

ПРОЛИФЕРАЦИЯ И ТУМОРОГЕННОСТЬ КЛЕТОК ГЕПАТОМЫ МЫШИ, ОБЛУЧЕННЫХ ПОЛИХРОМАТИЧЕСКИМ ВИДИМЫМ И ИНФРАКРАСНЫМ СВЕТОМ

© Н. А. Князев, Н. А. Филатова, К. А. Самойлова¹

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;

¹электронный адрес: nickolayknz@gmail.com

В экспериментах *in vitro* изучали влияние полихроматического видимого света, сочетанного с инфракрасным (ВИД-ИК, 480—3400 нм), и полного спектра видимого излучения (ВИД, 385—750 нм) на жизнеспособность и пролиферативную активность клеток мышевой гепатомы МГ22а. Изменение туморогенных свойств клеток МГ22а после тех же воздействий изучали в экспериментах *in vivo*. Показано, что облучение клеток гепатомы двумя видами полихроматического света в широком диапазоне доз (4.8—38.4 Дж/см²) не увеличивало долю погибших клеток, не замедляло их пролиферацию в течение 24—72 ч после облучения, а даже способствовало через 24 ч более интенсивной пролиферации клеток. У клеток, облученных ВИД-ИК в дозе 4.8 Дж/см² и ВИД в дозе 38.4 Дж/см², возрастал пролиферативный индекс (в 1.6 и 1.4 раза соответственно). Эксперименты *in vivo* показали, что в течение 30 сут после трансплантации сингенным мышам клеток, облученных ВИД-ИК в дозе 4.8 Дж/см², объем опухоли снижался (в 2.6—4.1 раза) на всех сроках наблюдения, при этом снижалась и прививаемость облученных клеток, а выживаемость мышей-опухоленосителей не менялась. Трансплантация клеток, облученных тем же светом в дозе 9.6 Дж/см², не приводила к изменению объема и прививаемости опухолей по сравнению с контролем. Основной вклад в противоопухолевое действие ВИД-ИК, по-видимому, вносит ВИД-компонент. ИК-компонента усиливает противоопухолевое действие ВИД, в результате чего оно проявляется в 8 раз меньшей дозе (4.8 Дж/см²).

Ключевые слова: видимое и инфракрасное излучение, мышьяная гепатома 22а, пролиферация, туморогенность.

После экспериментального обоснования в 70—80-х годах прошлого века иммуносупрессивного и проканцерогенного действия ультрафиолетового (УФ) излучения его использование в лечебно-профилактических целях резко сократилось, и в физиотерапии стало применяться монохроматическое и узкополосное излучение лазеров и светодиодов видимого (ВИД) и ближнего инфракрасного (ИК) диапазонов. За прошедшие годы было выявлено поразительное разнообразие эффектов этих видов излучения на организменном и клеточно-тканевом уровнях. Благодаря противовоспалительному, иммуномодулирующему, ранозаживляющему и анальгезирующему действию, улучшению гемореологии, гемостаза и микроциркуляции ВИД- и ИК-излучения могут быть эффективны при заболеваниях различного этиопатогенеза. Однако их применение часто сдерживается из-за опасения стимуляции роста злокачественных опухолей, поскольку уже многие годы известно, что оба излучения способны стимулировать пролиферацию не только нормальных, но и опухолевых клеток, во всяком случае у лабораторных животных.

Проведенный нами анализ литературы, опубликованной за последние 30 лет, свидетельствует о большой противоречивости данных (Князев и др., 2010). Наряду с публикациями, демонстрирующими стимулирующее влияние ВИД и ближнего ИК-света на пролиферацию опухолевых клеток в культуре (Mester et al., 1971;

Karu et al., 1987; Sroka et al., 1999; Pinheiro et al., 2002; De Castro et al., 2005; Renno et al., 2007) и на рост трансплантированных злокачественных опухолей у лабораторных животных (Ильина, 1980; Москалик, Козлов, 1980; Зырянов и др., 1998; Frigo et al., 2009), имеется значительное количество работ, демонстрирующих как отсутствие стимулирующего влияния света на эти процессы, так и их подавление (Ильина 1980; Abe et al., 1993; Morales et al., 1995; Зырянов и др., 1997, 1998; Liu et al., 2006).

Максимальный противоопухолевый эффект развивается или после прямого облучения опухолей (McGuff et al., 1964; Бондарь и др., 1981; Сенин и др., 1984; Abe et al., 1993; Теплов и др., 1995), или после облучения у животных области трансплантации опухолей в самые ранние сроки (Москалик, Козлов, 1980; Abe et al., 1993; Зырянов и др., 1997, 1998). На основании этих данных сложилось представление о том, что подавление пролиферативной активности опухолевых клеток в условиях *in vivo* связано с их прямым повреждением световым воздействием (Плетнев, Карпенко, 1985). К настоящему времени описана противоопухолевая эффективность как ВИД, так и ближнего ИК-излучения. Однако остается неизученным действие на опухолевые клетки и злокачественные образования полихроматического ВИД и ИК-излучения — основных видов естественной радиации Солнца, составляющих около 97 % ее энергии. Нельзя

исключить того, что сочетание излучений ВИД и ИК (важнейших факторов окружающей среды) могло в процессе эволюции способствовать формированию в организме человека и животных специальных механизмов, способных нейтрализовать иммуносупрессивное и про-канцерогенное действие миорной компоненты солнечной радиации — УФ-лучей.

