

## ВПЛИВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ БІОМЕМБРАН

Л. В. Січевська<sup>id</sup>, Т. М. Овсяннікова<sup>id</sup>, А. О. Коваленко<sup>id</sup>, І. А. Забеліна<sup>id</sup>,  
О. М. Левченко<sup>id</sup>, О. В. Гурін<sup>id</sup>, В. П. Берест<sup>id</sup>

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022,  
Україна

e-mail: [sichevska@karazin.ua](mailto:sichevska@karazin.ua)

Надійшла до редакції 12 квітня 2024 р. Переглянута 18 серпня 2024 р.

Прийнята до друку 6 вересня 2024 р.

**Актуальність.** Дослідження фізичних та молекулярних механізмів впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ) широкого частотного діапазону на біологічні об'єкти дозволяє з'ясувати проблему лазерної фотомодуляції на рівні природних біологічних мембран та їх модельних аналогів.

**Мета роботи.** Виявлення молекулярних та фізичних механізмів впливу НІЛВ широкого частотного діапазону на біологічні об'єкти різного рівня складності.

**Матеріали та методи.** Об'єкти дослідження: одноклітинні організми *S. cerevisiae*, концентрація клітин в зразку  $18 \times 10^6$ ; модельні ліпідні мембрани з суміші фосфатидилхоліну та кардіоліпіну з різним вмістом компонент (10%, 20% та 40% кардіоліпіну), що моделює поверхневі електричні властивості ліпідних моделей. Спектрофотометричне дослідження перерозподілу зарядів на клітинній поверхні здійснювали з використанням барвника бромтимолового синього. Комплексоутворення цитохрому *c* з модельними мембранами досліджували спектрофотометрично на довжині хвилі смуги Core (405–410 нм). Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжиною хвилі та щільністю потужності, відповідно: 337 нм, 2,8 мВт/см<sup>2</sup>; 532 нм, 9,5 мВт/см<sup>2</sup>; 70,5 нм, 10,0 мВт/см<sup>2</sup> на клітинну поверхню дріжджів; 632,8 нм, 5,1 мВт/см<sup>2</sup> на ліпосоми з різним білок-ліпідним складом.

**Результати.** НІЛВ широкого частотного діапазону спричиняє зміну поверхневих електричних властивостей клітин *S. cerevisiae*, а саме, перерозподіл поверхневих зарядів клітинної мембрани, як наслідок реєструється зміна поверхневого мембранного потенціалу. Опромінення зразків модельних ліпідних мембран гелій-неоновим лазером призводить до зміни поверхневих характеристик ліпосом, що впливає на кінетичні параметри утворення білок-ліпідних комплексів за участю цитохрома *c*.

**Висновки.** Мішенню процесів лазерної фотомодуляції є поверхня біологічної мембрани як природних клітин, на прикладі клітин дріжджів, так і модельних ліпідних мембран з суміші фосфоліпідів з різним вмістом компонент. Створення ліпідних моделей, за білковим та ліпідним складом наближених до природних мембран, дозволяє в моделі передбачити реакцію клітинних мембран на дію НІЛВ, зрозуміти молекулярні механізми процесів лазерної фотомодуляції.

---

**Як цитувати:** Січевська ЛВ, Овсяннікова ТМ, Коваленко АО, Забеліна ІА, Левченко ОМ, Гурін ОВ, Берест ВП. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на фізико-хімічні показники біомембран. Біофізичний вісник. 2024;52:7–20. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2024-52-01>

**In cites:** Sichevska LV, Ovsyannikova TM, Kovalenko AO, Zabelina IA, Levchenko OM, Gurin OV, Berest VP. Influence of low-level laser radiation on the physico-chemical indicators of biomembranes. Biophysical Bulletin. 2024;52:7–20. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2024-52-01> (in Ukrainian)

**Open Access.** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

© Січевська Л. В., Овсяннікова Т. М., Коваленко А. О., Забеліна І. А., Левченко О. М., Гурін О. В., Берест В. П., 2024.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** низькоінтенсивне лазерне випромінювання; клітини *S. cerevisiae*; ліпосоми; мембранний потенціал; білок-ліпідні взаємодії; цитохром *c*; кардіоліпін; фосфатидилхолін.

Фотобіомодулююча ефективність низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ) в широкому діапазоні довжин хвиль на сьогодні досліджується на різних рівнях організації живого: на прикладі одноклітинних організмів [1, 2], культур клітин [3], клітин крові [4, 5] та на клітинних органелах [6–8]. Лазерне випромінювання низької потужності має великі потенційні можливості в якості регулятора фізіологічних та метаболічних процесів в біологічних об'єктах і на даний час широко застосовується в галузях біології та медицини [9–11]. Дослідження молекулярних механізмів впливу лазерного випромінювання на біологічні об'єкти дозволили отримати перспективне рішення проблеми сьогодення — доставки ліків з подоланням природних біологічних бар'єрів [12]. Новітні технології використання лазерного випромінювання дозволяють досягти ад'ювантного ефекту, який називають «лазерним ад'ювантом» [13, 14]. З огляду на результати наукових досліджень біологічна ефективність НІЛВ ґрунтується на фототермічній дії випромінювання за рахунок перетворення енергії фотонів в тепло [15] та прояву фотохімічного ефекту [3, 16] лазерного випромінювання. Сучасні наукові гіпотези [17, 18] пов'язують біологічну ефективність НІЛВ із запуском молекулярних реакцій в клітинах за участю ендогенних фотосенсибілізаторів. Реакція біологічних об'єктів на дію НІЛВ різних частотних діапазонів забезпечується наявністю в структурі клітинних мембран специфічних фотоакцепторів таких як порфірини, опсини, флавіни і флавопротеїни [12]. Однак, молекулярні механізми лазерного ефекту на рівні біологічних мембран на сьогоднішній день не мають вичерпного пояснення. Зрозуміти, яким чином клітинні структури виступають мішенями при застосуванні лазерного випромінювання, можливо з вивченням дії НІЛВ *in vitro* на різні мембранні структури, у тому числі, із застосуванням модельних систем ліпідних мембран, які за хімічним складом максимально наближені до природних біомембран, наприклад, еритроцитів і мітохондрій, що моделюються ліпідними мембранами з вмістом фосфатидилхоліну та кардіоліпіну.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

З метою дослідження клітинних ефектів за умов впливу лазерного випромінювання використовували культуру одноклітинних організмів *S. cerevisiae*. Робочий розчин клітин отримували з 1% суспензії дріжджів, тричі відмитих фізіологічним розчином шляхом центрифугування при 1500 об/хв протягом 10 хв та ресуспедованих у 8 мл розчину 5мМ трис-НС1 буфера (рН 7,4). Кінцева концентрація клітин в досліджуваному зразку становила  $18 \times 10^6$  клітин.

