

## РАДИОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС

© 2019 г. Г.А. Залесская, В.М. Насек\*, Р.Д. Зильберман\*

*Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси,  
220072, Минск, пр. Независимости, 68, Республика Беларусь*

*\*Институт биоорганической химии НАН Беларуси,  
220141, Минск, ул. Академика В.Ф. Купревича, 5/2, Республика Беларусь*

*E-mail: zalesskaya@imaph.bas-net.by*

Поступила в редакцию 29.10.2018 г.

После доработки 14.03.2019 г.

Принята к публикации 18.03.2019 г.

Радиозащитное действие низкоинтенсивного лазерного излучения на клетки крови изучали на крысах линии Вистар. Выполняли однократное облучение  $\gamma$ -излучением (доза 3 Гр) всего тела крыс; надвенное облучение крови непрерывным лазерным излучением ( $\lambda = 670$  нм); комбинированное воздействие  $\gamma$ - и лазерного излучения, отличавшегося в разных сериях экспериментов количеством процедур и плотностью энергии лазерного излучения (2,5 Дж/см<sup>2</sup>, 1,25 Дж/см<sup>2</sup>). Исследовали влияние  $\gamma$ - и лазерного излучения на количество клеток периферической крови крыс, активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы и каталазы) и на спектры поглощения крови в областях, чувствительных к ее оксигенации. На четвертые сутки после  $\gamma$ -облучения радиозащитное действие низкоинтенсивного лазерного излучения проявилось в увеличении среднего количества лейкоцитов (до 1,4 раза), лимфоцитов (до 1,8 раз) по сравнению с показателями, сниженными  $\gamma$ -облучением, в росте относительного числа лимфоцитов в популяции лейкоцитов (до 1,5 раза), а также в увеличении сниженной  $\gamma$ -излучением активности каталазы и супероксиддисмутазы. Установлено, что для отдельных крыс изменения количества эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, активности супероксиддисмутазы, инициированные как  $\gamma$ -, так и комбинированным лазерным и  $\gamma$ -излучением, отличались и зависели от индивидуальных исходных показателей. Обсуждаются молекулярные механизмы наблюдаемых фоторадиобиологических эффектов.

*Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение,  $\gamma$ -излучение, клетки крови, спектры поглощения крови, ферменты антиоксидантной защиты.*

DOI: 10.1134/S0006302919030207

Создание новых методов и средств, противодействующих разрушительному влиянию ионизирующей радиации, широко используемой в технике и медицине, является актуальной задачей, которой активно занимаются специалисты различных областей науки, включающих физику, химию, биологию, фармакологию и медицину. Лазерная медицина располагает данными о благоприятном действии низкоинтенсивного оптического излучения (НИОИ), в том числе лазерного (НИЛИ), на реактивацию ферментов антиоксидантной защиты, на протекание свободнорадикальных реакций, репарацию повреждений генетического аппарата, процессы кроветворения

Сокращения: НИОИ – низкоинтенсивное оптическое излучение, НИЛИ – низкоинтенсивное лазерное излучение, СОД – супероксиддисмутаза, НЛОК – надвенное облучение крови, АФК – активные формы кислорода.

[1–3]. Инициация этих процессов с помощью НИОИ создает возможность для противодействия поражающему действию ионизирующей радиации на живой организм.

В последние годы появились экспериментальные работы, подтверждающие возможность такого способа радиационной защиты [4–10]. В этих работах были приведены результаты, полученные на экспериментальных животных, которые подвергались комбинированному воздействию  $\gamma$ - и низкоинтенсивного светодиодного излучения преимущественно красного диапазона. НИОИ успешно применялось в онкологической практике для профилактики и лечения осложнений, возникающих после радиационной терапии [11,12]. Радиозащитное действие НИЛИ было продемонстрировано также в экспериментах на клеточных культурах [13,14]. Однако наряду с положитель-

ными результатами были получены и отрицательные, указывающие на снижение радиостойчивости биообъектов или на отсутствие влияния НИОИ [10]. До настоящего времени научное обоснование возможностей радиозащитного действия НИОИ отсутствует, что сдерживает его практические применения. Цель настоящей работы – оценка влияния комбинированного воздействия  $\gamma$ -излучения и НИЛИ на кровь и клетки периферической крови крыс по изменениям: гематологических показателей, спектров поглощения крови и активности ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты, описанные в работе, были выполнены на крысах самцах линии Вистар (масса 250–300 г, возраст 3 месяца), подвергавшихся однократному облучению всего тела умеренной дозой  $\gamma$ -радиации (3 Гр, мощность дозы 0,67 Гр/мин), возникающей при распаде  $^{137}\text{Cs}$  (установка «Игур» Института радиационной биологии НАН Беларуси). Внутривенное и надвенозное облучение крови (НЛОК) признаны наиболее эффективными методами терапевтического воздействия, оказывающими системный эффект. Поэтому в работе использовался неинвазивный метод НЛОК, при котором кровь в хвостовой вене крыс облучалась непрерывным НИЛИ с длиной волны  $\lambda=670$  нм, хорошо поглощаемой кровью (терапевтический аппарат «Люзар», Беларусь). Согласно оценкам, выполненным нами с учетом процессов поглощения и рассеяния оптического излучения тканями крыс, при использовании  $\lambda = 670$  нм до 40% лазерного излучения, падающего на поверхность кожной ткани, достигает крови в хвостовой вене [15].

