

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ЭРИТРОЦИТОВ БОЛЬНЫХ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

УДК 618.146-006.6-092:612.015:615.849.19
Поступила 4.07.2013 г.



Т.П. Генинг, д.б.н., профессор, зав. кафедрой физиологии и патофизиологии, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии Научно-исследовательского технологического института;
Т.В. Абакумова, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии Научно-исследовательского технологического института;
Д.Р. Долгова, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии Научно-исследовательского технологического института;
О.С. Воронова, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии Научно-исследовательского технологического института;
И.И. Антонеева, д.м.н., профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики;
И.О. Золотовский, к.ф.-м.н., доцент, руководитель Научно-образовательного центра лазерных и волоконно-оптических технологий Научно-исследовательского технологического института

Ульяновский государственный университет, Ульяновск, 432017, ул. Толстого, 42

Цель исследования — оценка морфофункционального состояния эритроцитов периферической крови больных раком шейки матки на Ib–IIa стадии заболевания после воздействия фемтосекундного лазерного излучения с различной плотностью потока энергии.

Материалы и методы. Методом сканирующей зондовой микроскопии и биохимически оценивали цитоархитектонику, ригидность мембраны и параметры системы «перекисное окисление липидов–антиоксиданты». Использовано фемтосекундное лазерное излучение с длиной волны 1,55 мкм в дозах от 0,10 до 2,7 Дж/см².

Результаты. Установлено, что в эритроцитах доноров фемтосекундное лазерное излучение в указанных дозах не влияет на параметры системы «перекисное окисление липидов–антиоксиданты», но дозозависимо вызывает обратимую (эхиноциты) и необратимую (сфероциты) их трансформацию на фоне увеличения ригидности мембраны. В эритроцитах больных раком шейки матки Ib–IIa стадии при дозе облучения 0,96–2,7 Дж/см² значимо увеличивается уровень малонового диальдегида при неизменной активности ферментов антиоксидантной системы, что может свидетельствовать о возникновении оксидативного стресса. В связи с этим данные дозы фемтосекундного лазерного излучения не рекомендуются использовать у больных раком шейки матки на Ib–IIa стадии заболевания.

Ключевые слова: рак шейки матки; фемтосекундное лазерное излучение.

English

Morphofunctional Status of Erythrocytes in Cervical Cancer Patients after Femtosecond Laser Radiation Exposure

T.P. Gening, D.Bio.Sc., Professor, Head of the Department of Physiology and Pathophysiology; Leading Research Worker, the Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Scientific Research Technological Institute;

T.V. Abakumova, PhD, Senior Research Worker, the Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Scientific Research Technological Institute;

D.R. Dolgova, PhD, Senior Research Worker, the Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Scientific Research Technological Institute;

O.S. Voronova, PhD, Junior Research Worker, the Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Scientific Research Technological Institute;

I.I. Antoneeva, D.Med.Sc., Professor, the Department of Oncology and Radiodiagnosis;

Для контактов: Генинг Татьяна Петровна, тел. раб. 8(8422)32-70-71; e-mail: Naum53@yandex.ru

I.O. Zolotovskiy, PhD, Associate Professor, Head of Education and Research Center of Laser and Fiber-Optic Technologies, Scientific Research Technological Institute

Ulyanovsk State University, Tolstoy St., 42, Ulyanovsk, Russian Federation, 432017

The aim of investigation was morphofunctional assessment of peripheral erythrocytes in cervical cancer patients (Ib–IIa stage) after femtosecond laser radiation exposure with different energy density.

Materials and Methods. We assessed membrane cytoarchitectonics, rigidity and the parameters of “lipid peroxidation-antioxidants” system using scanning probe microscopy and biochemistry. Femtosecond laser radiation with wavelength of 1.55 μm at dose from 0.10 to 2.7 J/cm² was used.

