

С.В. Коноваленко

Г.В. Діденко

О.О. Крущ

І.В. Прокопенко

Інститут експериментальної
патології, онкології
і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: лазерне
опромінення, хіміотерапія,
пухлинні клітини, макрофаги.

ВИВЧЕННЯ *IN VITRO* ВПЛИВУ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ У ПОЄДНАННІ З ХІМІОТЕРАПІЄЮ НА КЛІТИНИ КАРЦИНОМИ ЕРЛІХА ТА МАКРОФАГИ

Наявні підходи до використання лазерів для впливу на пухлини не завжди призводять до задовільних або передбачуваних результатів, що зумовлює необхідність їх удосконалення. Одним із варіантів є поєднане застосування лазерного опромінення та хіміотерапії. **Мета:** дослідити особливості впливу лазерного випромінювання різної інтенсивності в монорежимі на пухлинні клітини карциноми Ерліха та перитонеальні макрофаги експериментальних тварин, а також оцінити синергізм дії щодо пухлинних клітин світлової стимуляції та низькодозової хіміотерапії. **Методи:** у дослідженні *in vitro* використано клітини асцитної карциноми Ерліха та перитонеальні макрофаги інтактних мишей лінії Balb/c. Вивчали вплив на клітини лазерів з довжиною хвилі 660 та 810 нм в монорежимі та у поєднанні з доксорубіцином. Життєздатність клітин оцінювали в МТТ-тесті, функціональну активність макрофагів — за рівнем продукції екзогенної пероксидази та оксиду азоту NO. Статистичну обробку виконували за загальноприйнятими методами варіаційної статистики із застосуванням програми Origin 7.5. **Результати:** під час оцінки цитотоксичного впливу на клітини карциноми Ерліха встановлено, що поєднане застосування доксорубіцину з інфрачервоним лазерним випромінюванням (810 нм) є більш ефективним порівняно із застосуванням кожного підходу в монорежимі. Показник дихальної активності пухлинних клітин за умови впливу лазера в монорежимі становив $0,122 \pm 0,002$ проти $0,18 \pm 0,005$ опт. од. у контролі ($p \leq 0,05$). Поєднане застосування опромінення з доксорубіцином призводило до суттєвого ($p \leq 0,05$) зниження цього показника порівняно як з неопроміненим контролем, так і з опроміненням у монорежимі. Виявлена стимуляція функціональної активності перитонеальних макрофагів інтактних мишей під впливом лазерного випромінювання з довжиною хвилі 660 та 810 нм в монорежимі. **Висновки:** показана безпечність поєданого застосування низьких доз доксорубіцину з лазерним світлом довжиною хвилі 660 нм або 810 нм. Застосування інфрачервоного лазера (810 нм) у поєднанні з доксорубіцином є більш перспективною комбінацією для цитотоксичного впливу на пухлинні клітини карциноми Ерліха.

Лікування пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями з використанням лазерного опромінення, зокрема фотодинамічна терапія із залученням фотосенсибілізуючих речовин, широко застосовується протягом останніх 20 років [1–4]. Одночасно у різних країнах набуває розвитку світлова терапія лазерами низької енергії (ЛНЕ). Довжина хвилі використовуваного лазера є важливим фактором ефективності клітинної відповіді. Встановлено, що світло від червоного до ближнього інфрачервоного діапазону 600–1,070 нм має найбільший вплив на біохімічну активність різних клітин [5]. З огляду на морфологічну, генетичну та епігенетичну різноманітність пухлинних клітин, особливості диференціації та певну непередбачуваність відповіді на лазерний

вплив, планування та проведення експериментальних і клінічних досліджень у цьому напрямку було і залишається до сьогодні актуальним. Між представленими в науковій літературі сучасними результатами експериментальних досліджень та клінічним застосуванням ЛНЕ у пацієнтів онкологічного профілю й досі існує великий розрив. Це можна подолати шляхом запровадження комплексного підходу для інтеграції клінічних та лабораторних досліджень, впровадження в практику принципів трансляційної медицини [6].