Были выполнены четыре серии экспериментов, в каждой из которых участвовало четыре группы крыс, включающие девять животных. В контрольной группе крыс не подвергали воздействию  $\gamma$ -излучения и НЛОК. В экспериментальных группах выполняли однократное облучение всего тела крыс  $\gamma$ -излучением (доза 3 Гр); НЛОК непрерывным лазерным излучением ( $\lambda = 670$  нм); комбинированное воздействие  $\gamma$ - и лазерным излучением, отличавшимся в разных сериях экспериментов количеством процедур и плотностью энергии лазерного излучения. В серии I при комбинированном воздействии крыс облучали  $\gamma$ -излучением через сутки после завершения трех ежедневных процедур НЛОК ( $t = 2$  мин, 10 мДж, 2,5 Дж/см<sup>2</sup>), а в серии II – через сутки после четырех ежедневных процедур НЛОК ( $t = 1$  мин, 10 мДж, 1,25 Дж/см<sup>2</sup>). В двух последующих сери-

ях экспериментов (III и IV) через сутки после  $\gamma$ -облучения проводили три ежедневных процедуры НЛОК (2,5 Дж/см<sup>2</sup>) в серии III и четыре (1,25 Дж/см<sup>2</sup>) – в серии IV. Отбор крови у крыс групп сравнения выполняли в те же дни, что и у крыс экспериментальных групп. Отбор крови у крыс экспериментальных групп выполняли на четвертые сутки после  $\gamma$ -облучения и на вторые сутки после завершения курса НЛОК. При работе с животными соблюдалась Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых с экспериментальными и другими научными целями.

Было изучено 290 образцов крови крыс, отобранных до и после окончания эксперимента. На гемоанализаторе Numacount (Numacount, Германия) измеряли количество: лейкоцитов (WBC), лимфоцитов (LYM), эритроцитов (RBC), концентрацию гемоглобина (Hb), гематокрит. Во всех сериях экспериментов погрешность при определении количества клеток составляла 7–10%. Образцы крови стабилизировали этилендиаминтетраацетатом. Активность супероксиддисмутазы в цельной крови определяли по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина в щелочной среде, которую проводили с помощью набора реактивов «Набор СОД: 100/2» (производство НТПК «АнализХ», Минск, Беларусь) [16]. Активность каталазы в сыворотке крови определяли по способности  $\text{H}_2\text{O}_2$  образовывать стабильные окрашенные комплексы с молибдатом аммония [17]. Влияние  $\gamma$ - и лазерного излучения на степень насыщения венозной крови Hb кислородом ( $\text{SvO}_2$ ) определяли по изменениям спектров поглощения крови, которые регистрировали на спектрофотометре Cary (Cary, США) в областях, чувствительных к оксигенации крови. Полученные результаты обрабатывали статистически по общепринятым методикам. Достоверность выявленных различий оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента со статистически значимой границей  $p < 0,05$ ; определяли коэффициент корреляции Пирсона.

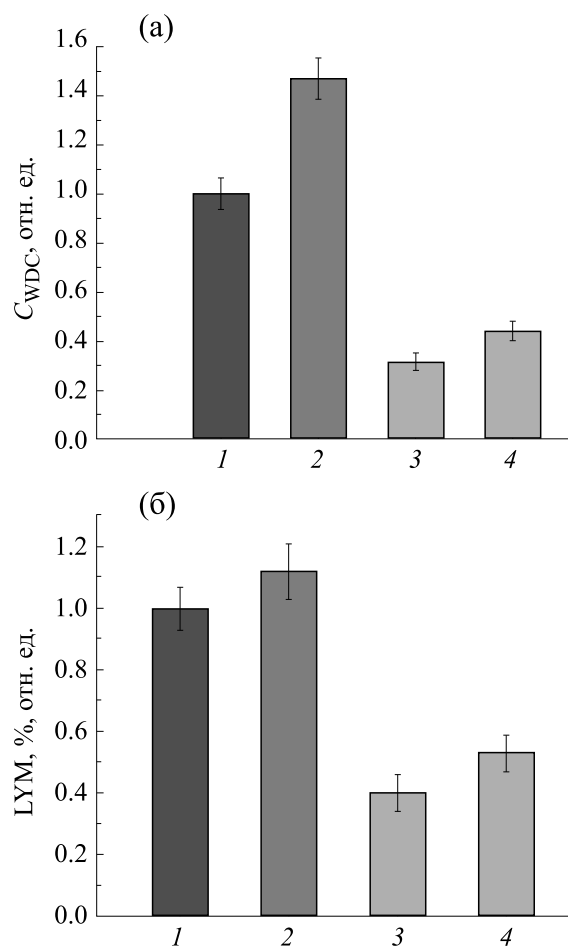
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные в четырех сериях экспериментов, показали, что клетки лейкоцитов и лимфоцитов наиболее чувствительны к  $\gamma$ -облучению дозой 3 Гр. Среднее по группам количество лейкоцитов ( $C_{\text{WBC}}$ ) и лимфоцитов ( $C_{\text{LYM}}$ ) под влиянием дозы 3 Гр снижалось в разных сериях по-разному и зависело от исходного количества клеток в периферической крови (рис. 1а). Так, под влиянием одинаковой дозы 3 Гр  $C_{\text{WBC}}$  уменьшилось в 3,1 раза при исходном значении