Results. Femtosecond laser radiation in donors' erythrocytes at specified doses was found to have no effect on the parameters of “lipid peroxidation-antioxidants” system, but dose-dependently it causes their reversible (echinocytes) and irreversible (spherocytes) transformation on the background of membrane rigidity increase. Malondialdehyde level in unchanged activity of antioxidant system enzymes increases significantly in erythrocytes of cervical cancer at Ib–IIa stage under exposure dose of 0.96–2.7 J/cm² that can indicate an oxidative stress formation. In this respect, these doses of femtosecond laser radiation are not recommended for Ib–IIa stage cervical cancer patients.

Key words: cervical cancer; femtosecond laser radiation.

Ежегодно в России регистрируется более 14 000 случаев рака шейки матки (РШМ). Под наблюдением состоят более 150 тыс. женщин, пролеченных по поводу РШМ, при этом ежегодно от него умирает более 6000 женщин. Четко прослеживается закономерность существенного увеличения заболеваемости РШМ молодых женщин в возрастных группах от 20 до 45 лет [1]. Существующие консервативные методы лечения РШМ малоэффективны, а хирургические (криодеструкция, электрокоагуляция, диатермокоагуляция), дающие сравнительно высокий процент положительных результатов и получившие широкое распространение, имеют, к сожалению, ряд существенных недостатков. В ряде клинических и экспериментальных работ [2–4] показана возможность использования лазеров для уничтожения опухолевых клеток. Коагуляционный некроз, термодеструкция и испарение опухолевой ткани достигаются при использовании высокоэнергетических лазеров с высокой мощностью излучения. Фемтосекундное лазерное излучение также применяется для фотодинамической терапии опухолей. При этом опухолевые клетки перед облучением «метят» наночастицами, в частности наночастицами золота [5–7].

Фемтосекундные лазеры — идеальный инструмент для управления процессами в биологических системах. Малая длительность импульса (порядка 100·10⁻¹⁵ с), высокая пиковая (6 кВт) и малая средняя (1,25 мВт) мощности, высокая временная и пространственная когерентность позволяют предполагать отсутствие выраженных термических эффектов. При этом рассматривается возможность гибели опухолевых клеток по механизму апоптоза, исключающему развитие цепных радикальных токсических реакций [4, 8].

Названные особенности дают возможность использования фемтосекундного лазерного излучения (ФСЛИ) в предоперационном периоде при лечении солидных злокачественных опухолей со значительным уменьшением лучевой нагрузки на пациента и снижением потенциальной опухоли к метастазированию. Однако разрушение опухолевых клеток таким способом может вызвать на уровне организма развитие токсических

реакций [8–10]. С этой точки зрения представляет интерес изучение возможностей применения ФСЛИ при РШМ Ib–IIa стадии, на которой используются хирургические методы лечения.

Цель исследования — оценка морфофункционального состояния эритроцитов периферической крови больных раком шейки матки на Ib–IIa стадии заболевания после воздействия фемтосекундного лазерного излучения с различной плотностью потока энергии.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили эритроциты периферической крови доноров и больных РШМ, подвергшихся обследованию в гинекологическом отделении Ульяновского областного клинического онкологического диспансера. Пациентки имели Ib–IIa стадию заболевания по FIGO (местно-ограниченный процесс).

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)). Все пациенты дали письменное информированное согласие для научного анализа их данных.

Облучение эритроцитов проводили в пластиковых кюветках фемтосекундным лазером, являющимся совместной разработкой Научного центра волоконной оптики РАН и Ульяновского государственного университета (длительность импульса — 100 фс; средняя мощность — 1,25 мВт; пиковая мощность — 6 кВт). При облучении использовались по четыре разных временных режима (1, 3, 5, 10 мин) на расстоянии 3 и 5 см. В итоге дозы облучения составили 0,10; 0,27; 0,29; 0,48; 0,81; 0,96; 1,35; 2,7 Дж/см².