Низькоенергетичне лазерне світло спричиняє фотохімічні реакції — лазер діє на цитохром с-оксидазу з послідовним утворенням аденозинтрифосфату, активних форм кисню (АФК) та виділен-

ням оксиду азоту (NO) [7, 8]. Цитотоксичний ефект щодо пухлинних клітин при цьому може бути як прямим (зумовлений безпосереднім впливом АФК), так і опосередкованим (за рахунок стимуляції імунної системи, зокрема Т-лімфоцитів і макрофагів), і в такому разі низька доза лазерного опромінення може бути більш ефективною [9–11]. Сьогодні існує велика кількість нових можливостей, пов'язаних із поєднанням лазерного опромінення з іншими формами протипухлинної терапії [12–17].

Застосування лазерного опромінення для лікування пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями є, беззаперечно, перспективним напрямом сучасної онкології. Натомість, наявні підходи не завжди призводять до прогнозованих клінічних результатів, тому вони потребують подальших досліджень та вдосконалення. Одним з варіантів є поєднане застосування лазерного опромінення та хіміотерапії [18, 19].

Враховуючи викладене вище, ми поставили на меті дослідити особливості впливу лазерного випромінювання різної інтенсивності в монорежимі на пухлинні клітини карциноми Ерліха та перитонеальні макрофаги експериментальних тварин, а також оцінити синергізм дії щодо пухлинних клітин світлової стимуляції та низькодозової хіміотерапії.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У першій серії досліджень проведено визначення *in vitro* режиму лазерного опромінювання (підбір довжини хвилі лазера та терміну експозиції), який би мав цитотоксичний вплив на пухлинні клітини та імуностимулювальний — на клітини імунної системи. У якості пухлинної моделі використано клітини ($1 \cdot 10^6$ клітин/мл), отримані *ex vivo* з асцитної форми карциноми Ерліха у мишей лінії Balb/c [20]. З метою вивчення впливу на клітини імунної системи визначали показники функціональної активності перитонеальних макрофагів ($1 \cdot 10^6$ клітин/мл) інтактних мишей лінії Balb/c. Опромінення клітин здійснювали з використанням лазерів (виробник — «Фотоніка Плюс», Україна) з довжиною хвилі 660 та 810 нм: час опромінення пухлинних клітин становив 1; 2; 3; 4 та 5 хв, перитонеальних макрофагів — 1 хв; щільність потужності — 50 мВ/см²; доза опромінення — 3 Дж/см². Життєздатність клітин оцінювали в дихальному тесті, функціональну активність макрофагів — за рівнем продукції екзогенної пероксидази та оксиду азоту. Клітинні суспензії культивували в повному ростовому середовищі (RPMI-1640 («SIGMA», США), 10% сироватки ембріонів теляти (fetal bovine serum — FBS) («SIGMA», США), 40 мкг/мл гентаміцину) за температури 37 °C, у зволоженій атмосфері з 5% CO₂.

Друга серія досліджень включала вивчення ефективності поєданого впливу на клітини карциноми Ерліха лазерного випромінювання та низьких доз хіміотерапії (значно нижчі, ніж рекомендовані для застосування). Для проведення хіміотерапії використовували доксорубіцин («Ебеве», Австрія).

Рекомендована до застосування доза доксорубіцину становить 60 мг/м², для дослідів було взято дозу 6 мг/м² (0,12 мкг/мл відповідно) час інкубації з препаратом — 1 год. Режим опромінення клітин: довжина хвилі — 660 та 810 нм; експозиція — 1 хв; щільність потужності — 50 мВ/см²; доза опромінення — 3 Дж/см². Життєздатність клітин оцінювали в дихальному тесті.

Методики виділення перитонеальних макрофагів, а також визначення рівня екзогенної пероксидази та продукції NO (за кількістю NO₂⁻) детально описано в [21].

Дихальну активність пухлинних та імунних клітин після впливу лазерного випромінювання або його комбінації з доксорубіцином визначали за методикою [22].

