

## ОСОБЕННОСТИ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ ПРИ ОНКОГЕНЕЗЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНТЕНСИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС

Позднякова М.А., Жукова Е.С.

Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии  
ул. Семашко, 20, г. Нижний Новгород, 603005, РФ; e-mail: evgenya\_plekhanova@mail.ru

Поступила в редакцию 21.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0629

**Аннотация.** В работе проверяется гипотеза о зависимости противоопухолевой эффективности фотобиомодуляции (ФБМ) от интенсивности окислительной модификации макромолекул. Об уровне окислительных процессов в организме судили по содержанию в биологических тканях и жидкостях, индуцированных активными формами кислорода (АФК) продуктов модификации липидов, белков, ДНК, а также активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Предлагается использовать поведенческую активность животных в тесте «открытое поле» как неинвазивный показатель для прогнозирования биологических эффектов фотобиомодуляции, косвенно отражающий степень окислительной напряженности в организме. Показано, что уровень поведенческой активности коррелирует с активностью СОД в печени ( $\rho=0,8$ ,  $p < 0,03$  по критерию Спирмена). Среди лабораторных крыс можно выделить животных с пассивным, среднеактивным и высокоактивным типом поведения. Для каждого типа характерны различная выраженность окислительных процессов, динамика роста модельных солидных опухолей и ответ на ФБМ фиолетово-синей и красной области спектра. Внутривнутрибрюшинное воздействие озонированным физиологическим раствором с концентрацией озона 0,16 мкг/кг модулирует противоопухолевый эффект ФБМ. Делается вывод, что эффективность действия ФБМ при онкогенезе зависит от интенсивности окислительных процессов в организме и взаимосвязана с особенностями поведения крыс.

**Ключевые слова:** фотобиомодуляция, солидные модели опухолевого роста, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков, уровень повреждений ДНК, активность антиоксидантных ферментов, поведенческая активность, тест «открытое поле».

Традиционные методы лечения в онкологии (хирургия, лучевая и химиотерапия) в моновариантах практически исчерпали свой ресурс. В настоящее время востребована разработка методов комбинированной и комплексной терапии, направленных на повышение противоопухолевой эффективности воздействия и/или снижение токсических эффектов лечения. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ) оптического диапазона (фотобиомодуляция) способствует сенсбилизации опухолевой ткани к химио- и радиотерапии [1-3]. Однако применение этого излучения связано с риском интенсификации пролиферации опухолевых клеток, что является серьезным препятствием внедрения данного воздействия в клиническую практику. Условия, при которых происходит стимуляция роста опухолей, остаются не выясненными.

На основе предполагаемых механизмов действия ЭМИ оптического диапазона [4] была выдвинута гипотеза - противоопухолевая эффективность фотобиомодуляции зависит от интенсивности окислительной модификации макромолекул-фотоакцепторов и их молекулярного окружения. Однако на сегодняшний день не выявлены параметры, с помощью которых можно было бы достоверно охарактеризовать выраженность окислительных процессов в организме [5]. Классически для этих целей используется оценка содержания в биологических тканях и жидкостях АФК-индуцированных продуктов модификации липидов, белков, ДНК, а также активности антиоксидантных ферментов. Проведен анализ литературных данных на предмет выявления возможного неинвазивного интегрального показателя, который косвенно отражал бы степень выраженности интенсивности окислительных реакций в организме млекопитающих. Выявлено, что нервная система является одной из наиболее чувствительной к окислительному стрессу [6]. В работе Magimoutou M. с соавторами [7] было показано, что окисление кальмодулина сопровождается изменением уровня ориентировочно-исследовательской активности у мелких лабораторных грызунов в тесте «открытое поле». В локусах, ассоциированных с поведением животных в этом тесте, расположены некоторые гены ферментов антиоксидантной системы защиты (*Sod 1* и *2*, тиоредоксин-подобный белок) [8-9]. Кроме того, в последнее время все больше появляется данных о взаимосвязях поведенческих особенностей лабораторных животных с реактивностью иммунной системы [10], уровнем метаболизма некоторых веществ [11], характером ответа на стрессовые воздействия [12]. Исходя из вышесказанного, поведенческая активность животных в тесте «открытое поле» может быть связана с уровнем окислительных процессов и отражать степень окислительной напряженности в организме, что можно использовать как интегральный неинвазивный показатель для прогнозирования биологических эффектов фотобиомодуляции.