$C_{WBC} = 7,0 \cdot 10^9/\text{л}$ , в 3,5 раза – при  $C_{WBC} = 8,8 \cdot 10^9/\text{л}$ , в 4,2 раза – при  $C_{WBC} = 9,6 \cdot 10^9/\text{л}$  и в 6 раз – при  $C_{WBC} = 10,7 \cdot 10^9/\text{л}$ ;  $C_{LYM}$  снизилось в 5,2 раза при исходной концентрации  $C_{LYM} = 5,7 \cdot 10^9/\text{л}$ , но в 9,3 раза при  $C_{LYM} = 7,2 \cdot 10^9/\text{л}$ . Под влиянием  $\gamma$ -излучения снижалось также относительное количество лимфоцитов в популяции лейкоцитов (рис. 1б). Убыль под влиянием дозы 3 Гр среднего количества лейкоцитов и лимфоцитов до величин, которые оказались значительно ниже допустимых ( $C_{WBC} < 2,4 \cdot 10^9/\text{л}$ ,  $C_{WBC} < 2,4 \cdot 10^9/\text{л}$ ), свидетельствует о гематологической токсичности применяемой умеренной дозы  $\gamma$ -излучения. Выявленная высокая радиочувствительность лейкоцитов является характерной реакцией организма на воздействие ионизирующей радиации и соответствует сложившимся представлениям и имеющимся литературным данным [18]. Клетки лимфоцитов являются известным исключением, так как не делятся, но обладают высокой радиочувствительностью. На радиочувствительность клеток лейкоцитов и лимфоцитов, в наибольшей мере, влияет высокая радиочувствительность кроветворных клеток костного мозга, ответственных за их воспроизводство.

Известно [19], что лазерное облучение крови может оказывать негативное влияние на клетки лейкоцитов. Для оценки результатов лазерного воздействия в трех сериях экспериментов сопоставлялись  $C_{WBC}$ , а также  $C_{LYM}$  до и после НЛОК. Под влиянием НЛОК количество этих клеток как снизилось, так и увеличилось по сравнению с измеренным до начала эксперимента, что отразилось на результатах комбинированного воздействия НЛОК и  $\gamma$ -излучения (табл. 1). Следует отметить, что поскольку эксперименты проводили в течение нескольких месяцев (сентябрь–апрель), то при одних и тех же условиях содержания на экспериментальные результаты могли оказать дополнительное влияние сезонные изменения метаболизма животных.

Предварительное НЛОК увеличило число клеток лейкоцитов не более, чем в 1,4 раза, а лимфоцитов – в 1,8 раз по сравнению с значениями, полученными после  $\gamma$ -облучения (табл. 2). Подобные результаты были получены также при применении процедур НЛОК после  $\gamma$ -облучения. Под влиянием НЛОК в разных сериях от 1,3 до 1,5 раза возросло относительное содержание лимфоцитов в пуле лейкоцитов. Согласно литературным данным, увеличение временного интервала между воздействием  $\gamma$ -излучения и отбором образцов крови могло изменить регистрируемые ре-



**Рис. 1.** (а) – Относительные изменения среднего количества лейкоцитов, (б) – относительные изменения содержания лимфоцитов в популяции лейкоцитов: 1 – контроль, 2 – лазерное облучение (1,25 Дж/см<sup>2</sup>), 3 –  $\gamma$ -облучение дозой 3 Гр, 4 – комбинированное облучение  $\gamma$ -излучением и четырьмя последующими процедурами НЛОК (1,25 Дж/см<sup>2</sup>). За 100% приняты значения исследованных параметров у крыс контрольной группы. Достоверность различий показателей по сравнению с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

зультаты в лучшую сторону, так как конечный результат воздействия зависит от соотношения скоростей пострadiационной убыли клеток и их восстановления. Таким образом, под влиянием НЛОК на четвертые сутки после завершения экспериментов достоверно увеличилось сниженное  $\gamma$ -излучением количество лимфоцитов (до 1,8 раза) и наметилась тенденция к увеличению сниженного  $\gamma$ -излучением количества клеток лейкоцитов. При этом не была установлена заметная разница между предварительным и последующим лазерным облучением крови НИЛИ.

При одинаковых внешних воздействиях индивидуальные изменения количества клеток лейкоцитов и лимфоцитов, полученные в четырех се-

**Таблица 1.** Относительные изменения среднего количества клеток  $C_{WBC}$ ,  $C_{LYM}$ , лимфоцитов,  $C_{RBC}$ , концентрации гемоглобина  $C_{Hb}$  и активности СОД

Серии экспериментов	Соотношение показателей	$C_{WBC}$	$C_{LYM}$	Лимфоциты, %	$C_{RBC}$	$C_{Hb}$	СОД
II ( $n = 9$ )	л/К	$0,62 \pm 0,06$	$0,63 \pm 0,05$	$0,95 \pm 0,08$	$0,96 \pm 0,08$	$0,97 \pm 0,08$	$1,02 \pm 0,05$
III ( $n = 9$ )	л/К	$1,37 \pm 0,01$	$1,65 \pm 0,14$	$1,12 \pm 0,10$	$1,00 \pm 0,09$	$1,00 \pm 0,09$	—
IV ( $n = 9$ )	л/К	$0,89 \pm 0,08$	$0,82 \pm 0,07$	$0,99 \pm 0,08$	$0,93 \pm 0,08$	$0,98 \pm 0,08$	$1,14 \pm 0,06$

Примечание. Варианты НЛОК: II – четыре процедуры НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ); III – три процедуры НЛОК ( $2,5 \text{ Дж/см}^2$ ) после  $\gamma$ -облучения, IV – четыре процедуры НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ). За 1,00 приняты средние значения исследованных параметров в контрольной группе крыс. Достоверность различий показателей по сравнению с контрольными значениями  $p < 0,05$ .