Статистичну обробку виконували за загальноприйнятими методами варіаційної статистики із застосуванням програми Origin 7.5.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У першій серії експериментів, спираючись на результати досліджень інших авторів [4, 5, 8, 12, 23], було вивчено фототоксичний вплив на пухлинні клітини світла з довжиною 660 та 810 нм; час експозиції становив 1; 2; 3; 4 та 5 хв. Оцінка виживаності клітин в дихальному тесті показала, що експозиція 2 хв та впродовж більш тривалого часу призводила до майже 100% загибелі пухлинних клітин. У той час як при експозиції 1 хв використання лазерного випромінювання з довжиною хвилі 660 нм призводило до загибелі 25% клітин, а з довжиною хвилі 810 нм — 30% клітин ($p \leq 0,05$) (рис. 1). Виходячи з отриманих результатів, для подальших досліджень впливу лазерного випромінювання на перитонеальні макрофаги було обрано наступні режими: довжина хвилі — 660 та 810 нм, час експозиції — 1 хв.

Відомо, що цитотоксичний вплив ЛНЕ відбувається за рахунок абсорбції світла в мітохондріях або їх органелах, що призводить до прискорення експресії генів, синтезу аденозинтрифосфату, Ca²⁺, окису азоту та активних форм кисню — іонів, вільних радикалів і перекису. Це, у свою чергу, призводить до модуляції метаболічних сигнальних мереж [23, 24].

Під час дослідження впливу лазерного випромінювання на життєздатність перитонеальних макрофагів було встановлено, що довжина хвилі світла та час опромінення не мали значного впливу на дихальну активність цих клітин (рис. 2).

У той же час при застосуванні хвиль обох довжин дія лазерного випромінювання на перитонеальні макрофаги інтактних мишей призводила до збільшення продукції ними екзогенної пероксидази порівняно з такою у зразках контрольних неопромінених макрофагів (рис. 3).

Також було встановлено, що термін експозиції в 1 хв збільшує продукцію NO макрофагами при застосуванні лазерного випромінювання обох довжин хвилі (рис. 4).

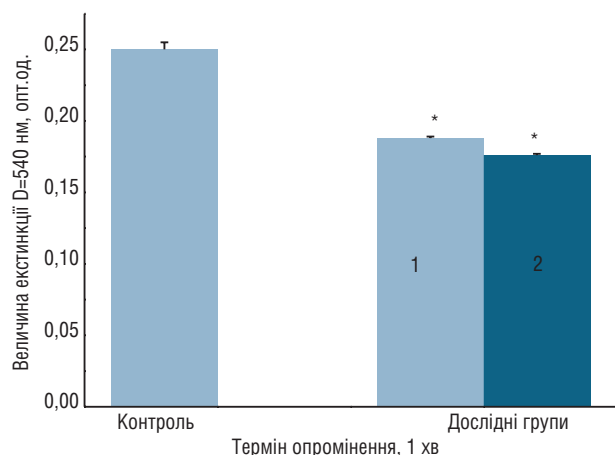


Рис. 1. Дихальна активність клітин карциноми Ерліха після дії протягом 1 хв лазерного випромінювання різної інтенсивності: 660 нм (1), 810 нм (2). * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем

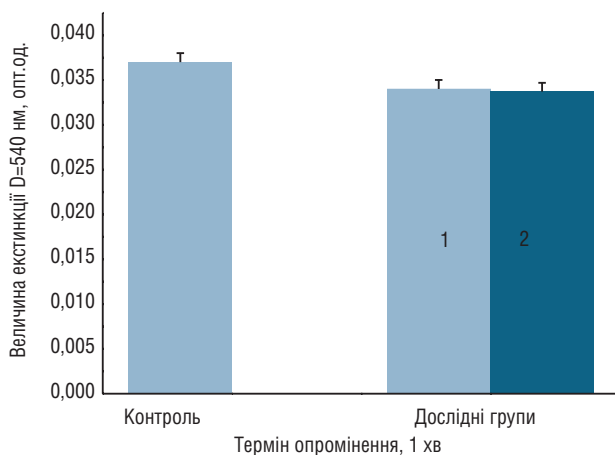


Рис. 2. Дихальна активність перитонеальних макрофагів після впливу лазерного випромінювання різної інтенсивності: 660 нм (1), 810 нм (2)