В связи с вышеизложенным в настоящей работе была поставлена задача выяснить, какое влияние на пролиферацию и туморогенность опухолевых клеток оказывает их облучение полихроматическим ВИД-ИК, близким по спектральному диапазону и интенсивности к солнечному свету. В качестве объекта исследования нами были выбраны клетки МГ22а, пролиферацию и туморогенные свойства которых можно изучать как в условиях *in vitro*, так и в условиях *in vivo* после трансплантирования синтезированным мышам СЗНА. Выявляли роль каждой компоненты полихроматического излучения (ВИД и ИК) в их действии на опухолевые клетки.

Материал и методика

Клетки МГ22 а были получены из Банка клеточных культур Института цитологии РАН. Клетки культивировали в среде ДМЕМ (Биолот, Россия) с добавлением 10 % телячей эмбриональной сыворотки (Биолот, Россия) и 40 мкг/мл гентамицина (Sigma, США). Для облучения клетки МГ22а рассевали в 6-луночные планшеты по $2 \cdot 10^5$ клеток на лунку. Перед облучением культуральную среду заменяли на фосфатно-солевой буферный раствор (PBS). После облучения PBS снова заменяли на среду культивирования.

Облучение клеток. Источником сочетанного ВИД-ИК, близкого по спектральному диапазону и интенсивности к солнечному свету в летний безоблачный полдень в Центральной Европе (480—3400 нм, 40 мВт/см², 95 % поляризации), служил фототерапевтический аппарат Bioptron-2 (Bioptron AG, Швейцария). Полный спектр ВИД (380—750 нм, 40 мВт/см², 95 % поляризации) получали от фототерапевтического аппарата Q-light (P&B AG, Швейцария). Равная плотность мощности излучений, генерируемых этими источниками, позволяла их использовать при одинаковых экспозициях в разных дозах (4.8, 9.6 и 38.4 Дж/см²).

Оценку жизнеспособности и пролиферативной активности клеток проводили с помощью проточного цитометра EPICS XL (Beckman Coulter, США). Контролем служили необлученные клетки. Для подсчета количества мертвых клеток к клеточной суспензии добавляли йодид пропидия в концентрации 0.05 мг/мл. После инкубации в течение 5 мин при комнатной температуре пробы анализировали на проточном цитометре. В качестве показателя пролиферативной активности клеток использовали индекс пролиферации (ИП) — отношение числа клеток на определенном сроке культивирования к их числу в предыдущий период.

Трансплантация мышам СЗНА клеток синтезированной гепатомы МГ22а. Самок мышей СЗНА (18—20 г) получали из питомника РАМН «Рапполово» (Санкт-Петербург). Через 24 ч после облучения клетки гепатомы трансплантировали мышам подкожно в область спины ($5 \cdot 10^4$ клеток на 1 мышь). Время появления опухолей, их размер и сроки гибели мышей с опухолями регистрировали 1 раз в 5 сут в течение 15—60 сут после

трансплантации опухолевых клеток. Объем опухолей рассчитывали по формуле (Хавинсон и др., 2001):

$$V = \frac{4}{3\pi} \left(\frac{L}{2} \right) \left(\frac{D}{2} \right)^2,$$

где L — максимальный диаметр опухоли, D — минимальный диаметр мм. Прививаемость опухолевых клеток оценивали по количеству животных с опухолью до начала гибели опухоленосителей. Всего было использовано 250 мышей, разделенных на соответствующие группы. Мышиам контрольной группы трансплантировали клетки гепатомы без облучения. Мыши в опыте были разделены на 4 группы. Мышиам 1-й и 2-й групп трансплантировали клетки, облученные ВИД-ИК в дозах 4.8 и 9.6 Дж/см² соответственно, группам 3 и 4 трансплантировали клетки, облученные только ВИД в дозах 9.6 и 38.4 Дж/см². В каждой группе мышей было от 6 до 10 животных. Были проведены 4 серии опытов.

Для статистической обработки результатов использовали параметрические и непараметрические методы для зависимых результатов (*t*-тест Стьюдента и *W*-критерий Вилкоксона).

Результаты

Трансплантацию мышам клеток МГ22а проводили через 24 ч после их облучения полихроматическим светом двух видов излучения в условиях *in vitro*. При такой схеме эксперимента представлялось возможным охарактеризовать жизнеспособность и пролиферативную активность трансплантируемых опухолевых клеток через 24, 48 и 72 ч после их облучения одновременно с введением клеток мышам. Мы исследовали результаты трансплантации мышам разных доз клеток МГ22а: $5 \cdot 10^4$ и 10^5 клеток на 1 мышь. Поскольку закономерности изменения туморогенных свойств облученных опухолевых клеток оказались одинаковыми, мы приводим данные только для случаев трансплантации наименьшего количества трансплантированных клеток ($5 \cdot 10^4$).

В день облучения доля погибших клеток МГ22а в культуре составила $7.6 \pm 0.5\%$. Из данных таблицы следует, что облучение клеток гепатомы двумя видами полихроматического света не влияло на долю погибающих при культивировании клеток МГ22а в течение 24—72 ч.