Для оценки топографии и ригидности эритроцитов использовали сканирующий зондовый микроскоп SolverProNT-MDT (Зеленоград) и фирменные кремниевые зонды с жесткостью 0,20 Н/м. Радиус закругления кончика зонда составлял примерно 50 нм.

Для оценки показателей системы «перекисное окисление липидов–антиоксиданты» (ПОЛ–АО) в эритроцитах определяли уровень малонового диальдегида (МДА) в тесте с тиобарбитуровой кислотой, а также

Таблица 1
Уровень МДА и активность ферментов АОЗ в эритроцитах доноров (n=20) и больных РШМ (n=24) после различных доз ФСЛИ *in vitro* (M±m)

Показатели	Дозы ФСЛИ, Дж/см ²																	
	Контроль		0,10		0,27		0,29		0,48		0,80		0,96		1,35		2,70	
	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa	Доноры	РШМ Ib-IIa
ГТ, ммоль/мин/л	0,131±0,015	0,162±0,018	0,140±0,032	0,149±0,020	0,126±0,026	0,155±0,020	0,121±0,025	0,145±0,019	0,147±0,047	0,157±0,017	0,136±0,021	0,152±0,019	0,126±0,017	0,147±0,018	0,126±0,017	0,147±0,018	0,136±0,018	0,149±0,015
СОД, усл. ед.	0,827±0,121	0,773±0,096	0,852±0,140	1,480±0,103*	0,822±0,233	1,350±0,084*	0,511±0,206	1,250±0,046*	1,620±0,089*	0,863±0,094	0,548±0,200	1,850±0,136*	0,734±0,239	1,560±0,072*	0,780±0,216	1,560±0,072*	0,741±0,143	1,550±0,107*
Каталаза, ммоль/мин/л	0,116±0,026	0,084±0,007	0,122±0,031	0,112±0,031	0,092±0,010	0,130±0,035*	0,087±0,017	0,132±0,035*	0,073±0,013	0,060±0,009*	0,101±0,009	0,105±0,013	0,075±0,013	0,077±0,013	0,094±0,011	0,077±0,013	0,082±0,015	0,092±0,021
МДА, мкмоль/л	446,60±28,75	485,60±47,31	509,00±24,27	580,50±31,05	490,60±36,78	933,50±47,25	503,90±21,45	580,50±60,82	655,30±44,91	784,10±37,80	469,70±28,66	868,50±59,38	486,90±18,45	866,20±80,26	510,30±38,81	866,20±80,26	450,64±44,09	513,90±55,27

* — статистически значимая разница значений с контролем, p ≤ 0,05.

активность ферментов системы антиоксидантной защиты (АОЗ): каталазы, глутатион-S-трансферазы (ГТ), супероксиддисмутазы (СОД).

Статистическую значимость полученных результатов оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия между группами считали статистически значимыми при p < 0,05.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что уровень МДА — вторичного продукта ПОЛ — в эритроцитах больных РШМ существенно и значимо повышен по сравнению с его уровнем у доноров. После ФСЛИ статистически значимое увеличение уровня МДА наблюдается при дозах воздействия 0,96; 1,35 и 2,70 Дж/см² (табл. 1).

При анализе активности антиоксидантных ферментов установлено, что активность каталазы, сниженная в эритроцитах больных РШМ Ib–IIa стадии по сравнению с эритроцитами доноров под влиянием ФСЛИ статистически значимо возрастает при дозах облучения 0,27 и 0,29 Дж/см² и снижается при дозе 0,80 Дж/см². И если одновременное повышение уровня МДА и активности ферментов АОЗ может свидетельствовать о переходе системы ПОЛ–АО на более высокий уровень функционирования, то разнонаправленная динамика этих параметров говорит о возможности развития оксидативного стресса [11]. Активность ГТ статистически значимо не изменялась в эритроцитах больных РШМ Ib–IIa стадии после всех доз облучения, при этом активность СОД оказалась значимо повышенной после всех исследуемых доз ФСЛИ, кроме дозы 0,80 Дж/см² (см. табл. 1).