Дослідження структурних змін клітинної поверхні опромінених дріжджів здійснювали за допомогою барвника — бромтимолового синього (БТС). Робоча концентрація БТС в 5 мМ розчині трис НС1 буфера (рН 7,4) становила 0,1 мМ. Інкубацію клітин з аліквотою барвника в інтервалі концентрацій 1,6–16 мкМ здійснювали протягом 15 хвилин з дотриманням температурних умов 25 °С. Вміст вільного барвника визначали у надосаді після центрифугування зразків протягом 10 хв при 1500 об/хв. Спектрофотометричне дослідження надосаду здійснювали на довжині хвилі 615 нм. Розрахунок концентрації вільного барвника здійснювали за формулою (1) та за даними концентраційної градувальної залежності БТС ( $2,5 \div 20$  мкМ):

$$C_B = \frac{C_0 \cdot D_f}{D_0} \quad (1)$$

де:  $D_0$  — оптична щільність розчину барвника концентрації  $C_0$ ;  $D_f$  — оптична щільність надосаду досліджуваного зразка;  $C_0$  — початкова концентрація барвника в зразку;  $C_B$  — концентрація вільного барвника в зразку. Значення концентрації  $C_{зв}$  зв'язаного барвника

отримували за розрахунковою формулою  $C_{зв} = C_0 - C_в$ . Рівноважне зв'язування БТС із центром взаємодії на поверхні клітин дріжджів аналізували в рамках адсорбційної теорії Ленгмюра [19].

Моделювання поверхневих властивостей ліпідних мембран здійснювали додаванням в суміш ліпідів аніонного фосфоліпиду кардіоліпіну. Модельні ліпідні мембрани формували із суміші ліпідів: фосфатидилхоліну (ФХ) та кардіоліпіну (КЛ) з різним вмістом компонент. В якості вихідних розчинів використовували 10% етанольний розчин фосфатидилхоліну (Sigma) (100 мг/мл), 0,5% етанольний розчин кардіоліпіну (Sigma) (5 мг/мл). Суміші ліпідів для формування ліпосом мали наступний склад: розчин фосфатидилхоліну (ФХ), розчин фосфатидилхоліну з вмістом кардіоліпіну 10%, 20% та 40% (ФХ+КЛ10%, ФХ+КЛ20%, ФХ+КЛ40%). Модельні ліпідні мембрани отримували методом інжекції за постійних температурних умов ( $T=25^{\circ}\text{C}$ ) [20, 21]. Діаметр ліпідних везикул контролювали методом світлорозсіювання [22]. Середній діаметр ліпідних везикул становив 100 нм. Кінцева концентрація ліпідів в досліджуваних зразках ліпосом становила 0,5 мМ.

Комплексоутворення цитохрому *c* (Цит *C*) з модельними ліпідними мембранами досліджували спектрофотометрично на спектрофотометрі HitachiU-3210, в термостатованих кюветах  $10 \times 10$  мм на довжині хвилі смуги Сорє 405–410 нм. Робоча концентрація розчину білка становила 1 мкМ. Кінетичні залежності зміни оптичної щільності Цит *C* в розчині та при його взаємодії з модельними ліпідними мембранами описували рівнянням [23]:

$$D/D_0 = A_1 e^{-k_1 t} + A_2 e^{-k_2 t}, \quad (2)$$

де  $D_0, D$  — поглинання світла цитохромом *c* в буферному розчині та в суспензії ліпосом, відповідно;  $A_1, A_2$  — амплітуди кінетичних 1 та 2 фаз, відповідно;  $k_1, k_2$  — кінетичні константи. Кінетичні параметри визначали з застосуванням методу найменших квадратів.

Лазерне опромінення зразків клітин дріжджів в ультрафіолетовому діапазоні здійснювали імпульсним азотним лазером ( $\lambda = 337$  нм), середня потужність випромінювання 5 мВт, щільність потужності випромінювання  $2,8$  мВт/см<sup>2</sup>. Опромінення з довжиною хвилі  $\lambda=532$  нм (зелена область спектру) здійснювали твердотільним лазером типу DPSS (виробник Китай), середня потужність випромінювання 20 мВт, щільність потужності випромінювання  $9,5$  мВт/см<sup>2</sup>. Опромінення зразків клітин в субміліметровому діапазоні здійснювали безперервним CO<sub>2</sub>-лазером ( $\lambda = 70,5$  мкм), середня потужність випромінювання 20 мВт, щільність потужності випромінювання  $9,2$  мВт/см<sup>2</sup>. Товщина шару опромінюваної суспензії клітин становила 1 мм, час опромінення зразків 10 хвилин.

Лазерне опромінення зразків модельних ліпосомальних мембран та розчинів цитохрому *c* здійснювали He-Ne лазером  $\lambda=632,8$  нм, середня потужність випромінювання 1 мВт, щільність потужності випромінювання  $5,1$  мВт/см<sup>2</sup>. Товщина шару опромінюваної суспензії ліпосом становила 1 мм.

Статистична обробка даних здійснювалася із застосуванням програмного пакету Аналіз даних MS Excel. Результати в таблиці 1 представлені як середнє  $\pm$  довірчий інтервал. Достовірність апроксимації (R) експериментальних даних (Рис. 2, 3) відповідною функцією (2) складала не менше 0,9 ( $n=3$ ).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Вплив НІЛВ на біоб'єкти, зокрема, на клітини чи клітинні органели, передусім, спричиняє зміну властивостей їх мембранної поверхні, внаслідок чого ініціюється низка перебудов міжмолекулярних взаємодій, що призводить до зміни поверхневого

мембранного потенціалу. Відомо, що поверхневий мембранний потенціал клітини є важливим фізико-хімічним чинником для забезпечення таких параметрів біологічної активності, як стійкість клітини до дії фізичних факторів, активація клітини, міжклітинні взаємодії та інше [24, 25].

З метою виявлення механізмів впливу лазерного випромінювання на поверхню клітинної мембрани експериментально досліджували особливості взаємодії аніонного барвника БТС з клітинами дріжджів, опроміненими в досліджуваному діапазоні довжин хвиль. Перерозподіл аніонного барвника на біологічній мембрані є чутливим показником структурних перебудов поверхні клітини за умов дії фізичних чинників і лазерного випромінювання, зокрема. Особливості хімічної будови молекули БТС пов'язані з наявністю від'ємного заряду та великої гідрофобної поверхні. Ефективність взаємодії барвника з біомембраною визначається розподілом полярних груп на її поверхні, та встановленням первинних електростатичних контактів. Наявність гідрофобної частини молекули БТС забезпечує його здатність до взаємодії з неполярною поверхнею мембрани. Завдяки своїм структурним особливостям барвник не здатний глибоко проникати в ліпідний бішар, а аніонна група молекули БТС залишається на мембранній поверхні [26, 27]. За особливостями молекулярної будови клітинна стінка *S. cerevisiae* розглядається як модульно-решітчаста структура з доволі великими отворами, через які можуть дифундувати молекули різного типу [28]. Проникність клітинної стінки обмежується молекулами з гідродинамічним радіусом до 5,8 нм [29, 30]. Клітинна стінка гнучко взаємодіє з плазматичною мембраною. Саме такі особливості будови клітинної поверхні забезпечують важливі транспортні функції дріжджів, які пов'язані з перенесенням іонів сидерофорами. З огляду на фізико-хімічні властивості БТС та просторову структуру клітинної стінки слід передбачити, що кінцева точка сорбції барвника є плазматична мембрана *S. cerevisiae*.