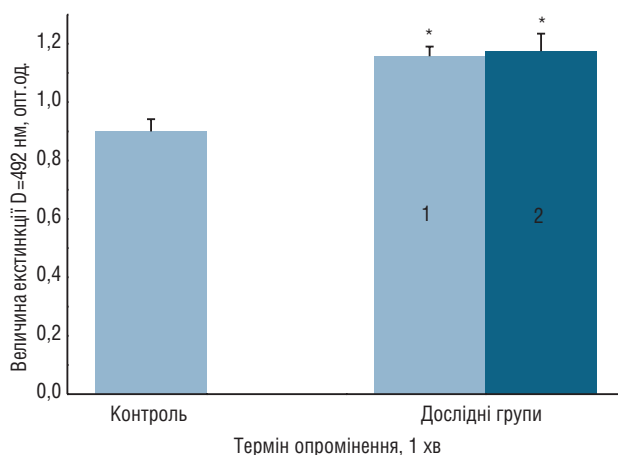


Рис. 3. Вплив лазерного випромінювання різної інтенсивності 660 нм (1), 810 нм (2) на продукцію екзогенної пероксидази. * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем

Отримані дані вказують на те, що обраний термін експозиції чинить стимулювальний вплив на продукцію ферментів NO та мієлопероксидазу макрофагами, що характерно для макрофагів з M1-фенотипом. Крім того, як видно з на-

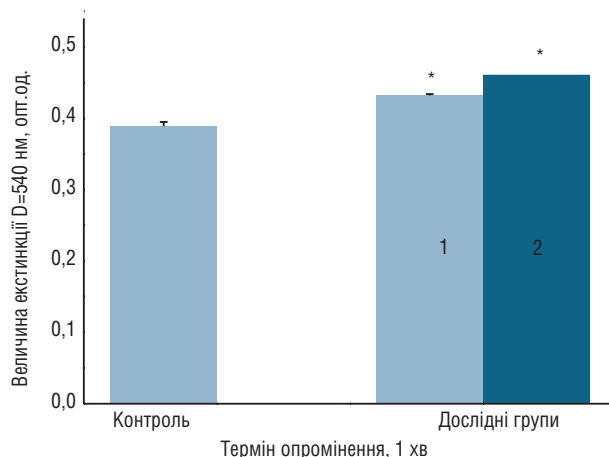


Рис. 4. Вплив лазерного випромінювання на продукцію NO перитонеальними макрофагами: 660 нм (1) і 810 нм (2). * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем

ших результатів (див. рис. 3, 4), вплив лазерного світла з довжиною хвилі 810 нм є більш ефективним (* $p \leq 0,05$ порівняно з контролем), особливо на продукцію NO. Таким чином, можна припустити, що використання лазерного світла в пухлинному осередку сприятиме поляризації пухлиноасоційованих макрофагів в M1 тип. Цей підхід потребує подальшого більш детального дослідження.

Наступним завданням було дослідження впливу поєднаної дії лазера та низьких доз хіміотерапії на пухлинні клітини. Вивчити це питання було необхідно, оскільки в пухлинному осередку наявні клітини з різним рівнем метаболічної активності. Виникає питання про безпечність впливу лазерного випромінювання на пухлинні клітини з низькою метаболічною активністю, які накопичують значно меншу кількість хіміопрепаратів порівняно з клітинами з високою метаболічною активністю.

У ході оцінки цитотоксичної активності лазерного опромінення з довжиною хвилі 660 нм було встановлено, що експозиція 1 хв у поєднанні з низькими дозами доксорубіцину не призводить до стимуляції росту пухлинних клітин: цитотоксичний індекс становить $0,170 \pm 0,003\%$ проти $0,160 \pm 0,011\%$ при застосуванні лазера в монорежимі та $0,180 \pm 0,005\%$ в контрольних зразках (рис. 5).