С 1990-х годов в биомедицинских исследованиях активно используется метод сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ), который предоставил возможность изучать параметры клеток, не прибегая к длительной и сложной фиксации, тем самым минимально искажая получаемую информацию. Метод СЗМ позволяет измерять локальные упругие свойства поверхности клеток. В работах Л.В. Корси с соавт. [12] показано, что при облучении эритроцитов в различных спектральных диапазонах полупроводниковыми лазерами, лазерами на красителях и твердотельным титан-сапфировым лазером деформируемость эритроцитов носит резонансный характер в зависимости от полос спектра поглощения молекулярного кислорода при высоком давлении.

Изменение цитоархитектоники эритроцитов доноров после ФСЛИ нами было изучено ранее [13]. При сканировании образцов интактных эритроцитов методом СЗМ обнаружены в основном нормоциты. После воздействия ФСЛИ при плотности потока энергии 0,29 Дж/см² цитоархитектоника эритроцитов меняется. На сканированном снимке наблюдаются обратимо деформированные формы — эхиноциты. Их появление в физиологических условиях связано с изменением ионной проницаемости мембраны, с нарушением работы каналов. При дозах 0,81 и 0,96 Дж/см² отмечаются сфероциты, что четко видно на 3D-изображении. При воздействии дозами 1,35 и 2,70 Дж/см² практически все эритроциты на сканированных образцах представ-

ляют собой сфероциты. Они могут быть неправильной формы с измененными линейными размерами.

В ходе исследования цитоархитектоники эритроцитов больных РШМ на стадии Ib–IIa обнаруживаются трансформированные формы. При этом индекс трансформации (отношение трансформированных форм к числу дискоцитов) составляет у них $2,013 \pm 0,009$ (у доноров — $0,126 \pm 0,012$). Таким образом, больные РШМ имеют сниженное содержание дискоцитов и повышенное количество обратимо (эхиноциты) и необратимо (сфероциты) трансформированных эритроцитов. Возрастание индекса трансформации при РШМ происходит за счет увеличения эритроцитов с выростами эхиноцитарного ряда (2-го и 3-го классов), а также за счет возрастания эритроцитов с необратимо измененной формой, в частности стоматоцитов (6-й класс) и эритроцитов в виде «спущенного мяча» (9-й класс) (рис. 1).

Известно [14], что повреждение эритроцитов приводит к усилению оксидативного стресса, так как трансформированные эритроциты становятся источником свободного железа (nonprotein-bound iron), которое является активным окислителем и способно генерировать активные формы кислорода. При изучении цитоархитектоники эритроцитов больных РШМ стадии Ib–IIa после различных доз ФСЛИ установлены их существенные изменения по сравнению с донорами (табл. 2). После ФСЛИ с увеличением дозы нарастает количество измененных форм (рис. 2, 3).

Проведенные исследования показали, что ФСЛИ оказывает влияние на ригидность мембран эритроцитов (рис. 4), которые служат удобным объектом для изучения действия оксидативного стресса на клеточные мембраны [15]. На Ib–IIa стадии РШМ оно приводит к увеличению ригидности мембран эритроцитов

