ответ является одним из механизмов защитного действия и представляет собой универсальную реакцию клеток на воздействие в малых дозах, выражающуюся в повышении устойчивости к поражающему действию в больших дозах [20,21]. «Прекондиционирование» в биомедицине может индуцировать адаптивный ответ, лежащий в основе защитного действия от различных агентов, обладающих мутагенными и генотоксическими свойствами [22,23]. По мнению многих исследователей, механизмы адаптивного ответа лежат в области работы репарационных систем клетки [24,25]. Адаптивный ответ может запускаться и переключаться различными индукторами стресса, в том числе повышением температуры и другими физическими воздействиями, биологически активными веществами, а также активными формами кислорода.

Детальные механизмы индукции адаптивного ответа к настоящему времени, к сожалению, не выяснены. Установлено, что микромолярные концентрации перекиси водорода способны индуцировать *de novo* синтез большого числа белков, которые участвуют в энергетическом метаболизме, сигнализации, трансляции, транскрипции, репарации ДНК, регуляции окислительно-восстановительного потенциала, стрессовых реакциях, апоптозе, фолдинге белков и др. [23,26]. Показано, что микромолярные концентрации перекиси водорода способны активировать системы антиоксидантной защиты, включая увеличение активности таких ферментов, как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионредуктаза и глутатионпероксидаза [27]. Низкие концентрации перекиси водорода способны стимулировать экспрессию противоапоптозного белка Bcl-2 [23], увеличение которого в клетке может подавлять расщепление поли(АДФ-рибоза)-полимеразы 1, которая активируется при появлении одонитевых разрывов ДНК и участвует в репарации ДНК [28]. Таким образом, увеличение уровня Bcl-2 и подавление кливеджа поли(АДФ-рибоза)-полимеразы 1 может защищать клетку от апоптоза и повреждений ДНК, вызываемых более мощными генотоксикантами. Обнаружено, что наномолярные концентрации перекиси водорода способны оказывать радиозащитное действие при повреждении ДНК лейкоцитов крови мыши рентгеновским излучением [29]. Эти и другие экспериментальные данные указывают на то, что адаптивный ответ является комплексной реакцией, затрагивающей широкий спектр клеточных функций.



**Рис. 5.** Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши при комбинации действия экзогенной перекиси водорода в концентрациях 100–2000 нМ и УФ-В-излучения в дозе 0,1 Дж/см<sup>2</sup> от лампы ДРШ250-3. \**p* < 0,05 – отличия достоверны по сравнению с контролем (0 нМ) по критерию Стьюдента.

Полученные нами результаты и литературные данные дают возможность предположить, что образовавшиеся под действием оранжево-красного света активные формы кислорода и азота могут оказывать на клетки регуляторное действие. Механизмы защитного эффекта могут быть связаны с дополнительной экспрессией и усилением активности ферментов репарации ДНК. Обнаруженные нами эффекты представляются достаточно важными с точки зрения новых возможностей и способов защиты ДНК клеток от повреждающего действия генотоксических факторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Московской области (проект № 14-44-03672-р\_центр\_а).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. J. Cadet, E. Sage, and T. Douki, *Mut. Res.* **571**, 3 (2005).
2. C. A. Jones, E. Huberman, M. L. Cunningham, and M. J. Peak, *Radiat. Res.* **110**, 244 (1987).
3. С. В. Гудков, О. Э. Карп, С. А. Гармаш и др., *Биофизика* **57**, 5 (2012).
4. P. Moller, H. Wallin, E. Holst., and L. Knudsen, *FASEB J.* **16**, 45 (2002).
5. S. I. Tsilimigaki, N. Messini-Nikolaki, M. Kanariou, and S. M. Piperakis, *Mutagenesis* **18**, 139 (2003).
6. R. N. Khramov, L. R. Bratkova, A. B. Gapeyev, et al., in: *Biological Effects of Light – 1995*, Ed. by M. F. Holick and E. G. Jung (Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1996), pp. 192–194.