Характер перерозподілу аніонного барвника на клітинній мембрані визначається щільністю зарядів протилежного знаку на її поверхні, це дозволяє описати концентраційний розподіл аніону на мембрані статистичним рівнянням Больцмана:

$$C_x = C_0 \exp \frac{-Ze\varphi}{kT} \quad (3)$$

де  $C_0, C_x$  — загальна концентрація та концентрація зв'язаного ліганда, відповідно,  $Z$  — заряд молекули ліганда,  $e$  — елементарний заряд,  $\varphi$  — потенціал на межі розподілу фаз,  $k$  — стала Больцмана.

Зміни локальної концентрації барвника в примембранному шарі визначаються величиною поверхневого мембранного потенціалу. Електричні характеристики мембранної поверхні впливають на ефективність формування ліганд-рецепторних комплексів за участю БТС та на константу асоціації цих комплексів. З огляду на особливості електростатичних взаємодій за участю барвника можна припустити:

$$K_a = K_a^0 \exp \frac{-Ze\varphi}{kT} \quad (4)$$

де  $K_a^0$  — константа зв'язування для незарядженої мембрани,  $K_a$  — константа утворення ліганд-рецепторних комплексів на зарядженій мембрані. Для двох станів клітинної мембрани, неопромінені клітини та клітини опромінені електромагнітним випромінюванням, будуть характерні відповідні константи асоціації  $K_{a1}$  та  $K_{a2}$ . Для двох різних значень поверхневих потенціалів  $\varphi_1$  (неопромінений контроль) і  $\varphi_2$  (опромінений зразок) буде виконуватися співвідношення:

$$\frac{K_{a1}}{K_{a2}} = \exp \frac{Ze\Delta\varphi}{kT} \quad (5)$$

$$\Delta\varphi = \varphi_1 - \varphi_2 = \frac{kT}{Ze} \ln \frac{K_{a1}}{K_{a2}} \quad (6)$$

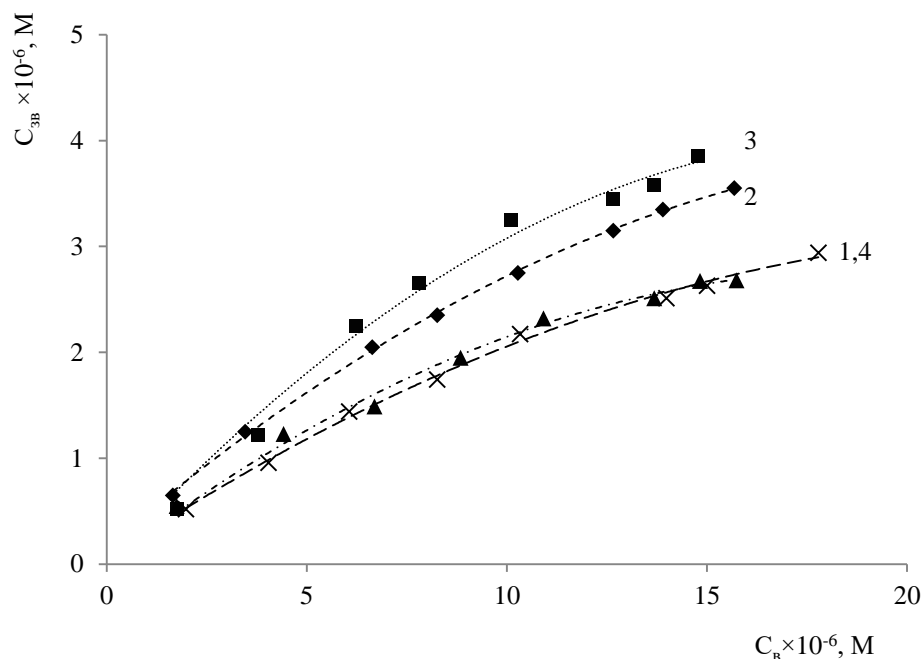


Рис. 1. Зв'язування бромтимолового синього плазматичними мембранами дріжджів за умов дії лазерного випромінювання: 1 — неопромінений контроль; 2 — 337 нм; 3 — 532 нм; 4 — 70,5 мкм.

Fig. 1. Binding of bromothymol blue by plasma membranes of yeast under the conditions of laser radiation: 1 — non-irradiated control; 2 — 337 nm; 3 — 532 nm; 4 — 70.5  $\mu m$ .

Параметри ліганд-рецепторної взаємодії БТС визначали за методом Скетчарда із експериментальних залежностей титрування барвником суспензії клітин (Рис. 1). Було виявлено зміну параметрів комплексоутворення БТС з опроміненими клітинами в досліджуваному діапазоні довжин хвиль (Рис. 1).

Виявлена загальна тенденція впливу лазерного випромінювання на поверхню клітинної мембрани в широкому діапазоні довжин хвиль: опромінення спричиняє зменшення константи зв'язування та зростання числа центрів сорбції барвника з поверхнею клітин відносно неопроміненого контролю (Табл. 1). З огляду на більшу потужність випромінювання значущі зміни параметрів комплексоутворення виявлені при опроміненні клітин НІЛВ з довжиною хвилі 532 нм: встановлено зростання кількості центрів зв'язування барвника з клітиною ( $N$ , мкМ) у 2,5 рази та зменшення константи зв'язування ( $K_s$ , моль $^{-1}$ ) у 2 рази, у порівнянні з неопроміненим контролем.

Розрахована за встановленими параметрами комплексоутворення барвника зміна мембранного потенціалу вказує на зростання абсолютної величини поверхневого потенціалу під впливом лазерного опромінення досліджуваного діапазону довжин хвиль відносно неопроміненого контролю. Найбільш значущі зміни даного показника встановлені для лазерного опромінення з довжиною хвилі  $\lambda=532$  нм ( $\Delta\phi = -0,77$ ).