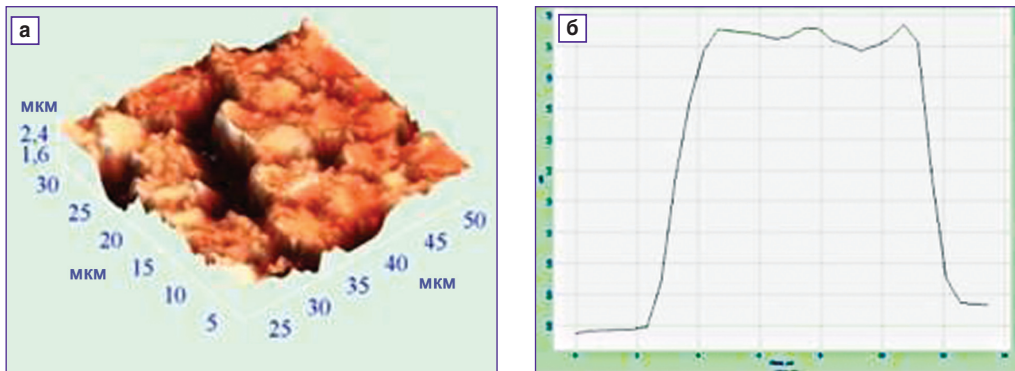


Рис. 1. Изображение в 3D (а) и боковое сечение профиля (б) эритроцитов на Ib–IIa стадии рака шейки матки

Таблица 2

Морфологические формы эритроцитов у доноров и больных РШМ (M±m)

Типы эритроцитов	Эритроциты у доноров (n=15)	Эритроциты у больных РШМ Ib–IIa стадии (n=29)
Дискоциты, %	88,6±0,9	37,0±1,3
Эхиноциты, %	4,2±0,4	16,8±0,7
Сфероциты, %	7,3±0,3	41,3±0,9
Другие (деструктивные), %	0,8±0,1	5,7±0,4

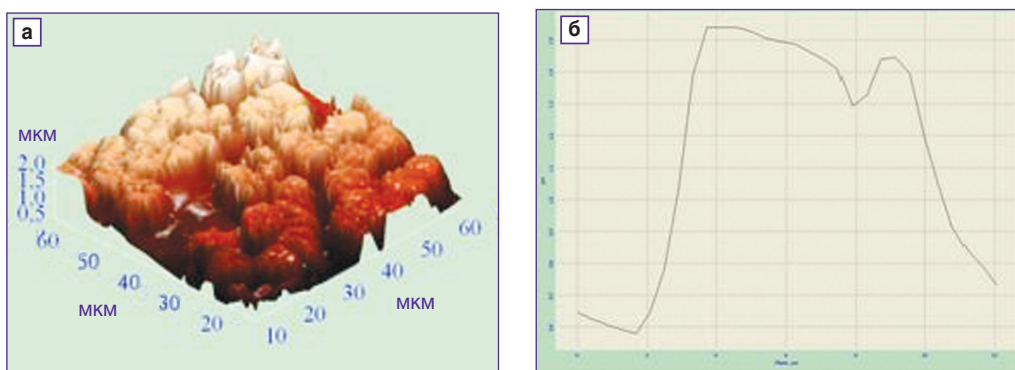


Рис. 2. Изображение в 3D (а) и боковое сечение профиля (б) эритроцитов на Ib–IIa стадии рака шейки матки при воздействии фемтосекундного лазерного излучения в дозе 0,96 Дж/см²

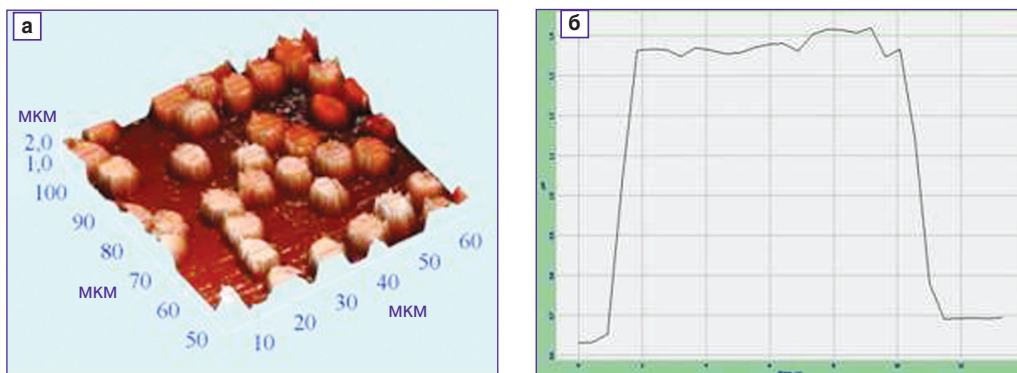


Рис. 3. Изображение в 3D (а) и боковое сечение профиля (б) эритроцитов на Ib–IIa стадии рака шейки матки при воздействии фемтосекундного лазерного излучения в дозе 1,35 Дж/см²