Через 24 ч после облучения, т. е. в день трансплантации мышам, количество клеток относительно контроля было выше после облучения ВИД-ИК в дозе 4.8 Дж/см² и ВИД в дозе только 38.4 Дж/см² (в 1.6 и 1.4 раза соответственно). Через 48 ч культивирования количество клеток в контроле увеличивалось больше, чем у клеток, облученных ВИД-ИК (4.8 Дж/см²), и у этих же клеток через 24 ч после облучения. Через 72 ч культивирования ИП необлученных клеток и клеток, облученных двумя видами полихроматического света во всех использованных дозах, снижался до величины 1.5 по сравнению с временной точкой 48 ч и оказывался самым низким за три срока наблюдений. Таким образом, использованный нами спектральный диапазон двух видов полихроматического излучения (ВИД-ИК 4.8 Дж/см² и ВИД 38.4 Дж/см²) не вызывал торможения пролиферации клеток гепатомы, а в 1-е сут даже способствовал ее стимуляции (рис. 1).

Гибель клеток МГ22а в течение 24—72 ч после облучения полихроматическим видимым светом, сочетанным с инфракрасным (ВИД-ИК), и полным спектром видимого излучения (ВИД) в различных дозах

Время после облучения, ч	Доля погибших клеток в культуре при облучении, %						
	контроль	ВИД-ИК, Дж/см ²			ВИД, Дж/см ²		
		0	4.8	9.6	38.4	4.8	9.6
24	7.4 ± 0.7	7.2 ± 1.2	7.8 ± 2.1	7.3 ± 1.8	5.5 ± 1.3	6.8 ± 1.5	6.6 ± 0.8
48	7.8 ± 0.9	9.5 ± 1.1	9.0 ± 1.1	9.2 ± 0.9	8.7 ± 0.6	8.3 ± 0.9	7.5 ± 0.7
72	10.0 ± 1.5	12.3 ± 2.1	12.0 ± 1.6	9.6 ± 1.5	12.6 ± 1.0	11.4 ± 1.6	10.5 ± 0.9

Примечание. Достоверных изменений по сравнению с контролем нет.

Динамика роста опухоли после трансплантации мышам клеток сингенной гепатомы, облученных ВИД-ИК и только ВИД, представлена на рис 2. Изменение объема опухолей у мышей в опыте и контроле регистрировали в течение 30 сут после трансплантации до момента начала гибели животных. После трансплантации клеток, облученных ВИД-ИК в дозе 4.8 Дж/см², объем опухоли был меньше,

чем в контроле, на всех сроках наблюдения, тогда как при трансплантации клеток, облученных тем же светом в более высокой дозе (9.6 Дж/см²), объем опухоли не менялся.

После трансплантации клеток, облученных ВИД в дозе 38.4 Дж/см², объем опухоли был также меньше на всех сроках наблюдения. Облучение трансплантируемых клеток в дозе 9.6 Дж/см² на объем опухолей не влияло.