Утримання аніонного барвника БТС на поверхні мембрани здійснюється, в першу чергу, за рахунок електростатичних взаємодій. Вплив лазерного випромінювання модифікує мембранну поверхню клітини та впливає на енергетичні параметри комплексоутворення на її поверхні. За результатами експериментальних даних розрахована величина зміни вільної енергії ( $\Delta G$ ) взаємодії, яка знаходиться в інтервалі значень  $-21,97$  кДж/моль  $\div$   $-20,08$  кДж/моль та вказує на високу спорідненість аніонного барвника до біологічних мембран.

Таблиця 1. Параметри комплексоутворення BTS з поверхнею клітинних мембран дріжджів та розраховані величини зміни вільної енергії зв'язування і зміни мембранного потенціалу за умов дії лазерного випромінювання.

Table 1. Parameters of complex formation of BTS with the surface of cell membranes of yeasts and calculated values of changes in free energy of binding and changes in membrane potential under the conditions of laser radiation.

	$K_c \times 10^4 \text{ моль}^{-1}$	N, мкМ	$\Delta G$ , кДж/моль	$\Delta \phi$ , мВ
Контроль	$6,7 \pm 0,3$	$5,21 \pm 0,26$	---	---
$\lambda = 337 \text{ нм}$	$5,93 \pm 0,29$	$7,4 \pm 0,4^*$	-21,66	-0,13
$\lambda = 532 \text{ нм}$	$3,16 \pm 0,16^*$	$13,0 \pm 0,7^{**}$	-20,08	-0,77
$\lambda = 70,5 \text{ мкм}$	$3,81 \pm 0,19^*$	$7,4 \pm 0,4^*$	-20,11	-0,56

\* —  $p < 0,05$  відносно неопроміненого контролю;

\*\* —  $p < 0,01$  відносно неопроміненого контролю

За результатами представлених експериментальних досліджень показано, що мембранна поверхня клітин *S. cerevisiae* реагує на дію лазерного випромінювання широкого частотного діапазону зміною поверхневих електричних властивостей. З огляду на більшу потужність випромінювання максимальний ефект спостерігається під впливом НЛІВ з довжиною хвилі 532 нм. Отримані нами експериментальні дані не суперечать сучасним науковим дослідженням, щодо стресового впливу видимого світла на клітини [31]. Пригнічення дихальної активності оптичним випромінюванням синього та зеленого спектрального діапазонів виявлене в клітинах *S. cerevisiae* [32]. Також авторами [33] встановлено дозозалежне пригнічення поділу культур клітин дріжджів в логарифмічній фазі росту в результаті їх опромінення видимим світлом в широкому інтервалі доз 0-140 Дж/см<sup>2</sup>. Попередні дослідження [2] свідчать про перебудову клітинної мембрани *S. cerevisiae* під впливом лазерного випромінювання двофотонного збудження оптичного діапазону, виявлені ефекти пов'язуються з активацією процесів фотоокислення в клітинних мембранах. Реакції клітин на видиме випромінювання регулюються, переважно, природними фотосенсибілізаторами. Проте, у клітин *S. cerevisiae* на відміну від багатьох інших одноклітинних організмів, відсутні фоторецептори випромінювання оптичного діапазону такі як криптохроми, схитохроми, родопсини [34], окрім цитохромів. Зареєстроване пригнічення дихальної активності клітин дріжджів видимим випромінюванням низької інтенсивності відбувається за рахунок фотопошкодження мітохондріальних мембран за участі ендогенних фотосенсибілізаторів цитохромів [32]. Також клітини *S. cerevisiae* здатні сприймати видиме світло через пероксисомальну флавіновмісну ацил-КоА-оксидазу, фотоактивація якої супроводжується генерацією перекису водню, що й запускає в клітинах сигнальний каскад реакцій [35]. З молекул перекису водню в присутності іонів металів змінної валентності (заліза, міді, марганцю та ін.) утворюються реакційні гідроксильні радикали, які здатні посилювати окислювальні процеси в мембранних ліпідах. Це дає підстави припустити, що фотопошкодження клітинної мембрани дріжджів ініціюється підвищенням концентрації перексиду водню та спричиняє активацію процесів перекисного окислення ліпідів. З огляду на це автори припускають, що виявлена лазерна фотомодуляція клітинної поверхні досліджуваним випромінюванням з довжиною хвилі 532 нм є багатостадійним процесом, з одного боку, ініційованим ендогенними фотосенсибілізаторами, які присутні в клітинах *S. cerevisiae* і зокрема, молекулами

Цит С, з іншого боку, фотоактивацією пероксисомальної флавіновмісної ацил-КоА-оксидази з наслідками розгортання фотоокислення в ліпідній фазі клітинних мембран.

Наші результати та попередні припущення щодо ролі біологічної мембрани—не суперечать загальній моделі фотомодуляції клітин НІЛВ. Клітинні і субклітинні мембрани є головними мішенями ініціації фотомодуляції на рівні клітинного організму [36, 37]. Біологічна ефективність НІЛВ даного діапазону, досліджувана на клітинах крові людини, пов'язується з активацією ендегенних фотосенсибілізаторів в еритроцитах [36] та, як наслідок, пошкодженням реологічних властивостей еритроцитів. Біостимулююча дія НІЛВ з довжиною хвилі 589 нм на клітини лімфоцитів [37] проявляється в зростанні швидкості поділу клітин зі зростанням концентрації внутрішньоклітинної АТФ, в результаті фотомодуляції мітохондріальних мембран в клітинах лімфоцитів.

Використання ліпосомальних мембран, як спрощених моделей природної мембрани, дозволяє дослідити і проаналізувати біологічну ефективність НІЛВ в системі з заданими молекулярним компонентами та визначитися з їх значущістю в процесах лазерної фотомодуляції. Досліджувалися модельні ліпідні мембрани з фосфатидилхоліну (100%) та фосфатидилхоліну з вмістом крадіоліпіну (10%, 20%, 40%). Моделювання ліпідного складу біомембран дозволяє наблизити за своїми хімічними характеристиками суто фосфатидилхолінові (ФХ) ліпосоми до еритроцитарної мембрани, тоді як ФХ ліпосоми з вмістом крадіоліпіну за хімічним складом наближаються до внутрішньої мембрани мітохондрій. В якості білкового компоненту був обраний Цит С — один із білків дихального ланцюга мітохондрій. Він безпосередньо бере участь не лише у функціонуванні електрон-транспортного ланцюга, але й у процесах апоптозу клітини під дією екзо- або ендегенних чинників [38, 39]. Також відомо, що в природних умовах функціональна активність Цит С на внутрішній мембрані мітохондрій визначається концентрацією крадіоліпіну [40]. За умов впливу He-Ne НІЛВ на модельні білок-ліпідні