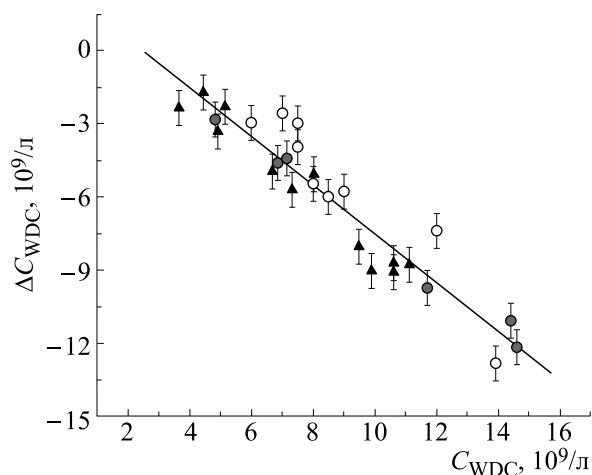
**Таблица 2.** Относительные изменения среднего количества клеток  $C_{WBC}$ ,  $C_{LYM}$ , лимфоцитов,  $C_{RBC}$ , концентрации гемоглобина  $C_{Hb}$ , активности СОД и каталазы при  $\gamma$ -облучении дозой 3 Гр и разных вариантах НЛОК

Серии экспериментов	Соотношение показателей	$C_{WBC}$	$C_{LYM}$	Лимфоциты, %	$C_{RBC}$	$C_{Hb}$	СОД	Каталаза
I	(лаз. + $\gamma$ )/ $\gamma$ -	1,40	1,80	1,48	1,00	1,01	1,7	1,77
II	(лаз. + $\gamma$ )/ $\gamma$ -	1,22	1,33	1,31	1,00	1,00	1,24	1,420
III	( $\gamma$ + лаз.)/ $\gamma$ -	1,40	1,34	1,47	1,05	1,00	1,31	1,13
IV	( $\gamma$ + лаз.)/ $\gamma$ -	1,36	1,51	1,00	1,02	1,00	1,00	—

Примечание. Варианты НЛОК: I – три процедуры НЛОК ( $2,5 \text{ Дж/см}^2$ ) перед  $\gamma$ -облучением; II – четыре процедуры НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ) перед  $\gamma$ -облучением; III – три процедуры НЛОК ( $2,5 \text{ Дж/см}^2$ ) после  $\gamma$ -облучения; IV – четыре процедуры НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ) после  $\gamma$ -облучения. Достоверность различий показателей по сравнению с контрольными значениями  $p < 0,05$ .

риях экспериментов, отличались для разных животных. На рис. 2 для примера представлена зависимость ( $\Delta WBC$ ) от  $WBC$ , где  $WBC$  – исходное количества лейкоцитов в периферической крови, а  $\Delta WBC$  – их изменения, инициированные  $\gamma$ -излучением или комбинацией  $\gamma$ - и лазерного излучения. Под влиянием как  $\gamma$ -облучения, так и комбинированного  $\gamma$ -облучения и НЛОК убыль количества клеток была меньшей при более низкой исходной величине, но линейно увеличивалось с ее ростом.

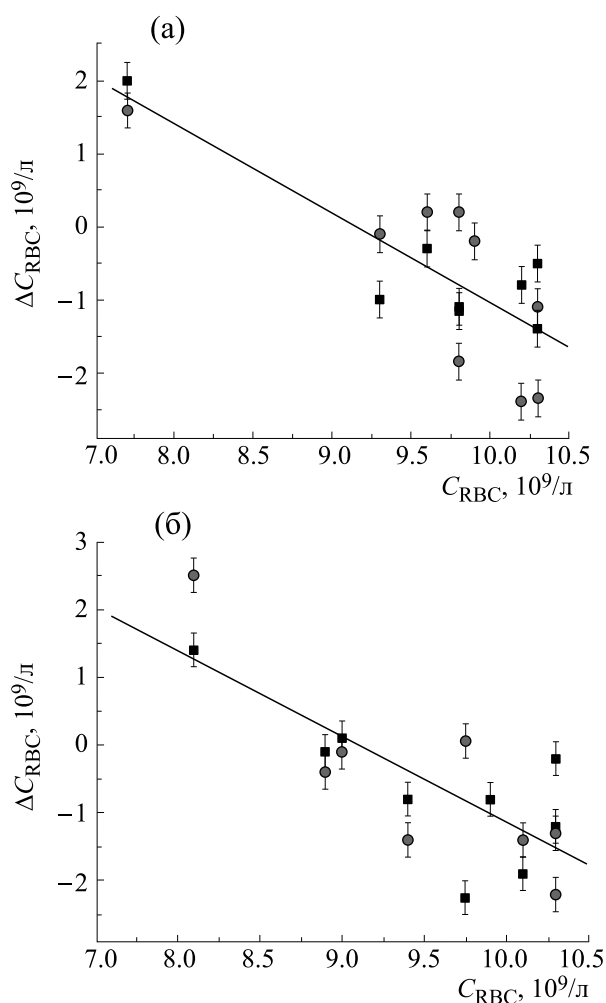
Степень анемии, которая может возникать при  $\gamma$ -облучении, оценивали по количеству эритроцитов ( $C_{RBC}$ ), концентрации гемоглобина ( $C_{Hb}$ ). Результаты экспериментов показали, что эритроциты более радиоустойчивы, чем клетки лейкоцитов и лимфоцитов. На четвертые сутки после  $\gamma$ -облучения наибольшей убыль эритроцитов была в сериях экспериментов I и III, не превысив 19% при исходном количестве  $C_{RBC} = 8,2 \cdot 10^9/\text{л}$  и 17% при  $C_{RBC} = 8,8 \cdot 10^9/\text{л}$  соответственно. В осталь-



**Рис. 2.** Зависимость изменений  $C_{WBC}$  ( $\Delta C_{WBC} = C_{WBC}(\gamma \text{ или } (\gamma + \text{ лаз.})) - C_{WBC}(\text{контр.})$ ) от исходных значений  $C_{WBC}$  в крови отдельных крыс: при  $\gamma$ -облучении дозой 3 Гр (темные кружки); при комбинированном облучении  $\gamma$ -излучением, а затем тремя процедурами лазерного излучения ( $2,5 \text{ Дж/см}^2$ ) (светлые кружки); при предварительном облучении четырьмя процедурами лазерного излучения ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ), а затем  $\gamma$ -излучением (темные треугольники).