Під час оцінки впливу на клітини карциноми Ерліха лазера з довжиною хвилі 810 нм було встановлено, що поєднане застосування доксорубіцину з інфрачервоним лазерним випромінюванням є більш ефективним порівняно із застосуванням кожного підходу в монорежимі (рис. 6). Показник дихальної активності за умови впливу лазера в монорежимі становив $0,122 \pm 0,002$ проти $0,18 \pm 0,005$ опт. од. в контролі ($p \leq 0,05$). У разі поєднаного застосування з доксорубіцином показник дихальної активності пухлинних клітин знизився до $0,100 \pm 0,002$ опт.од. ($p \leq 0,05$ порівняно з показниками опромінених в монорежимі та неопромінених клітин). Таким чином, інфрачервоне світло з довжиною хвилі 810 нм може бути рекоменда-

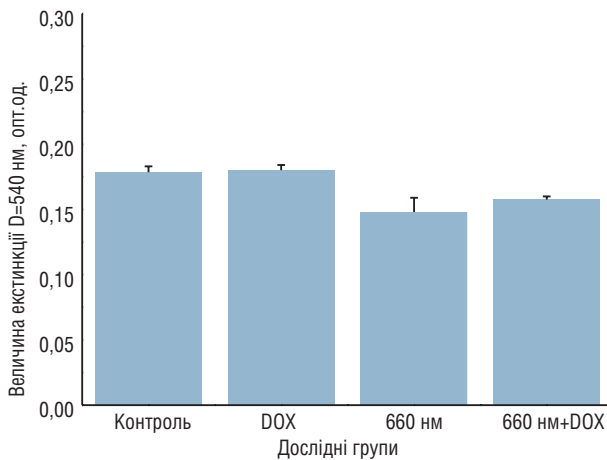


Рис. 5. Дихальна активність клітин карциноми Ерліха після дії лазера (660 нм) та його комбінації з доксорубіцином

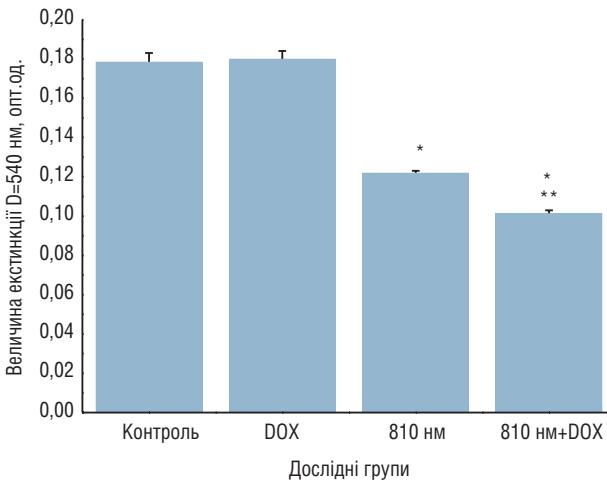


Рис. 6. Дихальна активність клітин карциноми Ерліха після дії лазера (810 нм) та його комбінації з доксорубіцином. * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, ** $p \leq 0,05$ порівняно з опроміненням у монорежимі

ним для поєднаного застосування з доксорубіцином як більш перспективна комбінація хіміотерапевтичного агента та лазерного опромінення.

Фотобіомодуляція передбачає використання видимого або ближнього інфрачервоного світла (600–1070 нм) для лікування пацієнтів з різними захворюваннями. Існують вагомі докази того, що лазерне випромінювання низького рівня (ЛНЕ) поглинається в мітохондріях клітин ссавців, зокрема цитохром С-оксидазою. Отже, в мітохондріях відбувається каскад подій, що призводить до дисбалансу окислювально-відновного стану, а також індукуює активацію численних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, які беруть участь у проліферації, апоптозі, виживанні та відновленні клітин [25–27].

Повідомляється, що лазерне випромінювання при низькій щільності енергії має стимулювальний ефект, а при високих показниках щільності енергії — інгібувальний. Показано, що опромінення за допомогою лазера з високою щільністю енергії пригнічує проліферацію клітин, впливаючи на клітинний цикл. Лазерне випромінювання з довжиною хвилі

660 нм від 3 до 12 Дж/см² сприяло посиленню експресії цикліну D1 [28], протеїну, який може як сприяти, так і протидіяти онкогенезу, пригнічуючи функції мітохондрій [29].