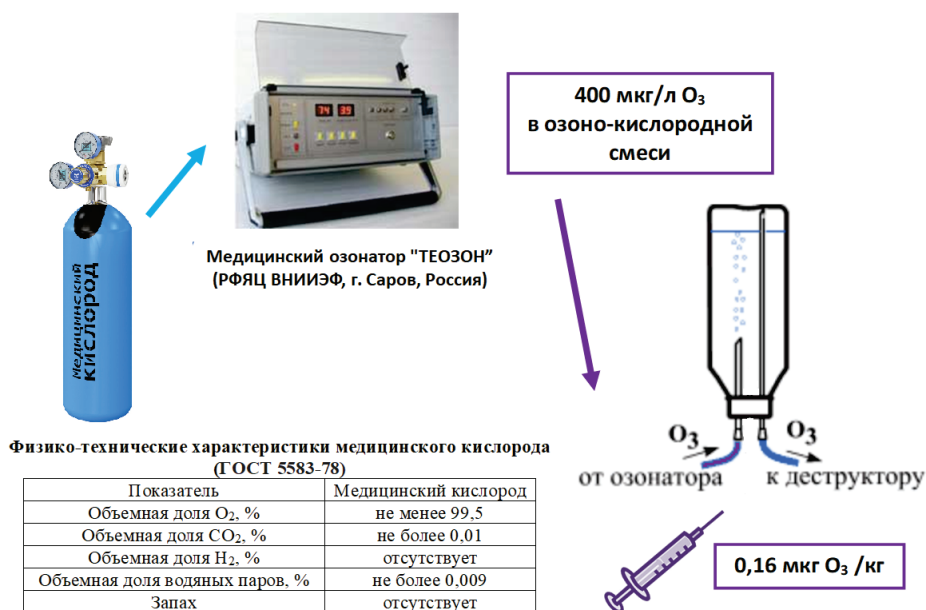
Если выдвинутая гипотеза верна и направление ответа на действие низкоинтенсивного ЭМИ оптического диапазона будет зависеть от фонового уровня окислительных процессов, то искусственное изменение окислительной напряженности в живой системе может модулировать ее отклик на воздействие. В качестве системного модулятора уровня окислительных процессов в организме при опухолевом росте наиболее

оптимально использовать озон [13-18], а для усиления генерации активных форм кислорода непосредственно в ткани неоплазии - искусственные фотосенсибилизаторы [19].

Целью данного исследования явилась оценка зависимости действия низкоинтенсивного ЭМИ оптического диапазона на развитие солидных опухолей от интенсивности окислительных процессов в организме крыс.

Исследования проведены на 138 ювенильных аутбредных крысах-самцах стока SD. Все манипуляции с животными проводились с соблюдением этических принципов и рекомендаций, установленных Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года о защите животных, используемых в научных целях. В качестве модели неоплазии использовали два крысинных опухолевых штамма - медленно растущую нематастазирующую холангиоцеллюлярную карциному РС-1 и агрессивнее развивающийся склонный к метастазированию рак почки РА (РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН), пересаживаемые подкожно. Источники ЭМИ оптического диапазона - экспериментальные генераторы низкоинтенсивного ЭМИ ( $\lambda_1 = 400 \pm 20$  нм, 4,6 Дж/см<sup>2</sup>,  $\lambda_2 = 460 \pm 20$  нм, 3,2 Дж/см<sup>2</sup>, транскутанно 15 минут; ИПФ РАН, Нижний Новгород), и аппарат физиотерапевтический светодиодный АФС для ФДТ ( $\lambda_3 = 660 \pm 10$  нм, транскутанно; ООО «Полироник», Москва). Модификаторы окислительных процессов в организме – озон, получаемый на медицинском озонаторе «ТЕОЗОН» (РФЯЦ ВНИИЭФ, Саров), посредством внутрибрюшинного введения озонированного физиологического раствора (рис. 1), и фотосенсибилизатор гидроксид алюминия трисульфогфталоцианин (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва). Схемы воздействия, дозировки и их обоснование были подробно описаны в наших работах [20-23]. Оценивали поведение крыс в тесте «открытое поле», противоопухолевую эффективность воздействий по параметру Т/С, обратно пропорциональному индексу торможения роста опухоли, и по коэффициенту прироста опухоли, общую свободнорадикальную активность косвенно методом индуцированной H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и Fe<sup>2+</sup> хемиллюминесценции, уровень перекисного окисления липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой, степень окислительной модификации белков по уровню карбонильных производных с помощью реакции с 2,4-динитрофенилгидразином, уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови крыс с помощью щелочной версии метода ДНК-комет, активность супероксиддисмутазы по реакции восстановления нитросинего тетразолия и каталазы по скорости разложения пероксида водорода [22-23]. Статистический анализ данных проводили с использованием программы Statistica (V.8). Нормальность их распределения оценивали по тесту Колмогорова-Смирнова. Данные представлены в виде Me [25%; 75%], где Me – медиана регистрируемого параметра, а 25% и 75% - интерпроцентильный размах. Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и критерия множественного сравнения Стьюдента-Ньюмена-Кейлса при нормальном распределении данных ( $p < 0.016$ ). При ненормальном распределении использовали в качестве предварительного статистического метода Н-тест Краскела-Уоллиса, с последующим попарным сравнением с помощью критерия Манна-Уитни. В качестве критического уровня значимости использовали  $p < 0.05$  с учетом поправки Бонферони. При распределении подопытных животных по типу поведенческой активности использовали метод к-средних. Оценка корреляционной взаимосвязи осуществлялась по коэффициенту Спирмена.