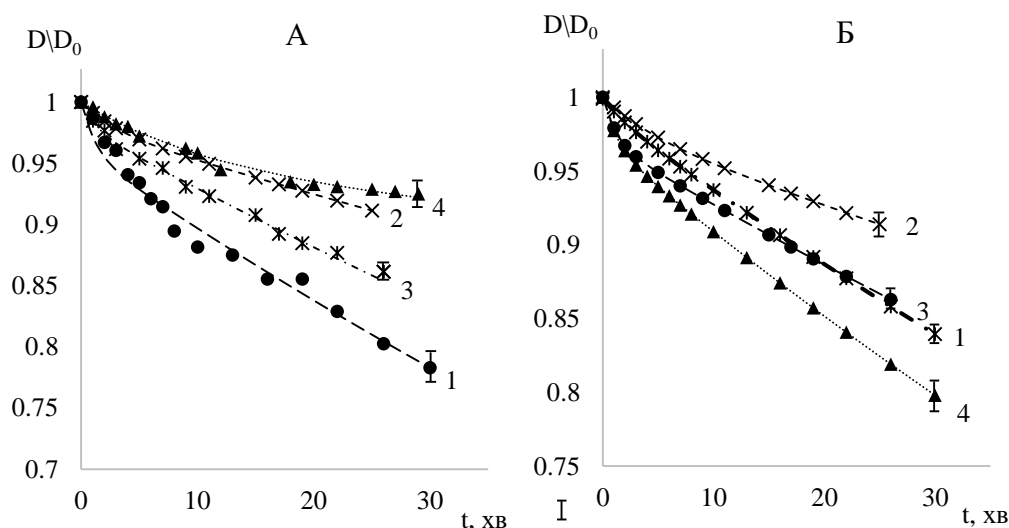


Рис. 2. Кінетичні залежності зменшення оптичної щільності Цит С в присутності модельних ліпідних мембран різного складу в контролі (А) та опромінених He-Ne лазером (Б): 1 — ФХ; 2 — ФХ+КЛ10%; 3 — ФХ+КЛ20%; 4 — ФХ+КЛ40%. Концентрація білка — 1 мкМ, концентрація ліпіда — 0,5 мМ.

Fig. 2. Kinetic dependences of the decrease in the optical density of Cyt C in the presence of model lipid membranes of different composition in the control (A) and those irradiated with a He-Ne laser (B): 1 — PH; 2 — PH+CL10%; 3 — PH+CL20%; 4 — PH+CL40%. Protein concentration — 1  $\mu$ M, lipid concentration — 0.5 mM.

системи були досліджені особливості взаємодії Цит С з ліпосомальними мембранами різного фосфоліпідного складу, проаналізовані кінетичні параметри комплексоутворення.

Взаємодія Цит С з модельними мембранами супроводжується зменшенням поглинання світла гемовмісного білка в смузі Соре, на довжині хвилі  $\lambda=407$  нм, що обумовлено змінами структурного стану гемової групи. Отримані в даній роботі експериментальні кінетичні залежності комплексоутворення Цит С з ліпосомами різного фосфоліпідного складу характеризуються наявністю двох фаз [41] перебудови в молекулі: швидкої кінетичної фази, яка характеризує зміни конформації білка внаслідок його взаємодії з фосфоліпідами ліпосомальних мембран, та повільної кінетичної фази, яка зумовлена порушенням зв'язку між глобіном та гемовою групою.

Низькоінтенсивне випромінювання He-Ne лазера впливає на ефективність взаємодії Цит С з модельними мембранами (Рис. 2, Рис. 3). Зменшення поглинання гемовмісного білка в максимумі смуги Соре встановлено в процесах комплексоутворення за участі обох типів мембран: ФХ та ФХ+КЛ після їх опромінення.

Формування білок-ліпідних комплексів Цит С з опроміненими ФХ ліпосомами супроводжуються зміною кінетичних параметрів. Значення амплітуди ( $A_2$ ) та константи швидкості ( $k_2$ ) повільної кінетичної фази зменшилися в 4 та 1,5 рази, відповідно, у порівнянні з неопроміненим контролем. Проте, більш чутливими до дії He-Ne лазера виявилися ліпосоми з вмістом 40% кардіоліпіну. Для опромінених ліпосом із вмістом 40% кардіоліпіна кінетичні параметри комплексоутворення ( $k_1$ ,  $k_2$ ) Цит С зазнають більш суттєвих змін (Табл. 2). Константи швидкості як швидкої, так і повільної кінетичних фаз, перевищують значення констант для неопромінених ліпосом, а саме,  $k_1$  в 8 разів,  $k_2$  в 9 разів. Зміни кінетичних параметрів для інших досліджуваних зразків були менш значущі.

Таблиця 2. Кінетичні параметри комплексоутворення Цит С з модельними ліпідними мембранами в контрольних зразках та після опромінення ліпосом He-Ne лазером.

Table 2. The kinetic parameters of complex formation of Cyt C with model lipid membranes in control samples and after irradiation of liposomes with a He-Ne laser.

	$A_1$	$k_1 \times 10^{-3}, \text{хв}^{-1}$	$A_2$	$k_2, \text{хв}^{-1}$
Контрольні ліпосоми				
ФХ	0,960±0,009	6,80±0,15	0,040±0,012	0,780±0,025
ФХ+КЛ10%	0,98±0,01	2,90±0,15	0,020±0,004	0,4±0,05
ФХ+КЛ20%	0,98±0,014	5,3±0,3	0,020±0,005	0,75±0,025
ФХ+КЛ40%	0,940±0,006	0,85±0,05*	0,060±0,003	0,090±0,005*
Опромінені ліпосоми				
ФХ	0,99±0,02	5,5±0,3	0,010±0,005	0,45±0,07
ФХ+КЛ10%	0,980±0,015	2,80±0,15	0,020±0,003	0,23±0,05
ФХ+КЛ20%	0,97±0,01	4,5±0,4	0,030±0,005	0,80±0,02
ФХ+КЛ40%	0,970±0,007	6,5±0,4*	0,030±0,005	0,79±0,05*

\* —  $p < 0,01$  відносно неопроміненого контролю

Досліджувані білок-ліпідні взаємодії супроводжуються конформаційними змінами макромолекул. Можливі структурні перебудови при цьому стосуються як білкової частини гемовмісного білка, так і його гемової групи. Утворення білок-ліпідних комплексів Цит С з модельними мембранами різного фосфоліпідного складу, опроміненими He-Ne лазером, супроводжується конформаційними змінами білкової



частини молекули цитохрому при його взаємодії з ФХ ліпосомами, тоді як комплекси з ліпосомами ФХ+КЛ40% відзначаються перебудовами як білкової частини, так і зв'язку гем-глобін.