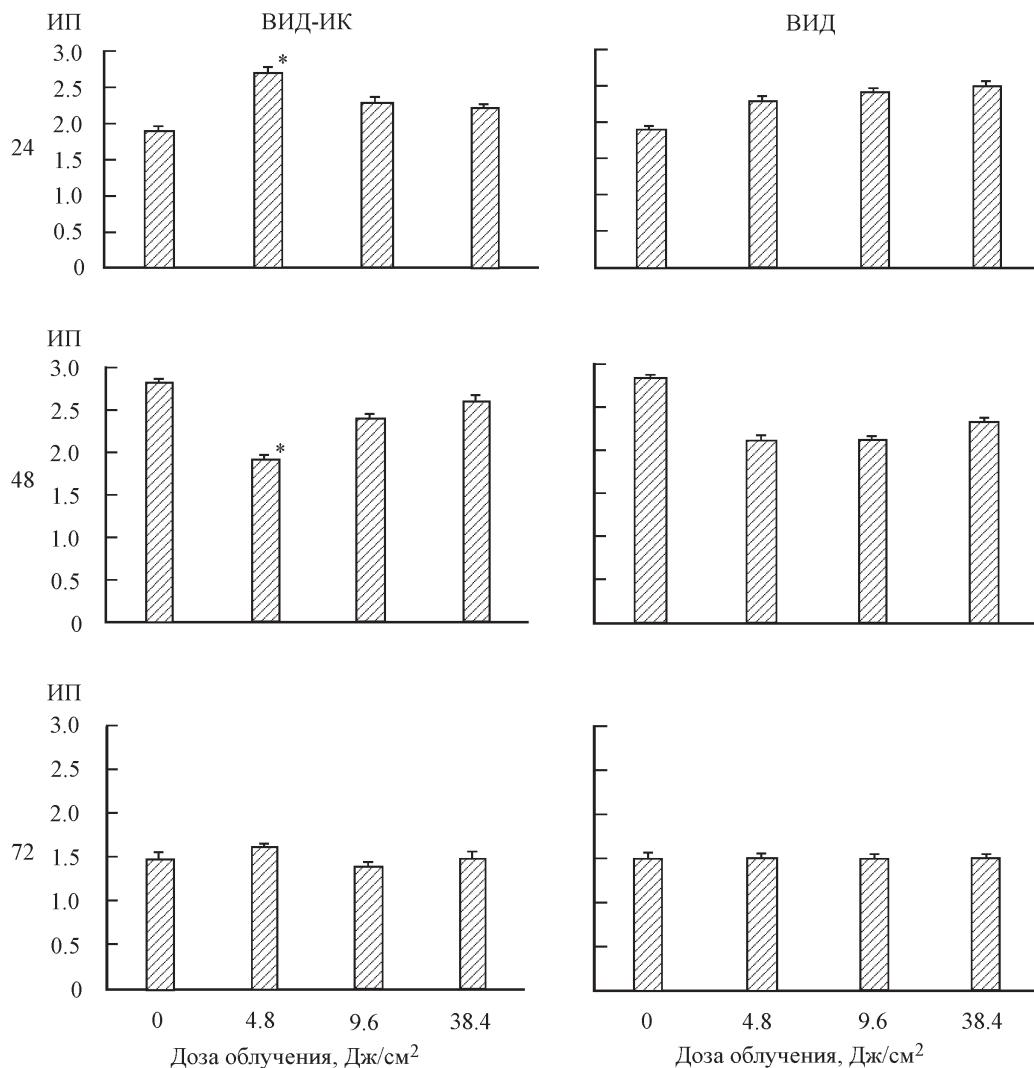


Рис. 1. Пролиферация клеток гепатомы 22а в течение 24—72 ч культивирования после облучения полихроматическим видимым светом (ВИД), сочетанным с инфракрасным (ВИД-ИК) и полным спектром ВИД-излучения в различных дозах.

ИП — индекс пролиферации. Звездочкой отмечено достоверное отличие от контроля при $P \leq 0.05$.

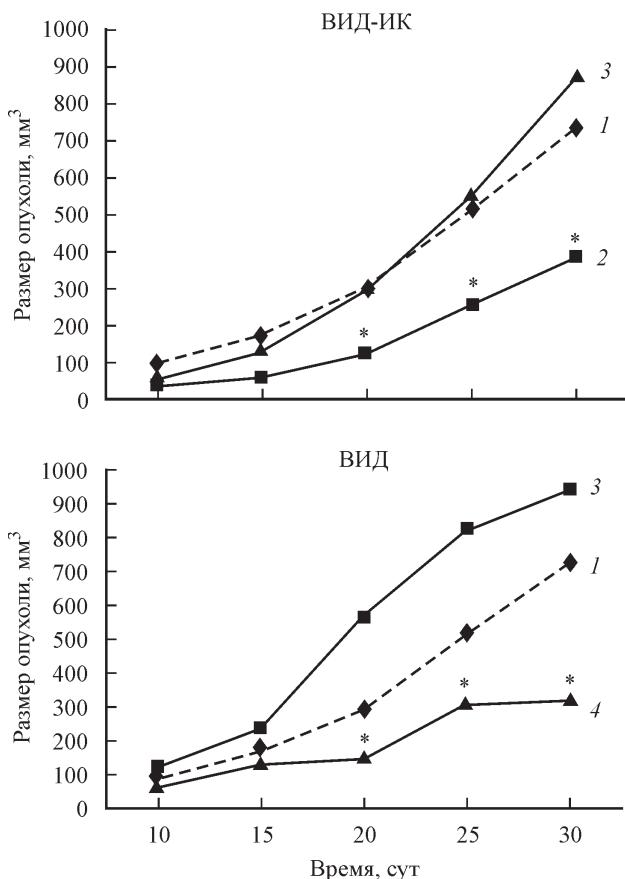


Рис. 2. Динамика роста опухолей у мышей линии СЗНА после трансплантации клеток гепатомы 22a, облученных двумя видами полихроматического света (ВИД-ИК и ВИД) в различных дозах.

Кривые: 1 — контроль, 2 — 4.8 $\text{Дж}/\text{см}^2$, 3 — 9.6 $\text{Дж}/\text{см}^2$, 4 — 38.4 $\text{Дж}/\text{см}^2$. Звездочкой отмечено достоверное отличие от контроля при $P \leq 0.05$.

О прививаемости опухолей судили по количеству животных с опухолями. Трансплантация клеток, облученных ВИД-ИК в дозе 4.8 $\text{Дж}/\text{см}^2$, сопровождалась снижением их прививаемости (т. е. количеством мышей с опухолями) по сравнению с контролем на 20—30-е сут наблюдения, тогда как количество мышей с опухолями после трансплантации клеток, облученных тем же светом в большей дозе (9.6 $\text{Дж}/\text{см}^2$), не отличалось от контроля, а через 15—20 сут было даже выше. После трансплантации клеток, облученных ВИД в дозе 38.4 $\text{Дж}/\text{см}^2$, количество мышей с опухолями на 25—30-е сут было меньше, чем в контроле. Облучение тем же светом в дозе 9.6 $\text{Дж}/\text{см}^2$ через 25—30 сут не приводило к изменению количества животных с опухолями, а через 15—20 сут их число было даже больше (рис. 3).

Гибель мышей с трансплантированными клетками МГ22a, облученными ВИД-ИК, регистрировалась через 30 сут наблюдения и не отличалась от контроля (рис. 4). Через 60 сут после трансплантации клеток выживало около 60 % мышей-опухоленосителей и в контроле, и в опыте. После трансплантации мышам клеток, облученных ВИД, гибель животных начиналась несколько раньше, чем в контроле, — на 25-е сут, хотя через 60 сут гибель мышей в контрольной и опытных группах была такой же, как и после облучения ВИД-ИК (около 40 %).