Показана сильная корреляционная взаимосвязь между уровнем поведенческой активности крыс в тесте «открытое поле» и активностью СОД в печени ( $\rho=0,8$ ,  $p < 0,03$  по критерию Спирмена). По показателям исследовательской и двигательной активности, эмоциональности и тревожности животные разделились по типу



**Рисунок 1.** Схема получения озонированного физиологического раствора и концентрации озона, вводимые внутрибрюшинно животным за одну процедуру

**Таблица 1.** Биохимические параметры окислительного гомеостаза организма крыс во взаимосвязи с уровнем поведенческих реакций животных в тесте «открытое поле»

Исследуемый параметр	Тип поведенческой активности крыс		
	пассивный	среднеактивный	высокоактивный
ОИА	126 [88; 142]*^	175 [161; 186]*	237 [219; 253]
АСР плазмы крови, усл. Ед	2,32 [2,30; 2,35]↑	1,99 [1,92; 2,04]	1,78 [1,75; 1,80]↓
СОД эритроцитов, ед. акт. / г Нв	181 [178; 195]	138 [102; 189]	106 [100; 111]
СОД печени, ед. акт. / г ткани	13 [7; 16]	24 [17; 30]	40 [39; 45]
КАТ печени, ед. акт. / г ткани	0,99 [0,81; 1,05]↑	0,57 [0,49; 0,66]	0,32 [0,25; 0,40]↓
ТБК-АП печени, нмоль/мл	31,9 [28,3; 33,7]	27,6 [24,9; 28,1]	25,2 [22,0; 27,2]

Примечание: ОИА – ориентировочно-исследовательская активность, АСР – общая активность свободнорадикальная, СОД – супероксиддисмутаза, КАТ – каталаза, ТБК-АП – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; \* -  $p < 0.001$  относительно высокоактивных крыс, ^ -  $p < 0.001$  относительно среднеактивных крыс по множественному критерию Стьюдента–Ньюмена–Кейлса; ↑ или ↓ - статистически значимые отличия показателей при сравнении значений с животными среднеактивного типа поведения ( $p < 0.025$ , U-критерий Манна-Уитни)

поведения: 1) пассивные 2) среднеактивные и 3) высокоактивные (метод k-средних,  $p < 0,001$ ). По сравнению со среднеактивными для пассивных крыс была характерна более высокая интенсивность окислительных процессов в организме, для высокоактивных наоборот – низкая, данные приведены в таблице 1 [22].

Для животных с пассивным поведением отмечены более высокая скорость пролиферации опухолевых клеток РС-1 в начале логарифмической фазы роста и последующая спонтанная регрессия [22], более агрессивное развитие РА с метастазированием [23]. Воздействие ЭМИ фиолетово-синего диапазона на РС-1 ранних сроков развития у пассивных животных стимулировало опухолевую прогрессию, у среднеактивных – тормозило, у высокоактивных – привело к регрессированию. Предварительное курсовое действие озона изменило отклик на воздействие ЭМИ фиолетово-синего спектра: у пассивных крыс наблюдалась остановка роста с последующим регрессированием опухолевого очага, у среднеактивных – краткосрочное торможение и продолженный рост, у высокоактивных - наблюдался выраженный противоопухолевый эффект [22]. Фотодинамическое воздействие с использованием ЭМИ красного диапазона и фотосенсибилизатора способствовало прогрессии РА у высокоактивных крыс. При этом предварительное курсовое действие озона снижало риски стимулирования пролиферации опухолевых клеток и повышало противоопухолевый эффект [23].