Взаємодія Цит С з ліпідним бішаром модельних мембран є багатостадійним процесом. Молекула Цит С — це полікатион, який при нейтральних рН має сумарний загальний заряд +9,5 [42, 43], отже, переважають електростатичні взаємодії білка з полярними голівками ліпідного бішару. На першому етапі утворюються один-два зв'язки, а потім кількість електростатичних контактів збільшується в результаті латеральної дифузії заряджених фосfolіпідів та зміни конформації білка [41, 44]. Подальші взаємодії і занурення білка в ліпідний бішар збільшують кількість гідрофобних контактів.

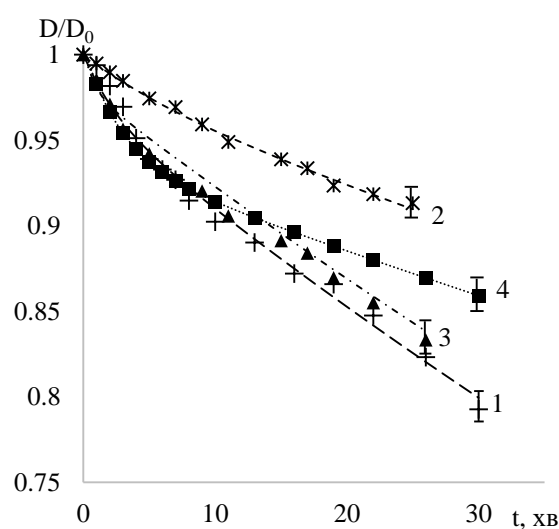


Рис. 3. Кінетичні залежності зменшення оптичної щільності опроміненого He-Ne лазером Цит С в присутності модельних ліпідних мембран різного складу: 1 — ФХ; 2 — ФХ+КЛ10%; 3 — ФХ+КЛ20%; 4 — ФХ+КЛ40%. Концентрація білка — 1 мкМ, концентрація ліпіда — 0,5 мМ.

Fig. 3. Kinetic dependences of the decrease in the optical density of Cyt C irradiated by a He-Ne laser in the presence of model lipid membranes of different composition: 1 — PH; 2 — PH+CL10%; 3 — PH+CL20%; 4 — PH+CL40%. Protein concentration — 1  $\mu$ M, lipid concentration — 0.5 mM.

Ефективність формування білок-ліпідних комплексів залежить як від фізичного стану ліпідного бішару, так і від структурного стану молекул білка. У зв'язку з цим, були досліджені кінетичні параметри комплексоутворення модельних ліпідних мембран з Цит С, опроміненним He-Ne лазером, за тих же умов опромінення, що і для попередніх серій дослідів (Рис. 3). Не виявлено достовірних змін кінетичних параметрів швидкої фази ( $A_1$ ,  $k_1$ ) при взаємодії опроміненого Цит С з ФХ ліпосомами та з вмістом кардіоліпіну 10% і 20% у порівнянні з кінетичними параметрами взаємодії неопроміненого Цит С з ФХ ліпосомами. Для повільної фази встановлені достовірні зміни константи швидкості при взаємодії опроміненого Цит С з ФХ ліпосомами та з вмістом кардіоліпіну 10% у порівнянні з відповідними кінетичними параметрами взаємодії неопроміненого Цит С. Більш значущі зміни кінетичних параметрів виявлені при взаємодії опроміненого Цит С з ліпосомами ФХ+КЛ40% (Табл. 3). Константи швидкості  $k_1$  та  $k_2$  перевищують в 4 та 3 рази значення відповідних констант для неопроміненого Цит С. Для інших досліджуваних зразків значущих змін кінетичних параметрів не виявлено.

Таблиця 3. Кінетичні параметри комплексотворення опроміненого He-Ne лазером Цит С з ліпосомами.

Table 3. The kinetic parameters of complex formation of Cyt C irradiated by He-Ne laser with liposomes.

	$A_1$	$k_1 \times 10^{-3}, \text{хв}^{-1}$	$A_2$	$k_2, \text{хв}^{-1}$
ФХ	0,970±0,008	6,45±0,21	0,030±0,002	0,40±0,04
ФХ+КЛ10%	0,980±0,014	3,00±0,33	0,020±0,003	0,15±0,01
ФХ+КЛ20%	0,980±0,015	6,0±0,7	0,020±0,005	1,10±0,06
ФХ+КЛ40%	0,940±0,015	3,40±0,27*	0,060±0,003	0,30±0,03*

\* —  $p < 0,01$  відносно неопроміненого контролю

Опромінення молекулярного розчину цитохрому He-Ne лазером впливає на структурно-функціональні властивості молекул, як наслідок, встановлено зміну параметрів комплексоутворення Цит С з модельними ліпідними мембранами. Спостерігається тенденція зростання кінетичних параметрів білок-ліпідних взаємодій за участі опроміненого Цит С у порівнянні з неопроміненним контролем. Формування білок-ліпідних комплексів за участі опроміненого Цит С і модельних мембран фосfolіпідного складу ФХ+КЛ40% супроводжується конформаційними змінами як білкової частини, так і зв'язку гем-глобін.

Відомо, що в процесі асоціації Цит С з модельними ліпідними мембранами переважають електростатичні білок-ліпідні взаємодії, на користь цього свідчить наявність сумарного електричного заряду молекули Цит С [44]. З огляду на експериментально встановлені зміни кінетичних параметрів взаємодії Цит С з опроміненними He-Ne лазером модельними мембранами можна припустити, що лазерна модифікація ліпідної компоненти, а саме модифікація поверхневих електричних властивостей ліпосом, спричинює зміни процесу комплексоутворення. Експериментальні дані отримані в модельних дослідженнях взаємодії опроміненого He-Ne лазером Цит С з нативними модельними мембранами свідчать про чутливість молекул білка до дії лазерного випромінювання. За таких умов експерименту зберігається загальна тенденція щодо зростання параметрів комплексоутворення за участі опроміненних зразків, але кількісна оцінка цих параметрів свідчить на користь більшої чутливості до дії лазерного випромінювання саме ліпідної компоненти.

Дослідження впливу НІЛВ широкого частотного діапазону на біологічні об'єкти різного рівня складності вказує на розгортання процесів фотомодуляції фізико-хімічних властивостей як на рівні природних клітинних мембран, так і на рівні модельних ліпідних мембран з різними фізичними характеристиками поверхні. Мембранна поверхня є чутливою мішенню до дії лазерного випромінювання досліджуваного частотного діапазону. Для клітин дріжджів *S. cerevisiae* наслідки лазерної фотомодуляції пов'язані зі зміною щільності перерозподілу зарядів на клітинній поверхні. З огляду на особливості реакції клітин дріжджів на низькоінтенсивне випромінювання видимого діапазону [32, 35] лазерне пошкодження мембранної поверхні є багатостадійним процесом, ініційованим ендогенними фотосенсибілізаторами, зокрема, молекулами Цит С, та фотоактивацією пероксисомальної ацил-КоА-оксидази з наслідками розгортання фотоокислення в ліпідній фазі клітинних мембран.