ных двух сериях при  $C_{RBC} = 9,9 \cdot 10^9/\text{л}$  и при  $C_{RBC} = 9,7 \cdot 10^9/\text{л}$  количество эритроцитов сократилось под влиянием  $\gamma$ -излучения на 7 и 8% соответственно, только приблизившись к нижней границе допустимых величин. Подобным образом под влиянием  $\gamma$ -излучения изменялась концентрация гемоглобина, которая так же как  $C_{RBC}$  в наибольшей степени (на 20%) снизилась в серии I, не изменилась в серии IV,  $C_{Hb}$  уменьшилась в сериях II и III на 8% с и 13%, не опускаясь ниже допустимых величин.

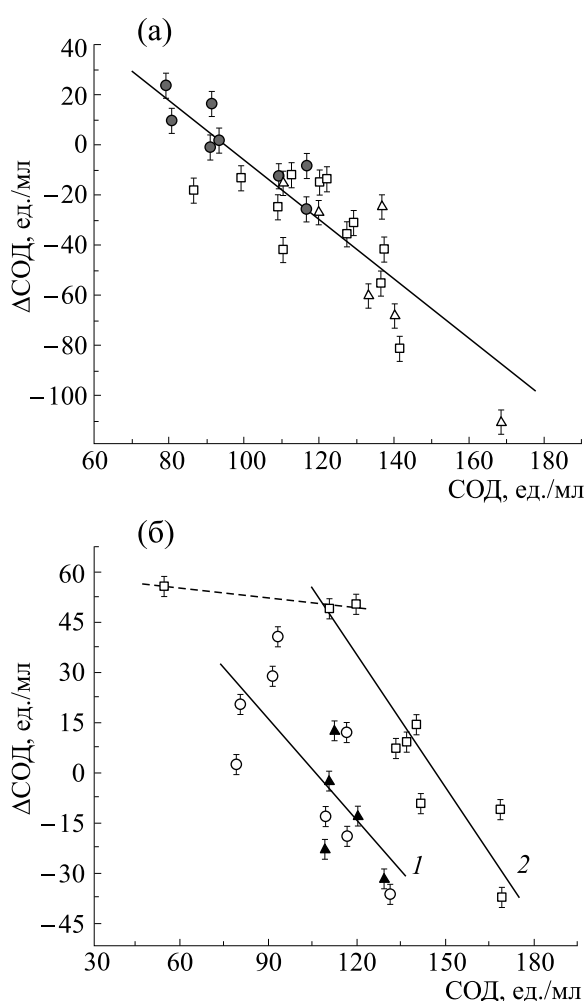
Предшествующее и последующее лазерное воздействие на венозную кровь существенно не изменило пострадиационные величины  $C_{RBC}$  и  $C_{Hb}$ , возросшие не более чем на 5% (табл. 2). Различная реакция системы кроветворения отдельных животных на воздействие физических факторов проявилась в зависимостях полученных изменений  $C_{RBC}$ ,  $C_{Hb}$  от исходных значений этих величин в крови различных животных. Как следует из зависимости  $\Delta C_{RBC}$  от  $C_{RBC}$  (рис. 3), под влиянием  $\gamma$ -, лазерного и комбинаций  $\gamma$ - и лазерного излучения наблюдалось увеличение низких значений  $C_{RBC}$ ,  $C_{Hb}$  и снижение высоких, которое следует рассматривать как регуляторный эффект. Результат не является неожиданным, так как в норме популяция эритроцитов не является



**Рис. 3.** Зависимость изменений CRBC от исходных значений CRBC в крови отдельных крыс: (а) – четыре процедуры НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ) (темные кружки); четыре процедуры НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ) с последующим  $\gamma$ -облучением (темные квадраты) ( $r = -0,82$ ,  $p < 0,001$ ); (б) –  $\gamma$ -облучение (темные кружки), предварительное  $\gamma$ -облучение с последующими четырьмя процедурами НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ) (темные квадраты) ( $r = -0,8$ ,  $p < 0,001$ ).

однородной, в ней сочетаются клетки разного возраста и различной радиационной стойкости.