Таким образом, показано, что эффективность действия ЭМИ оптического диапазона при онкогенезе зависит от интенсивности окислительных процессов в организме и взаимосвязана с особенностями поведения крыс.

#### Список литературы / References:

- Heymann P.G.B., Henkenius K.S.E., Ziebart T., Braun A., Hirshammer K., Halling F., Neff A., Mandic R. Modulation of tumor cell metabolism by laser phototherapy with cisplatin or zoledronic acid in vitro. *Anticancer research*, 2018, vol. 38, no. 3, doi: 10.21873/anticancer.12351.
- de Faria C.M.G., Barrera-Patiño C.P., Santana J.P.P., da Silva de Avó L.R., Bagnato V.S. Tumor radiosensitization by photobiomodulation. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 2021, vol. 225, no. 112349, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2021.112349.
- Tabosa A.T.L., Souza M.G. et al. Effect of low-level light therapy before radiotherapy in oral squamous cell carcinoma: An in vitro study. *Lasers in medical science*, 2022, vol. 37, no. 9, doi: 10.1007/s10103-022-03632-x.
- Кару Т.И. Клеточные механизмы низкоинтенсивной лазерной терапии. *Лазерная медицина*, 2001, т. 5, № 1 [Karu T.I. Cellular mechanisms of low power laser therapy. *Lazernaya medicina*, 2001, vol. 5, no. 1 (In Russ.)].
- Marrocco I., Altieri F., Peluso I. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, vol. 2017, doi: 10.1155/2017/6501046.
- Peers C., Boyle J.P. Oxidative modulation of K<sup>+</sup> channels in the central nervous system in neurodegenerative diseases and aging. *Antioxid Redox Signal*, 2015, vol. 22, no. 6, doi: 10.1089/ars.2014.6007.
- Marimoutou M., Springer D.A., Liu C., Kim G., Levine R. L. Oxidation of methionine 77 in calmodulin alters mouse growth and behavior. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2018, vol. 7, no. 10, doi: 10.3390/antiox7100140.
- Redina O.E., Smolenskaya S.E., Markel A.L. Genetic control of the behavior of ISIAH rats in the open field test. *Russian Journal of Genetics*, 2022, vol. 58, no. 7, doi: 10.1134/S1022795422070146.
- Vedi M., Smith J.R. et al. 2022 updates to the Rat Genome Database: a Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable (FAIR) resource. *Genetics*, 2023, vol. 224, no. 1, doi: 10.1093/genetics/iyad042.
- Маркова Е.В. *Поведение и иммунитет*. Новосибирск: Новосибирский государственный педагогический университет, 2013, 165 с. [Markova E.V. *Behavior and immunity*. Novosibirsk: Novosibirskij gosudarstvennyj pedagogicheskij universitet, 2013, 165 p. (In Russ.)].
- Иванов Д.Г., Подковкин В.Г. Взаимосвязь уровня метаболизма коллагена и поведения крыс в тесте "открытое поле". *Успехи современного естествознания*, 2010, № 5 [Ivanov D.G., Podkovkin V.G. Relationship between the level of collagen metabolism and the behavior of rats in the "open field" test. *Uspexi sovremennogo estestvoznaniya*, 2010, no. 5 (In Russ.)].