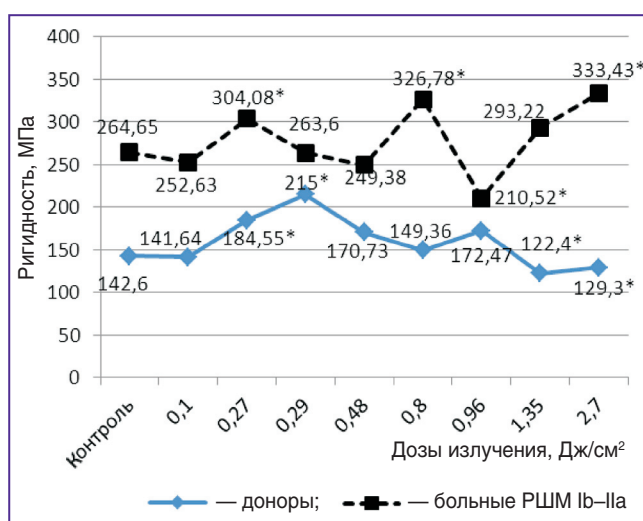


Рис. 4. Ригидность мембран эритроцитов доноров и больных раком шейки матки Ib–IIa стадии после воздействия фемтосекундного лазерного излучения *in vitro*; * — данные статистически значимо различаются со значениями в контрольной группе ($p \leq 0,05$)

при воздействии всех изученных доз, кроме дозы 0,96 Дж/см². При этом облучение эритроцитов доноров при плотностях потока энергии 1,35 и 2,7 Дж/см² вызывает снижение ригидности мембран (см. рис. 4).

Таким образом, у больных РШМ Ib–IIa стадии при дозах ФСЛИ 0,96–2,7 Дж/см² при отсутствии существенных изменений цитоархитектоники эритроцитов возможно возникновение оксидативного стресса.

Заключение. Фемтосекундное лазерное излучение в указанных дозах 0,10–2,7 Дж/см² в эритроцитах доноров не влияет на параметры системы «перекисное окисление липидов–антиоксиданты», но дозозависимо вызывает обратимую (эхиноциты) и необратимую (сфероциты) их трансформацию на фоне увеличения ригидности мембраны. В эритроцитах больных раком шейки матки Ib–IIa стадии при дозе облучения 0,96–2,7 Дж/см² значительно увеличивается уровень малонового диальдегида при неизменной активности ферментов антиоксидантной системы, что может свидетельствовать о возникновении оксидативного стресса.

Финансирование исследования. Работа поддержана Государственным заданием Министерства образования и науки Российской Федерации.