В експериментальних дослідженнях виявлено також, що проапоптотичний ефект інфрачервоного світла залежить від дози опромінення. Найвища швидкість апоптозу відзначена для нижчих доз опромінення — 0,3 Дж/см² (~58,0%) і 3 Дж/см² (~28,0%). Опромінення клітин інфрачервоним лазером дозою 0,3 Дж/см² призводило до накопичення ліпідних крапель, що, очевидно, було викликано збільшенням утворення АФК. Автори припустили, що апоптоз, індукований лазерним випромінюванням, може бути зумовлений здатністю інфрачервоного світла запускати надмірне утворення ліпідних крапель, що зумовлює клітинну цитотоксичність [30].

Лазерна енергія, що проникає всередину клітин, та хіміотерапевтичні засоби, які, у свою чергу, можуть бути активовані цією енергією, здатні діяти у синергії і стати основою для розробки менш інвазивних методик лікування хворих на рак. Наприклад, антрацикліни (зокрема доксорубіцин) є хіміотерапевтичними агентами, які можуть діяти більш активно в ракових клітинах під впливом світла. Крім того, важливою є здатність доксорубіцину чинити на клітини не тільки цитотоксичну дію, але й провокувати відтермінований каскад апоптозу і аутофагії [31].

У ході досліджень останніх років почала кристалізуватися концепція поєднання протипухлинних препаратів і лазерної терапії з подальшою перспективою широкого клінічного застосування [32]. Підсумовуючи, можна зробити припущення, що фотохіміотерапія за допомогою схвалених на сьогодні препаратів і лазерів незабаром може стати повноцінним напрямом на шляху підвищення ефективності лікування пацієнтів з онкопатологією.

ВИСНОВКИ

1. За оцінкою цитотоксичної дії на пухлинні клітини та імунотерапевтичним впливом на перитонеальні макрофаги в досліді *in vitro* показано безпечність поєднаного застосування низьких доз доксорубіцину з лазерним світлом довжиною хвилі 660 нм або 810 нм.

2. Застосування інфрачервоного лазера (810 нм) у поєднанні з доксорубіцином є більш перспективною комбінацією для цитотоксичного впливу *in vitro* на пухлинні клітини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Oncology. Selected lectures for students and doctors. VF Chekhun (eds). Kyiv: Zdorov'ya Ukrainy, 2010: 583–593.
2. Gamaleya NF, Kutsenok VV, Chekhun VF. The use of 5-aminolevulinic acid in photodynamic therapy and diagnosis of tumors. Oncology 2003; 5(3): 239–43.
3. Chekhun VF. Priority results of the RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology NAS of Ukraine. Nauka ta naukoznavstvo 2014; (1): 46–57.