12. Pertsov S.S., Abramova A.Y., Chekhlov V.V. Effect of repeated stress exposures on the blood cytokine profile in rats with different behavioral parameters. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2022, vol. 172, no. 4, doi: 10.1007/s10517-022-05401-w.
13. Перетягин С.П., Мартусевич А.К., Ванин А.Ф. Молекулярно-клеточные механизмы трансформации гомеостаза биосистем активными формами кислорода и азота. *Медицинский альманах*, 2013, № 3, вып. 27 [Peretyagin S.P., Martusevich A.K., Vanin A.F. Molecular and cellular mechanisms of transformation of homeostasis of biosystems by active forms of oxygen and nitrogen. *Medicinskij al'manah*, 2013, no. 3, iss. 27 (In Russ.)].
14. Щербатюк Т.Г. Озонотерапия злокачественных новообразований: за и против. *Нижегородский медицинский журнал*, 2003, № 1 [Shcherbatyuk T.G. Ozone therapy for malignant neoplasms: pro and con. *Medicinskij al'manah*, 2003, no. 1 (In Russ.)].
15. Naumov A.A., Potselueva M.M. Influence of nitric oxide donor, NO-synthase substrate, and inhibitor on leucocyte ROS-generating activity during ascites tumor growth. *Cell and Tissue Biology*, 2011, vol. 5, no. 1, doi: 10.1134/S1990519X1101010X.
16. Bocci V. How a calculated oxidative stress can yield multiple therapeutic effects. *Free Radic Res.*, 2012, vol. 46, no. 9, doi: 10.3109/10715762.2012.693609.
17. Sharapov M.G., Novoselov V.I. Catalytic and signaling role of peroxiredoxins in carcinogenesis. *Biochemistry (Moscow)*, 2019, vol. 84, no. 2, doi: 10.1134/S0006297919020019.
18. Baeza-Noci J., Pinto-Bonilla R. Systemic review: ozone: a potential new chemotherapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 21, doi: 10.3390/ijms222111796.
19. Uzdensky A.B. The biophysical aspects of photodynamic therapy. *Biophysics*, 2016, vol. 61, no. 3, doi: 10.1134/S0006350916030192.
20. Gapeyev A.B., Zhukova E.S., Sinelnikova V.A., Balakin G.Yu., Zemskova M.Yu., Rystsov G.K., Shcherbatyuk T.G. Comparative study of DNA damage in mouse blood leukocytes and MDA-MB-231 human breast adenocarcinoma cells induced by various concentrations of ozone, hydrogen peroxide, and gemcitabine. *Biophysics*, 2022, vol. 67, no. 3, doi: 10.1134/s0006350922030058.
21. Жукова Е.С., Кашина А.Ю., Иркаева А.М. Современные аспекты лечения профессиональной онкопатологии: перспективы применения медицинского озона для коррекции свободнорадикального гомеостаза. *Медицина труда и промышленная экология*, 2020, т. 60, № 11, doi: 10.31089/1026-9428-2020-60-11-767-770 [Zhukova E.S., Kashina A.Yu., Irkaeva A.M. Modern aspects of professional cancer treatment: prospects for the use of medical ozone in the correction of free radical homeostasis. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*, 2020, vol. 60, no. 11 (In Russ.)].
22. Zhukova E.S., Shcherbatyuk T.G., Chernigina I.A., Chernov V.V., Gapeyev A.B. Violet-blue light photobiomodulation of the dynamics of tumor growth and prooxidant-antioxidant balance in the body of tumor carriers. *Biophysics*, 2022, vol. 67, no. 3, doi: 10.1134/s0006350922030241.
23. Shcherbatyuk T.G., Zhukova Plekhanova E.S., Nikitina J.V., Gapeyev A.B. Oxidative modification of proteins in the tissues of rats with growing tumors under the ozone-photodynamic treatment. *Biophysics*, 2020, vol. 65, no. 2, doi: 10.1134/S0006350920020219.

## FEATURES OF PHOTOBIMODULATION DURING ONCOGENESIS DEPENDING ON THE INTENSITY OF OXIDATIVE PROCESSES IN THE ORGANISM OF RATS

Pozdnyakova M.A., Zhukova E.S.

Nizhny Novgorod Scientific Research Institute for Hygiene and Occupational Pathology  
Semashko str., 20, Nizhny Novgorod, 603005, Russia; e-mail: evgenya\_plekhanova@mail.ru

Received 21.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0629

**Abstract.** In work tested the hypothesis that the antitumor efficacy of photobiomodulation (PBM) depends on the intensity of oxidative modification of macromolecules. The level of oxidative processes in the body was judged by the content of ROS-induced products of lipid, protein, and DNA modification, as well as the activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase in biological tissues and fluids. It is proposed to use the behavioral activity of animals in the "open field" test as a non-invasive indicator for predicting the biological effects of photobiomodulation, indirectly reflecting the degree of oxidative stress in the body. It was shown that the level of behavioral activity correlates with SOD activity in the liver ( $\rho=0.8$ ,  $p < 0.03$ , Spearman's test). Among laboratory rats, animals with passive, moderately active and highly active types of behavior can be distinguished. Each type is characterized by different severity of oxidative processes, growth dynamics of model solid tumors, and response to PBM in the violet-blue and red regions of the spectrum. Intraperitoneal exposure to ozonized saline with an ozone concentration of 0.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  modulates the antitumor effect of PBM. It is concluded that the effectiveness of PMB during oncogenesis depends on the intensity of oxidative processes in the body and is interrelated with the behavioral characteristics of rats.

**Key words:** photobiomodulation, solid models of tumor growth, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins, level of DNA damage, activity of antioxidant enzymes, behavioral activity, open field test.