7. Низкоинтенсивная лазерная терапия, под ред. С. В. Москвина и В. А. Буйлина (ОО «Техника», М., 2000).
8. N. A. Zhevago and K. A. Samoilova, *Photomed. Laser Surg.* **24**, 129 (2006).
9. А. В. Воробьев, Р. Н. Щелоков, Р. Н. Храмов и др., Патент RU97103974, 20.04.1999.
10. Р. Н. Храмов, И. М. Санталова, Л. И. Фахранурова и др., *Биофизика* **55**, 507 (2010).
11. А. С. Чернов, Д. А. Решетников, Л. И. Фахранурова и др., *Medline.ru* **14**, 295 (2013).
12. Р. Н. Храмов, А. Б. Гапеев, С. И. Паскевич и др., *В мире научных открытий*, № 6-3, 397 (2010).
13. А. Б. Гапеев, Л. И. Фахранурова, С. И. Паскевич и др., *Технологии живых систем* **9**, 16 (2012).
14. Р. Н. Храмов, Л. И. Фахранурова, С. И. Паскевич и др., *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **158**, 436 (2014).
15. А. Б. Гапеев и Н. А. Лукьянова, *Биофизика* **60**, 889 (2015).
16. O. Ostling and K. J. Johanson, *Biochim. Biophys. Res. Comm.* **123**, 291 (1984).
17. N. P. Singh, M. T. McCoy, R. R. Tice, and E. L. Schneider, *Exp. Cell. Res.* **175**, 184 (1988).
18. А. Е. Иваницкий, А. С. Минич, Е. С. Буценко и др., в сб. *Материалы X международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии»* (Севастополь, 2015), т. 10, сс. 60–64.
19. Л. И. Сваровская, Л. К. Алтунина и Д. А. Филатов, *Прикладная биохимия и микробиология* **44**, 647 (2008).
20. G. Olivieri, J. Bodycote, and S. Wolff, *Science* **223**, 594 (1984).
21. C. Stecca and G. B. Gerber, *Biochem. Pharmacol.* **55**, 941 (1998).
22. V. I. Lushchak, *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* **153**, 175 (2011).
23. Q. Wei, H. Huang, L. Yang, et al., *Environ. Toxicol.* **29**, 478 (2014).
24. L. Samson and J. L. Schwartz, *Nature* **287**, 861 (1980).
25. M. C. Joiner, P. Lambin, and B. Marples, *C. R. Acad. Sci. III* **322**, 167 (1999).
26. J. K. Seong, D. K. Kim, K. H. Choi, et al., *Exp. Mol. Med.* **34**, 374 (2002).
27. G. Yan, Z. Hua, G. Du, and J. Chen, *Curr. Microbiol.* **52**, 238 (2006).
28. D. Nguyen, M. Zajac-Kaye, L. Rubinstein, et al., *Cell Cycle* **10**, 4074 (2011).
29. А. В. Гапеев, Н. А. Лукьянова, and S. V. Gudkov, *Cent. Eur. J. Biol.* **9**, 915 (2014).

## Protection of DNA in Blood Leukocytes from Damaging Action of Ultraviolet Radiation with the Use of “Useful Sun” Strategy

A.B. Gapeyev\*, D.A. Yurshenas\*\*, A.A. Manokhin\*, and R.N. Khramov\*\*\* \*\*

\*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

\*\*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

\*\*\*Polisvetan Ltd, ul. Donskaya 4, Moscow, 119049 Russia

The damaging effect of light emitted by a DRSH250-3 mercury lamp on DNA of mouse blood leukocytes was studied *in vitro*. It was shown that the main DNA damage is due to the action of UV-B (280–320 nm). Under the combined effects of UV radiation and the orange-red fluorescent component, it was found that the additional fluorescent light with the spectral maximum of 625 nm, obtained by nanoluminophore materials (quantum dots based on CdSe/ZnS, CdSe/CdS/ZnS), protects cellular DNA from the damaging effect of UV radiation. Using nanomolar concentrations of hydrogen peroxide, the hypothesis on a role of reactive oxygen species in the implementation of the protective effects of red-orange light was tested *in vitro*. It was shown for the first time that the mechanisms of the protective effects are associated with the induction of adaptive response by nanomolar concentrations of hydrogen peroxide induced by the orange-red light.

*Key words:* ultraviolet radiation, orange-red light, mouse blood leukocytes, DNA damage, comet assay, hydrogen peroxide, adaptive response, “Useful Sun” strategy