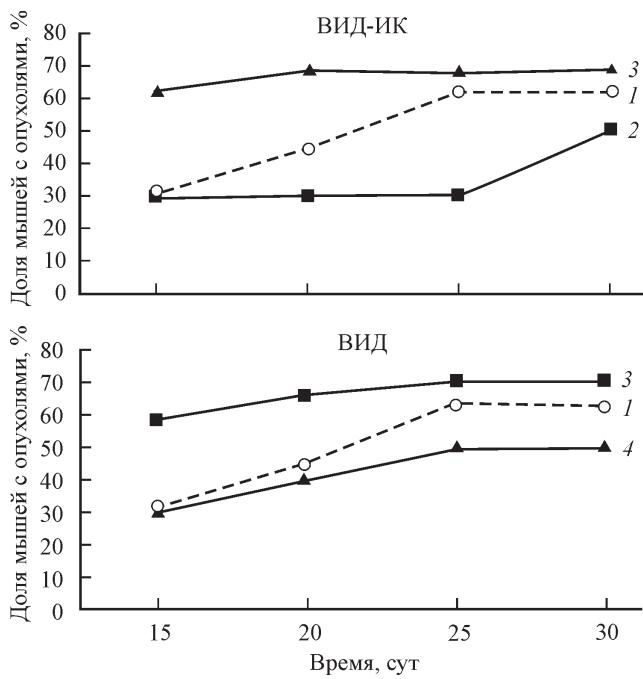


Рис. 3. Прививаемость у мышей клеток гепатомы 22a, облученных двумя видами полихроматического света (ВИД-ИК и ВИД) в различных дозах.

Кривые: 1 — контроль, 2 — 4.8 $\text{Дж}/\text{см}^2$, 3 — 9.6 $\text{Дж}/\text{см}^2$, 4 — 38.4 $\text{Дж}/\text{см}^2$. Звездочкой отмечено достоверное отличие от контроля при $P \leq 0.05$.

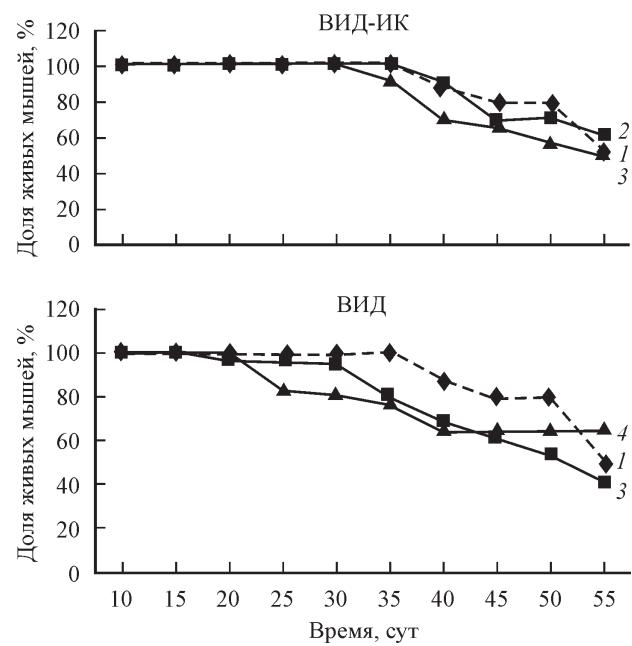


Рис. 4. Выживаемость мышей СЗНА после трансплантации им клеток гепатомы 22a, облученных двумя видами полихроматического света (ВИД-ИК и ВИД) в различных дозах.

Кривые: 1 — контроль, 2 — 4.8 $\text{Дж}/\text{см}^2$, 3 — 9.6 $\text{Дж}/\text{см}^2$, 4 — 38.4 $\text{Дж}/\text{см}^2$. Звездочкой отмечено достоверное отличие от контроля при $P \leq 0.05$.

Таким образом, можно сказать, что в результате действия излучения ВИД или ВИД-ИК пролиферация и гибель клеток МГ22a *in vitro* не изменяются, в то время как *in vivo* происходит замедление роста клеток.

Обсуждение

Основные результаты настоящего исследования состоят в том, что прямое облучение перевиваемых клеток гепатомы мыши полихроматическим светом ВИД-ИК (480—3400 нм) в неповреждающих дозах не увеличивает частоту формирования опухолей и не ускоряет их рост в течение 2 мес наблюдений после трансплантации клеток сингенным мышам. Более того, трансплантация клеток гепатомы, облученных в дозе 4.8 Дж/см², сопровождается снижением их туморогенности, проявляющейся снижением их прививаемости и скорости роста опухолей по сравнению с контролем. Сходным противоопухолевым действием обладает и полихроматический ВИД (385—750 нм), однако его эффективные дозы в 8 раз пре-восходят дозы ВИД-ИК (38.4 Дж/см²). Отсюда следует, что противоопухолевый эффект сочетанного излучения ВИД-ИК обусловливает его ВИД-компоненты, однако при сочетании с ИК-излучением ее действие усиливается. Этот результат зависит от дозы и вида облучения и проявляется после трансплантации мышам различного количества облученных клеток ($5 \cdot 10^4$ и $1 \cdot 10^5$ кл/мышь).