Створення ліпосомальних моделей, за білковим та ліпідним складом наближених до природних клітинних чи субклітинних мембран, дозволяє в моделі передбачити реакцію природних мембран на дію НІЛВ, зрозуміти молекулярні механізми процесів лазерної фотомодуляції. Модельні ліпідні мембрани з вмістом 40% кардіоліпіну за своїм хімічним складом наближаються до внутрішньої мембрани мітохондрій (вміст кардіоліпіну

більше 25% загальної кількості фосфоліпідів). Формування білок-ліпідних комплексів Цит С з кардіоліпінумісними ліпосомами робить модельні мембрани ще більше наближеними до природної мітохондріальної мембрани. З огляду на таку модель та результати експериментальних досліджень можна припустити, що НІЛВ впливає на функції мітохондрій через зміну ефективної взаємодії Цит С з кардіоліпіном, а також через зміну просторової конфігурації Цит С, взаємної орієнтації його гемового та білкового компонентів. З урахуванням літературних даних про роль природного комплексу Цит С–кардіоліпін у мітохондріях в процесах апоптозу [45,46], можна з упевненістю припустити, що НІЛВ досліджуваного діапазону (632,8 нм) здатне впливати на цей процес.

### ВИСНОВКИ

1. Мембранна поверхня клітин *S. cerevisiae* реагує на дію лазерного випромінювання широкого частотного діапазону зміною поверхневих електричних властивостей. НІЛВ з довжиною хвилі (337 нм; 532 нм; 70,5 мкм) викликає перерозподіл поверхневих зарядів клітин *S. cerevisiae*, що спричиняє зміну поверхневого мембранного потенціалу.

2. НІЛВ (632,8 нм) впливає на кінетичні параметри комплексоутворення Цит С з модельними мембранами з різним ліпідним складом. Найбільший ефект досягається при опроміненні фосфатидилхолінових ліпосом з вмістом 40% кардіоліпіну. Досліджувані білок-ліпідні взаємодії супроводжуються конформаційними змінами як білкової частини Цит С, так і зв'язку гем-глобін.

3. Взаємодія опроміненого цитохрому *c* з ліпідним бішаром модельних мембран характеризується зміною параметрів комплексоутворення. Спостерігається тенденція зростання кінетичних параметрів комплексоутворення ( $k_1$ ,  $k_2$ ) опроміненого Цит С з ліпосомальними мембранами з вмістом кардіоліпіну 40% у порівнянні з неопроміненим контролем. Формування білок-ліпідних комплексів в умовах досліджуваної моделі супроводжується змінами конформації білкової частини цитохрому *c*, а також порушенням її взаємодії з гемовою групою.

4. Встановлені закономірності зміни фізико-молекулярних характеристик модельних ліпідних бішарів під дією низькоінтенсивного випромінювання He-Ne лазера розширюють уявлення про механізми мембранозалежних біоефектів НІЛВ.

### КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

### Authors' ORCID ID

Л. В. Січевська [id https://orcid.org/0000-0001-6613-2645](https://orcid.org/0000-0001-6613-2645)  
 Т. М. Овсяннікова [id https://orcid.org/0000-0002-5386-6559](https://orcid.org/0000-0002-5386-6559)  
 А. О. Коваленко [id https://orcid.org/0000-0002-6332-8922](https://orcid.org/0000-0002-6332-8922)  
 І. А. Забеліна [id https://orcid.org/0009-0005-3071-9635](https://orcid.org/0009-0005-3071-9635)  
 О. М. Левченко [id https://orcid.org/0000-0002-4460-8419](https://orcid.org/0000-0002-4460-8419)  
 О. В. Гурін [id https://orcid.org/0000-0003-1382-5338](https://orcid.org/0000-0003-1382-5338)  
 В. П. Берест [id https://orcid.org/0000-0001-7779-154X](https://orcid.org/0000-0001-7779-154X)

### REFERENCES

1. Santos FP, Carvalhos CA and Figueiredo-Dias M. Review New insights into photobiomodulation of the vaginal microbiome-A. Critical Review Int. J. Mol. Sci. 2023;24:13507. <https://doi.org/10.3390/ijms241713507>
2. Grangeteau C, Lepinois F, Winckler P, Perrier-Cornet JM, Dupont S, Beney L. Cell death mechanisms induced by photo-oxidation studied at the cell scale in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Front Microbiol. 2018;5(9):2640 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02640>