4. Wang K, Yu B, Pathak JL. An update in clinical utilization of photodynamic therapy for lung cancer. *J Cancer* 2021; **12** (4): 1154–60. doi:10.7150/jca.51537.
5. Tsai SR, Hamblin MR. Biological effects and medical applications of infrared radiation. *J Photochem Photobiol B* 2017; **170**: 197–207. doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.04.014.
6. Tam SY, Tam VCW, Ramkumar S, et al. Review on the cellular mechanisms of low-level laser therapy use in oncology. *Front Oncol* 2020; **10**: 1255. doi.org/10.3389/fonc.2020.01255.
7. Del Vecchio A, Tenore G, Luzi MC, et al. Laser photobiomodulation (PBM) — a possible new frontier for the treatment of oral cancer: a review of in vitro and in vivo studies. *Healthcare (Basel)* 2021; **9** (2): 134. doi:10.3390/healthcare9020134.
8. Hamblin MR, Nelson ST, Strahan JR. Photobiomodulation and cancer: what is the truth? *Photomed Laser Surg* 2018; **36** (5): 241–5. doi:10.1089/pho.2017.4401.
9. Peng Y, Su Z, Wang X, et al. Near-infrared light laser-triggered release of doxorubicin and sorafenib from temperature sensitive liposomes for synergistic therapy of hepatocellular carcinoma. *J Biomed Nanotechnol* 2020; **16** (9): 1381–93. doi: 10.1166/jbn.2020.2975.
10. de Lima RDN, Vieira SS, Antonio EL, et al. Low-level laser therapy alleviates the deleterious effect of doxorubicin on rat adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J Photochem Photobiol B* 2019; **196**: 111512. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111512.
11. Ottaviani G, Martinelli V, Rupel K, et al. Laser therapy inhibits tumor growth in mice by promoting immune surveillance and vessel normalization. *EBioMedicine* 2016; **11**: 165–72. doi:10.1016/j.ebiom.2016.07.028.
12. Liang WZ, Liu PF, Fu E, et al. Selective cytotoxic effects of low-power laser irradiation on human oral cancer cells. *Lasers Surg Med* 2015; **47** (9): 756–64. doi: 10.1002/lsm.22419.
13. Fernandes KP, Souza NH, Mesquita-Ferrari RA, et al. Photobiomodulation with 660-nm and 780-nm laser on activated J774 macrophage-like cells: effect on M1 inflammatory markers. *J Photochem Photobiol B* 2015; **153**: 344–51. doi:10.1016/j.jphotobiol.2015.10.015.
14. Souza NH, Ferrari RA, Silva DF, et al. Effect of low-level laser therapy on the modulation of the mitochondrial activity of macrophages. *Braz J Phys Ther* 2014; **18** (4): 308–14. doi:10.1590/bjpt-rbf.2014.0046.
15. de Castro MS, Miyazawa M, Nogueira ESC, et al. Photobiomodulation enhances the Th1 immune response of human monocytes. *Lasers Med Sci* 2022; **37** (1): 135–48. doi: 10.1007/s10103-020-03179-9.
16. Zhang J, Sun J, Zheng Q, et al. Low-level laser therapy 810-nm up-regulates macrophage secretion of neurotrophic factors via PKA-CREB and promotes neuronal axon regeneration in vitro. *J Cell Mol Med* 2020; **24** (1): 476–87. doi:10.1111/jcmm.14756.
17. Chen Y, Zhang L, Li F, et al. Combination of chemotherapy and photodynamic therapy with oxygen self-supply in the form of mutual assistance for cancer therapy. *Int J Nanomedicine* 2021; **16**: 3679–94. doi:10.2147/IJN.S298146.
18. Zecha JA, Raber-Durlacher JE, Nair RG, et al. Low-level laser therapy/photobiomodulation in the management of side effects of chemoradiation therapy in head and neck cancer: part 2: proposed applications and treatment protocols. *Support Care Cancer* 2016; **24** (6): 2793–805. doi:10.1007/s00520-016-3153-y.
19. Zafari J, Zadehmodarres S, Javani Jouni F, et al. Investigation into the Effect of photodynamic therapy and cisplatin on the cervical cancer cell line (A2780). *J Lasers Med Sci.* 2020; **11** (1): S85–S91. doi:10.34172/jlms.2020.S14.
20. Feitosa IB, Mori B, Teles CBG, Costa AGD. What are the immune responses during the growth of Ehrlich's tumor in ascitic and solid form? *Life Sci* 2021; **264**: 118578. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118578.
21. Kruts OO, Chumak AV, Fedosova NI, et al. Prospects for using the phenomenon of macrophages plasticity to evaluate the efficiency of cancer therapy *Oncology* 2020; **22** (1–2): 26–31. doi: 10.32471/oncology.2663-7928.t-22-1-2020-g.8830.
22. Ohno M, Abe T. Rapid colorimetric assay for the quantification of leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin-6 (IL-6). *J Immunol Meth* 1991; **145**: 199–203.
23. Dompe C, Moncrieff L, Matys J, et al. Photobiomodulation—underlying mechanism and clinical applications. *J Clin Med* 2020; **9** (6): 1724. doi:10.3390/jcm9061724.
24. Farivar S, Malekshahabi T, Shiari R. Biological effects of low level laser therapy. *J Lasers Med Sci* 2014; **5** (2): 58–62.
25. Shirazian S, Keykha E, Pourshahidi S, Ebrahimi H. Effects of 660 nm and 810 nm low-power diode laser on proliferation and invasion of oral cancer cells in cell culture media. *Photochem Photobiol* 2021; **97** (3): 618–26. doi: 10.1111/php.13351.
26. da Silva JL, Silva-de-Oliveira AFS, Andraus RAC, Maia LP. Effects of low level laser therapy in cancer cells—a systematic review of the literature. *Lasers Med Sci* 2020; **35** (3): 523–9. doi: 10.1007/s10103-019-02824-2.
27. Djavid GE, Goliaie B, Nikoofar A. Analysis of radiomodulatory effect of low-level laser irradiation by clonogenic survival assay. *Photomed Laser Surg* 2015; **33** (9): 452–59. doi:10.1089/pho.2015.3893.
28. Sperandio FF, Simes A, Corra L, et al. Low-level laser irradiation promotes the proliferation and maturation of keratinocytes during epithelial wound repair. *J. Biophotonics* 2015; **8**: 795–803. doi: 10.1002/jbio.201400064.
29. Pestell RG. New roles of cyclin D1. *Am J Pathol* 2013; **183** (1): 3–9. doi:10.1016/j.ajpath.2013.03.001.
30. Levchenko SM, Kuzmin AN, Pliss A, et al. Cellular transformations in near-infrared light-induced apoptosis in cancer cells revealed by label-free CARS imaging. *J Biophotonics* 2019; **12** (12): e201900179. doi: 10.1002/jbio.201900179.
31. Pennisi R, Musarra-Pizzo M, Velletri T, et al. Cancer-related intracellular signalling pathways activated by doxorubicin/cyclodextrin-graphene-based nanomaterials. *Biomolecules* 2022; **12** (1): 63. doi:10.3390/biom12010063.
32. Bensadoun RJ, Epstein JB, Nair RG, et al. World Association for Laser Therapy (WALT). Safety and efficacy of photobiomodulation therapy in oncology: a systematic review. *Cancer Med* 2020; **9** (22): 8279–300. doi: 10.1002/cam4.3582.