Полученные нами результаты хорошо согласуются с данными тех авторов, которые обнаружили снижение скорости роста опухолей после их прямого облучения или места трансплантации опухолевых клеток вскоре после их подкожного введения (McGuff et al., 1964; Бондарь и др., 1981; Иванов и др., 1981а, 1981б; Сенин и др., 1984; Abe et al., 1993; Теплов и др., 1995). В большинстве этих работ использовался красный свет лазеров НеNe или рубинового (633 и 694 нм соответственно). Как правило, авторы применяли курс облучений различной продолжительности (3—30 сут), варьировали дозы облучения от 40 до 70 Дж/см². В некоторых работах подчеркивается, что противоопухолевый эффект света регистрировался после его использования в дозах, стимулировавших пролиферативные процессы в организме животных — заживление кожных ран и гемопоэз (Бондарь и др., 1981; Иванов и др., 1981а, 1981б; Теплов и др., 1993). Степень подавления роста опухолей разного тканевого генеза была неодинакова и, по данным разных авторов, варьировалась от 16 до 80 % вплоть до их полного исчезновения (McGuff et al., 1965; Бондарь и др., 1981). Торможение роста опухолей после их 5-кратного облучения НеNe-лазером, проводившегося с интервалом в 1 сут, регистрировалось уже в течение 1-й нед после окончания облучения, и в конечном счете через 25 сут объем опухолей был в 2—3 раза меньше, чем в контроле, когда опухоли не облучали (Теплов и др., 1993).

Необходимо отметить, что некоторые исследователи не смогли выявить противоопухолевый эффект красного лазерного излучения. В одной из ранних работ (Ильина, 1980) было показано, что ежедневное облучение Не-Ne-лазером имплантированных опухолей мышей в течение 5 сут в дозе 3 Дж/см² не тормозило, а ускоряло рост меланомы Гардинг-Пасси, адено карциномы 755 и Саркомы-37. После 10-дневного курса облучения размеры опухолей на 52 % превышали контрольные, правда в случае адено карциномы и саркомы требовалась в 10 раз более высокая доза (30 Дж/см²). В работе Ильиной (1980) было впервые обнаружено противоопухолевое действие синего света НеCd-лазера. После 10-дневного курса облучения в ежедневной дозе 3 Дж/см² скорость роста меланомы была вдвое меньше, чем в контроле. Для торможения роста двух других опухолей доза однократного облучения была

увеличенена до 30 Дж/см². Результаты этой работы были подтверждены Плетневым и Карпенко (1985). Отсутствие подавления роста опухолей красны светом НеNe-лазера описывали и другие авторы. Более того, некоторые из них (Зырянов и др., 1997, 1998) наблюдали стимулирующее влияние НеNe-лазера на рост и метастазирование лимфосаркомы Плисса, хотя после облучения в том же режиме меланомы В-16 этого не наблюдали. В то же время эти авторы описывают выраженное противоопухолевое действие зеленого излучения лазера на парах меди (510 нм), что, однако, не было подтверждено другими исследователями.

В последние годы появились новые данные о стимулирующем влиянии красного лазерного излучения на рост экспериментальных опухолей (Frigo et al., 2009).

Гораздо более однозначные результаты были получены при изучении влияния ближнего ИК-излучения (750—1500 нм) на показатели опухолевого роста у лабораторных животных. Во всех известных нам работах сообщается о выраженному противоопухолевом действии различных длин волн этой части спектра, применяемой преимущественно в импульсном режиме во избежание нагрева тканей. Однонаправленность действия этого излучения регистрировалась на опухолях различного гистогенеза как при высоких суммарных дозах облучения (400—1000 Дж/см²), так и при очень низких (0.3—0.46 Дж/см²), причем и при однократном, и при многократном действиях. После облучения неодимовым лазером (1060 нм) рост опухоли Эрлиха у мышей тормозился на 18 %, а рост пигментированных опухолей (меланомы В-16 и Гардинг-Пасси) — на 65—70 %. Согласно данным Теплова с сотрудниками (1993), противоопухолевое действие 5-дневного курса облучения ближним ИК-светом (890 нм) трансплантированных опухолей у мышей было гораздо более значительным, чем действие такого же курса красного света НеNe-лазера, применяемого в изоэффективных дозах (по критерию скорости заживления ран). Причем максимальное противоопухолевое действие этого излучения достигалось при облучении места трансплантации опухолевых клеток в самые ранние сроки после их введения.

Итак, в свете приведенных выше данных литературы можно предполагать, что противоопухолевое действие примененного в нашей работе сочетанного полихроматического света ВИД-ИК может быть индуцировано красным и зеленым ВИД, но не синим, поскольку коротковолновая компонента ВИД-спектра в использованном нами излучении ВИД-ИК (480—3400 нм) отсутствовала. Описанный в ряде работ значительный противоопухолевый потенциал ближнего ИК-излучения позволяет понять, почему торможение роста опухолей достигается в случае сочетанного излучения ВИД-ИК при гораздо меньших дозах, чем при воздействии одного лишь ВИД.

Механизмы торможения роста опухолей, развивающихся после трансплантации мышам клеток сингенной гепатомы, предварительно облученных двумя видами полихроматического света в дозах, стимулирующих их пролиферативную активность в условиях *in vitro*, необходимо исследовать в специальных экспериментах. Следует выяснить, почему подавление туморогенности клеток гепатомы имеет место только после облучения в дозах, максимально стимулирующих их пролиферативную активность. Действительно, используя метод проточной цитометрии, мы показали, что в момент трансплантации мышам клеток гепатомы после их облучения ВИД-ИК в

дозе 4.8—38.4 Дж/см² количество среди них мертвых клеток не отличалось от контрольного значения, тогда как их пролиферативная активность была выше, о чем свидетельствуют более высокий ИП и более высокая скорость удвоения количества клеток. Максимальных значений эти показатели достигают после облучении ВИД-ИК в дозе 4.8 Дж/см² и ВИД в дозе 38.4 Дж/см². Трансплантация именно таких клеток приводила к снижению скорости роста опухолей и их прививаемости.