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2009 году (заболеваемость и смертность). М; 2011; 260 с.
2. Черемисина О.В., Вусик М.В., Солдатов А.Н., Рейнер И.В. Современные возможности эндоскопических лазерных технологий в клинической онкологии. Сибирский онкологический журнал 2007; 4: 5–11.
3. Castren-Persons M., Schröder T., Lehtonen E. Sensitivity to Nd:YAG induced laserthermia is a cell-type-specific feature not directly related to tumorigenic potential or proliferation rate. *Lasers Surg Med* 1996; 18(4): 420–428.
4. Anguez F.A., Courtade E., Silvery A., Suret P., Randoux S. High-power tunable Raman fiber ring for the investigation of single oxygen production from direct laser excitation around 1270 nm. *Optics Express* 2010; 18(22): 22928–22936, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.18.022928>.
5. Tse C., Zohdy M.J., Ye J.Y., O'Donnell M., Lesniak W., Balogh L. Enhanced optical breakdown in KB cells labeled with folate-targeted silver-dendrimer composite nanodevices. *Nanomedicine* 2011; 7(1): 97–106, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2010.09.003>.
6. Kuo T.R., Hovhannisyann V.A., Chao Y.C., Chao S.L., Chiang S.J., Lin S.J. Multiple release kinetics of targeted drug from gold nanorod embedded polyelectrolyte conjugates induced by near-infrared laser irradiation. *J Am Chem Soc* 2010; 132(40): 14163–14171, <http://dx.doi.org/10.1021/ja105360z>.
7. Li J.L., Gu M. Surface plasmonic gold nanorods for enhanced two-proton microscopic imaging and apoptosis induction of cancer cells. *Biomaterials* 2010; 31(36): 9492–9498, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.068>.
8. Weyergang A., Selbo P.K., Bestad M.E., Bostad M., Berg K. Photochemical internalization of tumor-targeted protein toxins. *Lasers Surg Med* 2011; 43(7): 721–733, <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.21084>.
9. Paiva M.B., Joo J., Abrahao M., Ribeiro J.C., Cervantes O., Sercarz J.A. Update on laser photochemotherapy: an alternative for cancer treatment. *Anti-Cancer Agents Med Chem* 2011; 9: 32–37, <http://dx.doi.org/10.2174/187152011797378742>.
10. Moskalik K.G., Alexeeva L.N., Novik V.I., Demin E.V., Kozlov A.P. Morphological changes in human skin melanoma treated by high-energy pulsed neodymium laser radiation. *J BUON* 2011; 16(2): 341–344.
11. Лю Б.Н., Лю М.Б., Исмаилов Б.И. Роль митохондрий в раз-

витами и регуляции уровня окислительного стресса в норме, при клеточных патологиях и реверсии опухолевых клеток. Успехи современной биологии 2006; 126(4): 388–398.

12. Korsi L.V., Sokolov V.G. Laser method of photochemical destruction of tumors without exogenous sensitizers. In: Laser optical systems and technologies. Federal State Unitary Enterprise NPO Astrophysics. M; 2009: 101–106.

13. Signorini C., Perrone S., Sgherri C., Ciccoli L., Buonocore G., Leoncini S. Plasma esterified F2-isoprostanes and oxidative stress in newborns: role of nonprotein-bound iron. *Pediatr Res* 2008; 63(3): 287–291, <http://dx.doi.org/10.1203/PDR.0b013e318163a1fd>.

14. Генинг Т.П., Арсланова Д.Р., Абакумова Т.В., Светухин В.В., Антонеева И.И., Генинг С.О. Морфофункциональное состояние эритроцитов периферической крови после воздействия фемтосекундного лазерного излучения. *Соврем технол мед* 2013; 5(1): 58–63.

15. Tsuda K. Oxidative stress and membrane fluidity of red blood cells in hypertensive and normotensive men: an electron spin resonance investigation. *Int Heart J* 2010; 51(2): 121–124, <http://dx.doi.org/10.1536/ihj.51.121>.

References

1. Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2009 godu (zabolevaemost' i smertnost')* [Malignant neoplasms in Russia in 2009 (incidence and death rate)]. Moscow; 2011; 260 p.

2. Cheremisina O.V., Vusik M.V., Soldatov A.N., Reiner I.B. *Sovremennye vozmozhnosti endoskopicheskikh lazernykh tekhnologiy v klinicheskoy onkologii* [Endoscopic laser technologies in clinical oncology]. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal — Siberian Journal of Oncology* 2007; 4: 5–11.

3. Castren-Persons M., Schröder T., Lehtonen E. Sensitivity to Nd:YAG induced laserthermia is a cell-type-specific feature not directly related to tumorigenic potential or proliferation rate. *Lasers Surg Med* 1996; 18(4): 420–428.