Активность важнейших ферментов антиоксидантной защиты СОД и каталазы снижалась под влиянием  $\gamma$ -излучения по сравнению с аналогичными значениями для крыс контрольной группы, свидетельствуя о снижении резервов антиоксидантной защиты. Иницированная  $\gamma$ -облучением убыль средних значений активности СОД зависела от их исходной величины и проявилась в большей степени при высоких начальных величинах. Снижение СОД достигало 36% при начальном значении 130 ед./мл, 32% и 27% при 120 ед./мл и 119 ед./мл и отсутствовало при исходном значе-

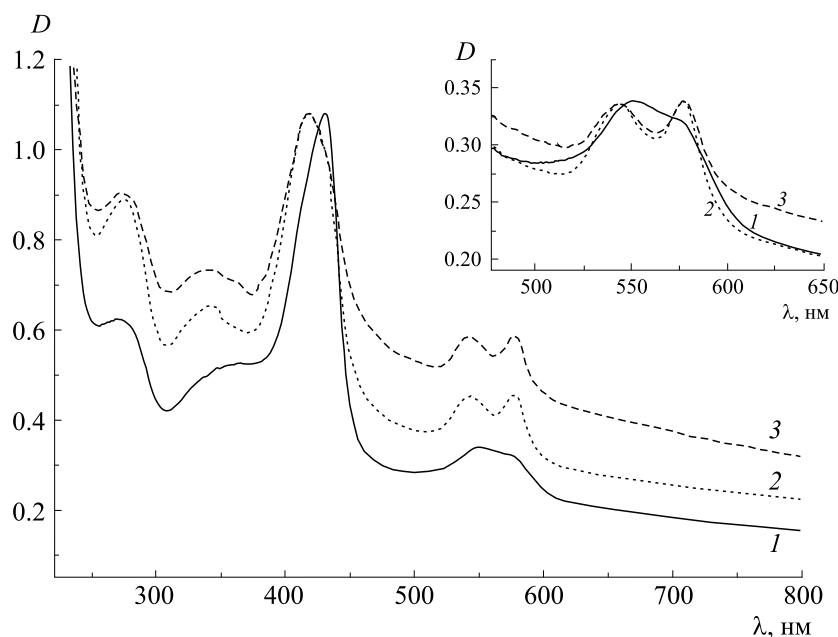


**Рис. 4.** Зависимость изменений активности СОД от исходных значений СОД в крови отдельных крыс: (а) – под влиянием  $\gamma$ -излучения ( $\Delta\text{СОД} = \text{СОД}(\gamma) - \text{СОД}(\text{контр.})$ ) в трех сериях экспериментов с исходными значениями: 100 ед./мл (темные кружки), 119,5 ед./мл (светлые квадраты), 130 ед./мл (светлые треугольники); (б) – 1 – при предварительном  $\gamma$ -облучении ( $\Delta\text{СОД} = \text{СОД}(\gamma + \text{лаз}) - \text{СОД}(\text{контр.})$ ) и последующих четырех процедурах НЛОК ( $1,25 \text{ Дж/см}^2$ ) в двух сериях экспериментов с исходным значением 100 ед./мл (светлые кружки) и 119,5 ед./мл (темные треугольники); 2 – при трех предварительных процедурах НЛОК ( $\Delta\text{СОД} = \text{СОД}(\text{лаз.} + \gamma) - \text{СОД}(\text{контр.})$ ) и последующем  $\gamma$ -облучении (130 ед./мл).

нии 100 ед./мл. Предварительное и последующее облучение крови крыс НИЛИ увеличило сниженную  $\gamma$ -излучением активность СОД (табл. 1). Рост средних по группе величин активности СОД под влиянием НЛОК коррелировал с ростом среднего количества клеток крови. Фотоактивацию ферментов антиоксидантной защиты следует рассматривать как один из важных механизмов радиопротекторного действия НИОИ.

Индивидуальные изменения активности СОД, полученные под влиянием  $\gamma$ -излучения и комбинированного  $\gamma$ - и лазерного излучения, зависели от исходных величин в крови отдельных крыс. Влияние  $\gamma$ -излучения и комбинированного  $\gamma$ - и лазерного излучения проявилось в положительных и отрицательных изменениях активности СОД со снижением высоких и повышением низких значений (рис. 4). Подобные зависимости были получены как при предварительном НЛОК, так и при НЛОК, последовавшим за  $\gamma$ -облучением. Следует отметить, что в крови отдельных крыс активность СОД сильно изменялась даже при отсутствии достоверных изменений среднего по группе значения. Так, в серии IV экспериментов активность СОД не изменилась как под влиянием  $\gamma$ -излучения, так и при комбинациях  $\gamma$ - и лазерного излучения, но в крови отдельных крыс активность СОД возрастала и убывала в пределах ( $-35 < \Delta\text{СОД} < 30$  ед./мл). Активация СОД под воздействием лазерного, а также комбинаций лазерного и  $\gamma$ -облучения создает благоприятные условия для противодействия разрушительному влиянию свободно-радикальных реакций, инициируемых  $\gamma$ -излучением.

Адаптационные возможности организма в значительной степени определяются кислородной емкостью крови. Для оценки возможных изменений в степени насыщения гемоглобина венозной крови кислородом ( $S_{V\text{O}_2}$ ) при различных вариантах внешнего воздействия выполнялся анализ спектров поглощения образцов крови в областях чувствительных к оксигенации крови. На рис. 5 в качестве примера сопоставлены спектры поглощения образцов крови крыс до начала эксперимента, после трех процедур НЛОК и после комбинированного лазерного и  $\gamma$ -облучения. Коротковолновый сдвиг максимума полосы Сорс и уменьшение интенсивности в провале между полосами 541 и 577 нм демонстрируют увеличение оксигенации крови по сравнению с исходной после окончания курса НЛОК, а также комбинированного лазерного и  $\gamma$ -воздействия. Для приведенного примера комбинированного облучения (три процедуры НЛОК с последующим  $\gamma$ -облучением) в 80% образцов наблюдалось увеличение оксигенации крови по сравнению с исходным. Следует отметить, что оксигенация крови изменялась в разных образцах по-разному. В образцах крови некоторых крыс наблюдался противоположный эффект – снижение оксигенации крови как после лазерного, так и после комбинированного  $\gamma$ - и лазерного воздействия. Увеличение  $S_{V\text{O}_2}$  до нормальных для венозной крови значений повышает содержание кислорода в венозной крови, улучшает доставку  $\text{O}_2$  в ткани и его потребление в клетках. Нормализация сниженных