В отличие от всех исследователей, изучавших влияние ВИД и ИК-света на опухолевый процесс в эксперименте, мы не облучали опухоли у животных *in situ*, когда, по мнению некоторых авторов, возможны как частичная деструкция опухолевых клеток, так и реактивные изменения со стороны окружающих опухоли структурных элементов эпидермиса и дермы (Плетнев, Карпенко, 1985). Цель нашего исследования состояла в изучении показателей опухолевого роста после воздействия света только на сами опухолевые клетки. По существу в нашей работе моделировалась ситуация, при которой в организме животных в результате трансплантации появлялись 50 000 сингенных опухолевых клеток с тенденцией к повышенной пролиферативной активности после облучения двумя видами полихроматического света. Полученные данные свидетельствуют о том, что при действии полихроматического света рост опухоли не стимулируется, а, напротив, замедляется.

Результаты настоящей работы несомненно представляют не только теоретический, но и практический интерес, так как применявшиеся нами виды полихроматического излучения — ВИД-ИК и полный спектр ВИД (основные компоненты естественной радиации Солнца) — являются важнейшими факторами окружающей среды, а имитирующие их искусственные источники, в частности аппарат Биоптрон, генерирующий излучение ВИД-ИК, близкое по спектральному диапазону и интенсивности к солнечному, уже более 20 лет успешно применяется в медицинской практике Европы, Азии и Америки. В России этот метод светолечения официально разрешен Минздравом со второй половины 1990-х годов для лечения не только взрослых, но и детей с самого раннего возраста.

Список литературы

- Бондарь П. М., Киндерельский Л. П., Лазарев И. Р. 1981. Показатели опухолевого роста и кроветворения при воздействии излучения гелий-неонового лазера. Клин. хирургия. 5 : 35—37.
- Гамалея Н. Ф., Стадник В. Я., Рудых З. М., Коссинская Н. П., Баран Л. А., Штыхирь С. В. 1988. Экспериментальное обоснование и первый опыт применения внутривенного лазерного облучения крови в онкологии. Эксперим. онкол. 10 (2) : 60—63.
- Зырянов Б. Н., Евтушенко В. А., Вусик М. В. 1997. Использование низкоэнергетического лазера на парах меди в онкологической практике. Рос. онкол. журнал. 3 : 26—29.
- Зырянов Б. Н., Евтушенко В. А., Кицманюк З. Д. 1998. Низкоинтенсивные лазеры в онкологии. Томск. 335 с.
- Иванов А. В., Сенин В. М., Ананьев В. С., Васильева Н. Н., Афанасьева А. В., Барсуков Ю. А. 1981а. Экспериментальное обоснование использования лазерного излучения в послеоперационной терапии онкологических больных. В кн.: Опухоли опорно-двигательного аппарата. М.: ВОНЦ. 8 : 150—153.
- Иванов А. В., Сенин В. М., Васильева Н. Н. Афанасьева А. В. 1981б. Действие излучения гелий-неонового лазера на метастазирование экспериментальных опухолей. В кн.: Применение методов и средств лазерной техники в биологии и медицине. Киев: Наукова думка. 104—106.
- Ильина А. И. 1980. Влияние излучения различных видов низкоинтенсивных газовых лазеров на опухолевый рост в эксперименте. В кн.: Вопросы экспериментальной и клинической онкологии. М. 19—23.
- Князев Н. А., Самойлова К. А., Зимин А. А. 2010. Лазерное излучение видимого и ближнего инфракрасного диапазонов при опухолевой патологии (анализ экспериментальных исследований). Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 6 : 50—56.
- Москалик К. Г., Козлов А. П. 1980. Изменение клеточной пролиферации асцитной опухоли Эрлиха под влиянием лазерного излучения малой мощности. Цитология. 22 (12) : 1130—1135.
- Плетнев С. Д., Карпенко О. М. 1985. Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на нормальную кожу и некоторые опухолевые ткани. Изв. АН СССР. 1 : 134—136.
- Сенин В. М., Иванов А. В., Афанасьева А. В. 1984. Новые органотропно-метастазирующие перевиваемые опухоли мышей и их использование для изучения влияния лазерного излучения на процесс диссеминации. Вестн. АМН. 5 : 85—91.
- Теплов А. А., Морозова Н. Б., Хюппенен Д. Х. 1993. Возможности низкоэнергетических лазеров и их комбинаций с противоопухолевыми химиопрепаратами. В кн.: Лазерная и магнитная терапия в экспериментальных и клинических исследованиях. Обнинск. 37—39.
- Хавинсон В. Х., Южаков В. В., Кветной И. М., Матинин В. В. 2001. Влияние эпипталаона на кинетику роста и функциональную морфологию саркомы М-1. Вопр. онкол. 47 (3) : 461—466.
- Abe M., Fujisawa K., Suzuki H., Sugimoto T., Kanno T. 1993. Role of 830 nm low reactive level laser on the growth of an implanted glioma in mice. Keio J. Med. 42 : 177—179.
- De Castro J. L., Pinheiro A. L., Werneck C. E. 2005. The effect of laser therapy on the proliferation of oral KB carcinoma cells: an *in vitro* study. Photomed. Laser Surg. 23 : 86—89.
- Frigo L., Luppi J., Favero G. M., Maria D. A., Penna S. C., Bjordal J. M., Bensadoun R. J., Lopes-Martins R. 2009. The effect of low-level laser irradiation (In-Ga-Al-AsP — 660 nm) on melanoma *in vitro* and *in vivo*. BMC Cancer. 9 : 404—411.
- Karu T. I., Pyatibrat L. V., Kalendo G. S. 1987. Biostimulation of HeLa cells by low-intensity visible light. V. Stimulation of cell proliferation *in vitro* by He-Ne laser irradiation. Nuovo Cimento. 9D : 1485—1494.
- Liu Y. H., Ho C. C., Cheng C. C., Hsu Y. H., Lai Y. S. 2006. Fotoradiation could influence the cytoskeleton organization and inhibit the survival of human hepatoma cells *in vitro*. Lasers Med. Sci. 21 : 42—48.
- McGuff P. E., Deterling R. A., Gottlieb L. S., Fahimi H. D., Bushnell D., Roeber F. 1964. The laser treatment of experimental malignant tumors. Canad. Med. Ass. J. 91 : 1089—1095.
- Mester E., Lapis K., Tota J. G. 1971. Ultrastructural changes in Ehrlich ascites tumor cells following laser irradiation. Arch. Geschwulstforsch. 38 : 210—220.
- Moralez J. A., Ruiz-Comez M. J., Gil-Carmona L., Souviron A., Martinez-Morillo M. 1995. HeNe laser has no effect on cell cycle phases of human colon adenocarcinoma cells. Rev. Esp. Fisiol. 51 : 43—48.
- Pinheiro A. L. B., Nascimento S. C., Vieira A. L. B., Rölim A. B., Silva P. S., Brugnara A. 2002. Does LLT stimulate laryngeal carcinoma cells? An *in vitro* study. Braz. Dent. J. 13 : 109—112.
- Renno A. C., McDonnell P. A., Parizotto N. A., Laakso E. L. 2007. The effect of laser irradiation on osteoblast and osteosarcoma cell proliferation and differentiation *in vitro*. Photomed. Laser Surg. 25 : 275—280.
- Sroka R., Schaffer M., Fuchs C., Pongrats T., Schrader-Reichard D., Busch V., Schaffer P. M., Duhmke E., Baumgartner R. 1999. Effects on the mitosis of normal and tumor cells induced by light treatment of different wavelengths. Lasers Surg. Med. 25 : 263—271.