4. Anguez F.A., Courtade E., Silvery A., Suret P., Randoux S. High-power tunable Raman fiber ring for the investigation of singlet oxygen production from direct laser excitation around 1270 nm. *Optics Express* 2010; 18(22): 22928–22936, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.18.022928>.

5. Tse C., Zohdy M.J., Ye J.Y., O'Donnell M., Lesniak W., Balogh L. Enhanced optical breakdown in KB cells labeled with folate-targeted silver-dendrimer composite nanodevices. *Nanomedicine* 2011; 7(1): 97–106, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2010.09.003>.

6. Kuo T.R., Hovhannisyanyan V.A., Chao Y.C., Chao S.L., Chiang S.J., Lin S.J. Multiple release kinetics of targeted drug from gold nanorod embedded polyelectrolyte conjugates induced by near-infrared laser irradiation. *J Am Chem Soc* 2010; 132(40): 14163–14171, <http://dx.doi.org/10.1021/ja105360z>.

7. Li J.L., Gu M. Surface plasmonic gold nanorods for enhanced two-proton microscopic imaging and apoptosis induction of cancer cells. *Biomaterials* 2010; 31(36): 9492–9498, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.068>.

8. Weyergang A., Selbo P.K., Bestad M.E., Bostad M., Berg K. Photochemical internalization of tumor-targeted protein toxins. *Lasers Surg Med* 2011; 43(7): 721–733, <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.21084>.

9. Paiva M.B., Joo J., Abrahao M., Ribeiro J.C., Cervantes O., Sercarz J.A. Update on laser photochemotherapy: an alternative for cancer treatment. *Anti-Cancer Agents Med Chem* 2011; 9: 32–37, <http://dx.doi.org/10.2174/187152011797378742>.

10. Moskalik K.G., Alexeeva L.N., Novik V.I., Demin E.V., Kozlov A.P. Morphological changes in human skin melanoma treated by high-energy pulsed neodymium laser radiation. *J BUON* 2011; 16(2): 341–344.

11. Lyu B.N., Lyu M.B., Ismailov B.I. Rol' mitokondriy v razvitiy i regulyatsii urovnya oksiditel'nogo stressa v norme, pri kletochnykh patologiyakh i reversii opukholevykh kletok [The role of mitochondria in oxidative stress development and regulation in norm, cell pathology and tumor cell reversion]. *Uspekhi sovremennoy biologii — Advance of Modern Biology* 2006; 126(4): 388–398.

12. Korsi L.V., Sokolov V.G. Laser method of photochemical destruction of tumors without exogenous sensitizers. In: *Laser optical systems and technologies. Federal state unitary enterprise NPO astrophysics*. M; 2009: 101–106.

13. Signorini C., Perrone S., Sgherri C., Ciccoli L., Buonocore G., Leoncini S. Plasma esterified F2-isoprostanes and oxidative stress in newborns: role of nonprotein-bound iron. *Pediatr Res* 2008; 63(3): 287–291, <http://dx.doi.org/10.1203/PDR.0b013e318163a1fd>.

14. Генинг Т.П., Арсланова Д.Р., Абакумова Т.В., Светухин В.В., Антонеева И.И., Генинг С.О. Морфофункциональное состояние эритроцитов периферической крови после воздействия фемтосекундного лазерного излучения. *Соврем технол мед* [Morphofunctional state of peripheral blood erythrocytes after femtosecond laser treatment]. *Sovrem Tehnol Med — Modern Technologies in Medicine* 2013; 5(1): 58–63.

15. Tsuda K. Oxidative stress and membrane fluidity of red blood cells in hypertensive and normotensive men: an electron spin resonance investigation. *Int Heart J* 2010; 51(2): 121–124, <http://dx.doi.org/10.1536/ihj.51.121>.