EFFECT OF LASER IRRADIATION COMBINED WITH CHEMOTHERAPY ON EHRlich CARCINOMA CELLS AND MACROPHAGES IN VITRO

S.V. Konovalenko, G.V. Didenko, O.O. Kruts,
I.V. Prokopenko

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

Summary. Existing approaches to lasers application in cancer treatment do not always lead to satisfactory or predictable results; therefore, this technique requires improvement. One of the possible options is the combined use of laser irradiation and chemotherapy. **Aim:** to study the effect of laser irradiation of different intensities in the mono mode on Ehrlich cancer cells and experimental animals' peritoneal macrophages, as well as to assess the synergy of effects of light stimulation combined with low-dose chemotherapy on Ehrlich carcinoma cells. **Objects and methods:** Ehrlich ascites carcinoma cells and peritoneal macrophages of intact Balb/c mice were used in an in vitro study. The effect of lasers with a wavelength of 660 and 810 nm in the mono mode and in combination

with doxorubicin was examined. Cells viability was assessed in a respiratory test; macrophage functional activity was assessed by exogenous peroxidase and nitric oxide (NO) production. Statistical analysis was performed according to the generally accepted methods of variation statistics using Origin 7.5 software. **Results:** evaluating the cytotoxic effect on Ehrlich carcinoma cells, it was found that the combined application of doxorubicin and infrared laser radiation (810 nm) is more effective compared with effects of each approach applied in the mono mode. The rate of cells' respiratory activity under the influence of the laser in the mono mode was $0.122 \pm 0.002 \text{ opt.u.}$ compared to 0.18 ± 0.005 in the control ($p \leq 0.05$). The combined application of doxorubicin and irradiation resulted in a significant ($p \leq 0.05$) decrease in this indicator comparing with both the non-irradiated control and mono-mode irradiation. The stimulation of the peritoneal macrophages' functional activity under the influence of lasers with a wavelength of

660 and 810 nm in the mono mode was detected. **Conclusions:** efficacy of combined application of small doses of doxorubicin with 660 nm or 810 nm laser irradiation was shown. Considering cytotoxic effects on Ehrlich carcinoma cells, the application of infrared (810 nm) laser irradiation combined with doxorubicin is a more promising combination.

Key words: laser irradiation, chemotherapy, cancer cells, macrophages.

Адреса для листування:

Коноваленко С.В.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: servlakon@ukr.net

Одержано: 15.04.2022