PROLIFERATION AND TUMORIGENITY OF THE MURINE HEPATOMA CELLS IRRADIATED
WITH POLYCHROMATIC VISIBLE AND INFRARED LIGHT

N. A. Knyazev, N. A. Filatova, K. A. Samoilova¹

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;
¹ e-mail: samoilova3@yandex.ru

In experiments *in vitro*, the effect of the polychromatic visible (VIS) light combined with polychromatic infrared light (VIS-IR, 480—3400 nm) and the effect of the entire spectrum of VIS radiation (385—750 nm) on the viability and proliferative activity of the murine hepatoma cells MH22a. In experiments *in vivo*, changes of tumorigenic properties of cells MH22a have been studied after the same kinds of light exposure. It was shown that irradiation of the hepatoma cells with two kinds of polychromatic light at a wide range of doses (4.8—38.4 J/cm²) did not lead to an increase in the number of dead cells for 24—72 h of cultivation and did not cause retardation of the hepatoma cell proliferation. Moreover, VIS-IR light at a dose of 4.8 J/cm² and VIS light at a dose 38.4 J/cm² stimulated cell proliferation in 24 h. Proliferation index increased by 1.6 and 1.4 times, respective, and the time of the cell number doubling decreased as compared with control. Studying the tumorigenic properties of irradiated tumor cells showed that, for 30 days after transplantation, of hepatoma cells in 24 h after their irradiation with VIS-IR light at a dose of 4.8 J/cm² to syngenic mice C3HA, the tumor volume reduced significantly (2.6—4 times) of all stages of observation. The incidence of tumor formation decreased, whereas the survival of the tumor-bearing mice did not change. Transplantation of cells irradiated with the same light at a dose of 9.6 J/cm² did not lead to significant changes of the tumor volume, the tumor formation incidence, and animal survival. The main contribution to the antitumor effect of the VIS-IR light seems to be made by the VIS component, as transplantation of cells irradiated with VIS alone light at a dose of 38.4 J/cm² also stimulating proliferation of hepatoma cells *in vitro* into mice resulted in a reduction of their tumorigenic properties. However, the IR component in the combined VIS-IR radiation enhanced the antitumor effect of the VIS light; as a result, this effect was manifested after use of doses 8 times lower (4.8 J/cm²) than in the case of the VIS light alone (38.4 J/cm²). Mechanisms of the decrease of tumorigenic properties of hepatoma cells after irradiation with polychromatic light ad doses stimulating their proliferation *in vitro* are studied.

Key words: visible and infrared radiation, murine hepatoma 22a, proliferation, tumorigenity.