**Рис. 5.** Спектры поглощения образцов венозной крови одной из крыс, нормированные по оптической плотности  $D$  в максимуме полосы  $S_{\text{оре}}$ , на врезке те же спектры, нормированные по  $D$  на  $\lambda = 545$  нм: 1 – до начала эксперимента ( $S_{\text{V}}\text{O}_2 = 50\%$ ); 2 – после трех процедур НЛОК ( $2,5$  Дж/см $^2$ ) ( $S_{\text{V}}\text{O}_2 = 70\%$ ); 3 – после трех процедур НЛОК ( $2,5$  Дж/см $^2$ ) с последующим  $\gamma$ -облучением ( $S_{\text{V}}\text{O}_2 = 67\%$ ).

значений  $S_{\text{V}}\text{O}_2$  и активности ферментов антиоксидантной защиты способствует пострadiационным восстановительным процессам.

Отличающееся радиозащитное влияние НИЛИ на клетки крови отдельных животных, продемонстрированное выше, обусловлено молекулярным механизмом его действия [3,20,21]. В работах [3,20,21] показано, что терапевтические дозы оптического излучения, поглощаемого гемоглобином крови, вызывают фотоиндуцируемые изменения в протекании кислородзависимых процессов, оказывающих корректирующее влияние на поступление  $\text{O}_2$  в клетки, генерацию активных форм кислорода (АФК) и их ингибирование антиоксидантными системами. Известно, что АФК – высокореакционные, преимущественно радикальные кислородные соединения – участвуют во внутри- и межмолекулярных процессах, противодействующих разрушительному развитию свободнорадикальных реакций [22]. Но те же самые АФК при концентрациях, превышающих физиологически допустимые, способны участвовать в повреждении клеток и тканей.

Что касается  $\gamma$ -излучения, то оно вызывает не только поражения биомолекул первичной энергией ионизирующей радиации, но и не прямые повреждения за счет развития физико-химических процессов, усиливающих прямое поражающее действие [18]. Энергия ионизирующей радиации,

поглощаемая молекулами биоткани, разрывает молекулярные связи, инициирует возникновение в радикалов ( $\text{RC}^\bullet$ ,  $\text{RO}^\bullet$ ,  $\text{RS}^\bullet$ ,  $\text{RN}^\bullet$  и др.), а также ионизированных и возбужденных атомов и молекул в облучаемом веществе, в клетках которого не существует структур, испытывающих преимущественное поглощение энергии ионизирующей радиации. При изучении действия ионизирующей радиации на биомолекулы было показано, что образовавшиеся свободные радикалы, АФК и низкомолекулярные эндогенные прооксиданты запускают сложную цепь реакций, вызывающих окислительный стресс, который играет важную роль в развитии радиационных поражений.

Макромолекулы биотканей чрезвычайно эффективно взаимодействуют с АФК, количество которых возрастает при радиоллизе воды, составляющей 80–90% массы клетки. Формирование дополнительного количества АФК как при радиоллизе воды, так и при других способах увеличения концентрации  $\text{O}_2$  в среде усиливает радиационные поражения живого организма. Зависимость тяжести лучевого поражения от содержания  $\text{O}_2$  в среде (кислородный эффект) известна еще с начала 20-го века. При изучении радиозащитного действия НИОИ следует иметь в виду, что только его оптимальные режимы спо-

способны нормализовать содержание  $O_2$  в крови и обеспечить генерацию физиологически допустимых количеств АФК. В выполненных экспериментах через сутки после окончания курса НЛОК как степень насыщения гемоглобина кислородом ( $S_{VO_2}$ ), так и содержание кислорода в венозной крови  $ct_{VO_2} = [Hb] \cdot 1,39 (S_{VO_2}/100)$  не превышали нормальных для венозной крови значений. Как показано в работах [3,20,21], наибольшее увеличение  $ct_{VO_2}$  происходит во время процедур НЛОК или сразу после их окончания. Чтобы избежать возможного негативного влияния дополнительного количества  $O_2$ , возникающего при фотодиссоциации оксиHb и могущего исказить радиозащитное действие НИЛИ,  $\gamma$ -облучение осуществлялось только через 24 ч после окончания последней процедуры НЛОК.

### ВЫВОДЫ

Показано, что  $\gamma$ -облучение всего тела крыс умеренной дозой 3 Гр индуцировало лейкопению ( $C_{WBC} < 2,43 \cdot 10^9/\text{л}$ ) и лимфопению ( $C_{LYM} < 0,82 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Под влиянием дозы 3 Гр среднее количество клеток  $C_{WBC}$  и  $C_{LYM}$  в разных сериях экспериментов снижалось по-разному, в большей степени при высоком исходном количестве в периферической крови. При тех же условиях  $\gamma$ -излучение индуцировало незначительное уменьшение  $C_{Hb}$  и  $C_{RBC}$  до нижней допустимой границы.

Установлено, что важной особенностью воздействия на клетки крови  $\gamma$ -, лазерного излучения, а также их комбинации является зависимость индивидуальных изменений от исходного состояния крови. У отдельных крыс под влиянием  $\gamma$ -, лазерного, а также комбинаций лазерного и  $\gamma$ -облучения количество клеток  $C_{WBC}$ ,  $C_{LYM}$  и  $C_{RBC}$ , концентрация гемоглобина, активность СОД повышались при низких исходных величинах и линейно снижались с их ростом.

Сделан вывод, что к числу позитивных изменений, свидетельствующих о радиозащитном действии НИЛИ, следует отнести инициированный им рост  $C_{WBC}$ ,  $C_{LYM}$  по сравнению с пострадиационным, увеличение количества лимфоцитов в пуле лейкоцитов, увеличение активности СОД и каталазы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований Республики Беларусь (грант Ф16Д-005).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. И. Карандашов, Е. Б. Петухов и В. С. Зродников, *Фототерапия*, под ред. Н. Р. Палеева (Медицина, М., 2001).
2. T. I. Karu, in *Low-power laser therapy* (2003), pp. 4825–4841.
3. Г. А. Залеская, *Фотомодификация крови терапевтическими дозами оптического излучения*, под ред. В. С. Улашика (Белорусская наука, Минск, 2014).
4. K. K. Abdul-aziz and M. J. Tuorkey, *J. Photochem. Photobiol. B* **99**, 29 (2010).
5. K. Voskanyan, S. Vorozhtsova, A. Abrosimova, et al., *J. Phys. Sci. Appl.* **2**, 7 (2012).
6. K. Voskanyan, S. Vorozhtsova, A. Abrosimova, et al., *J. Phys. Sci. Appl.* **2**, 152 (2012).
7. R. N. Pavlova, V. G. Gomberg, V. N. Boiko., et al., *Proc. SPIE* **2769**, 232 (1996).
8. V. G. Gomberg, V. Boiko, R. Pavlova, et al., *Proc. SPIE* **2970**, 232 (1997).
9. Yu. Efremova, Z. Sinkorova, and L. Navratil, *Photomed. Laser Surg.* **33** (2), 82 (2015).
10. Z. F. Skalicka, F. Zolzer, L. Beranek, et al., *J. Photochem. Photobiol.* **117** (5), 111 (2012).
11. Б. Н. Зырянов, В. А. Евтушенко и З. Д. Кицманюк, *Низкоинтенсивная лазерная терапия в онкологии* (Томск, STT, 1998).
12. Т. М. Литвинова, И. А. Косенко и М. В. Хорошун, *Онкологич. журн.* **4** (1), 28 (2010).
13. Т. И. Кару, Л. В. Пятибрат и Г. С. Календо, *Радиобиология* **32** (2), 202 (1992).
14. Е. Б. Алмазов и Б. Г. Емец, *Восточно-европейский журнал передовых технологий* **59**, 5 (2012).
15. Г. А. Залеская, Л. Е. Батай, Р. Д. Говорун и др., в сб. *Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике* (ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», Гомель, 2017), сс. 55–56.
16. В. А. Костюк, А. И. Потапович и Ж. В. Ковалева, *Вопр. мед. химии* **36** (2), 88(1990).
17. L. Goth, *Clin. Chem. Acta* **196**, 143 (1991).
18. Б. Кудряшов, *Радиационная биофизика (ионизирующее излучение)* (М., 2004).
19. Е. С. Головнева, Т. Г. Кравченко, Л. Г. Омеляненко и др., *Лазерная медицина* **19** (2), 32 (2015).
20. Г. А. Залеская и В. С. Улашик, *Журн. прикл. спектроскопии* **76** (1), 51 (2009).
21. Г. А. Залеская, *Биофизика* **59** (3), 534 (2015).
22. Н. К. Зенков, В. З. Ланкин и Е. Б. Меньщикова, *Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты* («Наука/Интерпериодика», М., 2001). («Наука/Интерпериодика», М., 2001).).



## Radioprotective Effects of Low-Intensity Laser Radiation on Cells of Peripheral Blood in Rats

G.A. Zalesskaya\*, V.M. Nasek\*\*, and R.D. Zilberman\*\*

\**B.I. Stepanov Institute of Physics, National Academy of Sciences of Belarus, prosp. Nezavisimosti 68, Minsk, 220072 Belarus*

\*\**Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, ul. Akademika V.F. Kuprevicha 5/3, Minsk, 220141 Belarus*

The radioprotective action of low-intensity laser radiation on blood cells was studied in Wistar rats. It was performed single  $\gamma$ -irradiation (a dose of 3 Gy) of the whole body of rats, overvein irradiation of the blood with continuous laser radiation ( $\lambda = 670$  nm), combined exposure of  $\gamma$ - and laser radiation differing in the different series of experiments by the number of procedures and the energy density of the laser radiation ( $2.5$  J/cm<sup>2</sup>,  $1.25$  J/cm<sup>2</sup>). The influence of  $\gamma$ - and laser radiation on the number of cells of peripheral blood of rats, the activity of antioxidant defense enzymes (superoxidedismutase and catalase), and on the absorption spectra of blood in regions sensitive to its oxygenation were studied. On the 4th day after  $\gamma$ -irradiation, the radioprotective effect of low-intensity laser radiation was manifested in an increase in the average number of leukocytes up to 1.4 times), lymphocytes (up to 1.8 times) in comparison with reduced  $\gamma$ -irradiation, in the increase in the relative number of lymphocytes in the leukocyte population (up to 1.5 times), and in an increase in the  $\gamma$ -lowering activity of catalase and superoxidedismutase. It was found that for individual rats the changes in the number of erythrocytes, leukocytes, lymphocytes, activity of superoxide dismutase, initiated by  $\gamma$ -, and by combined laser and  $\gamma$ -radiation, differed and depended on individual initial values. The molecular mechanisms of the observed radiobiological effects are discussed.

*Keywords: low-intensity laser radiation,  $\gamma$ -radiation, blood cells, blood absorption spectra, antioxidant defense enzymes*