3. Lubart R, Lavi R, Friedmann H, Rochkind S. Photochemistry and Photobiology of Light Absorption by Living Cells Photomedicine and Laser Surgery. 2006;24(2):179–85 <https://doi.org/10.1089/pho.2006.24.179>
4. Zhu R, Avsievich T, Su X, Bykov A, Popov A, Meglinski I. Hemorheological alterations of red blood cells induced by 450-nm and 520-nm laser radiation. J Photochem Photobiol B. 2022;230:112438. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2022.112438>
5. Elblbesy MA. Comparative In Vitro Study: Examining 635 nm laser and 265 nm ultraviolet interaction with blood. Photobiomodul Photomed Laser Surg. 2019;37(6):342–8. <https://doi.org/10.1089/photob.2018.4611>
6. Cui Y, Guo Z, Zhao Y, Zheng Y, Qiao Y, Cai J et al. Reactive effect of low intensity He-Ne laser upon damaged ultrastructure of human erythrocyte membrane in Fenton system by atomic force microscopy. Acta Biochimica et Biophysica Sin. (Shanghai) 2007;39(7):484–9 <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00309.x>
7. Hamblin MR. Mechanisms and mitochondrial redox signaling in photobiomodulation. Photochemistry and Photobiology. 2018;94(2):199–212. <https://doi.org/10.1111/php.12864>
8. Baldassarro VA, Alastra G, Lorenzini L, Giardino L, Calzà L. Photobiomodulation at defined wavelengths regulates mitochondrial membrane potential and redox balance in skin fibroblasts. Oxid Med Cell Longev 2023;24:7638223 <https://doi.org/10.1155/2023/7638223>
9. Bensadoun RJ, Epstein JB, Nair RG, Barasch A, Raber-Durlacher JE, Migliorati C et al. Safety and efficacy of photobiomodulation therapy in oncology: A systematic review. Cancer Med. 2020;9(22):8279–300. <https://doi.org/10.1002/cam4.3582>
10. Berni M, Brancato AM, Torriani C, Bina V, Annunziata S, Cornella E et al. The Role of Low-Level Laser Therapy in Bone Healing: Systematic Review. Int J Mol Sci. 2023;24(8):7094. <https://doi.org/10.3390/ijms24087094>
11. Nejatifard M, Asefi S, Jamali R, Hamblin MR, Fekrazad R. Probable positive effects of the photobiomodulation as an adjunctive treatment in COVID-19: A systematic review. Cytokine. 2021; 137:155312. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155312>
12. da Silva TG, Ribeiro RS, Mencialha AL, de Souza Fonseca A. Photobiomodulation at molecular, cellular, and systemic levels. Lasers Med. Sci. 2023;38(136):77. <https://doi.org/10.1007/s10103-023-03801-6>
13. Maki Y, Kushibiki T, Sano T, Ogawa T, Komai E, Takahashi S et al. 1270 nm near-infrared light as a novel vaccine adjuvant acts on mitochondrial photoreception in intradermal vaccines. Front. Immunol. 2022;13:1028733. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1028733>
14. Yokomizo S, Katagiri W, Maki Y, Sano T, Inoue K, Fukushi M, et al. Brief exposure of skin to near-infrared laser augments early vaccine responses. Nanophotonics. 2021;10:3187–97. <https://doi.org/10.1515/nanoph-2021-0133>
15. Cronshaw M, Parker S, Grootveld M, Lynch E. Photothermal effects of high-energy photobiomodulation therapies: an in vitro investigation Biomedicines 2023;11(6):1634. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061634>
16. Itoh S, Okada H, Kuboi T, Kusaka T. Phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia. 2017;59:959–66. <https://doi.org/10.1111/ped.13332>
17. Liebert AD, Bicknell BT, Adams RD. Protein conformational modulation by photons: A mechanism for laser treatment effects Medical Hypotheses 82.2014;275–81 <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.12.009>
18. Freitas De Freitas L, Hamblin MR. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. 2016;22(3):348–64. <https://doi.org/10.1109/JSTQE.2016.2561201>
19. Huanmei Suna, Jiajun Liua, Yifei Lib, Jing Wanga, Yajun Zhanga Characterization of the heterogeneous adsorption of three drugs on immobilized bovine serum albumin by adsorption energy distribution. Journal of Chromatography B. 2019;1125(1):121727. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121727>
20. Kremer JMH, Esker MWJ, Pathmamanoharan C, Wiersema PH. Vesicles of variable diameter prepared by a modified injection method. Biochemistry. 1977;16(17):3932–5 <https://doi.org/10.1021/bi00636a033>
21. Stano P, Bufali S, Pisano C, Bucci F, Barbarino M, Santaniello M, Carminati P, Luisi PL. Novel camptothecin analogue (gimatecan)-containing liposomes prepared by the ethanol injection method. J. Liposome Res, 2004;14(1–2):87–109 <https://doi.org/10.1081/LPR-120039794>
22. Matsuzaki K, Murase O, Sugishita K, Yoneyama S, Akada K, Ueha M, Nakamura A, Kobayashi S. Optical characterization of liposomes by right angle light scattering and turbidity measurement Biochimica et Biophysica Acta 1467 (2000) 219–26 [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00223-6](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00223-6)
23. Gorbenko GP. Kinetics of conformational changes of methemoglobin complexed with liposomes. The Ukrainian Biochemical Journal. 1998;70(3):68–72. (In Ukrainian)
24. Szeremeta M, Petelska AD, Kotyn'ska J, Pepin'ski W, Naumowicz M, Figaszewski ZA, et al. Changes in surface charge density of blood cells in fatal accidental hypothermia. J Membrane Biol. 2015;248:1175–80. <https://doi.org/10.1007%2Fs00232-015-9838-1>

25. Aharon D, Weitman H, Ehrenberg B. The effect of liposomes' surface electric potential on the uptake of hematoporphyrin *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011;1808:2031–5  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.03.015>
26. Dreval VI, Finashin AV, Barannik EA. Study of bromthymol blue binding with plasma membranes. The Ukrainian Biochemical Journal, 1989;61(2):94–8. (In Ukrainian)
27. Luvisetto S, Cola C, Conover TE, Azzone GF. Tracking of proton flow during transition from anaerobiosis to steady state in rat liver mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1990;1018:77–90  
[https://doi.org/10.1016/0005-2728\(90\)90113-I](https://doi.org/10.1016/0005-2728(90)90113-I)
28. Eddy AA, Barnett JA. A history of research on yeasts 11. The study of solute transport: the first 90 years, simple and facilitated diffusion. *Yeast*. 2007;24(12):1023–59  
<https://doi.org/10.1002/yea.1572>
29. De Nobel JG, Barnett JA. Passage of molecules through yeast cell walls: a brief essay-review. *Yeast*. 1991;7(4):313–23  
<https://doi.org/10.1002/yea.320070402>
30. De Nobel JG, Klis FM, Munnik T, Priem J, Ende H. An assay of relative cell wall porosity in *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* and *Schizosaccharomyces pombe*. *Yeast*. 199;6(6):483–90  
<https://doi.org/10.1002/yea.320060605>
31. Camponeschi I, Montanari A, Mazzoni C, Bianchi MM. Light Stress in Yeasts: Signaling and Responses in Creatures of the Night. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24:6929. <https://doi.org/10.3390/ijms24086929>
32. Robertson JB, Davis CR, Johnson CH. Visible light alters yeast metabolic rhythms by inhibiting respiration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(52):21130–5  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1313369110>
33. Gierke AM, Hessling M. Photoinactivation by UVA radiation and visible light of *Candida auris* compared to other fungi. *Photochem Photobiol Sci*. 2024;23(4):681–92  
<https://doi.org/10.1007/s43630-024-00543-4>
34. Salichos L, Rokas A. The diversity and evolution of circadian clock proteins in fungi. *Mycologia*. 2010;102(2):269–78  
<https://doi.org/10.3852/09-073>
35. Bodvard K, Peeters K, Roger F, Romanov N, et al. Light-sensing via hydrogen peroxide and a peroxiredoxin. *Nat. Commun*. 2017;24(8):14791  
<https://doi.org/10.1038/ncomms14791>
36. Mi XQ, Chen JY, Cen Y, Liang ZJ, Zhou LW. A comparative study of 632.8 and 532 nm laser irradiation on some rheological factors in human blood in vitro *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 74 (2004) 7–12  
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2004.01.003>
37. Al Musawi MS, Jaafar MS, Al-Gailani, Ahmed NM, Suhaimi FM, Suardi N. Effects of low-level laser irradiation on human blood lymphocytes in vitro *Lasers Med Sci*. 2017;32(2):405–11  
<https://doi.org/10.1007/s10103-016-2134-1>
38. Vakifahmetoglu-Norberg H, Ouchida AT, Norberg E. The role of mitochondria in metabolism and cell death, *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2017;482(3):426–31. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.11.088>
39. Hüttemann M, Pecina P, Rainbolt M, Sanderson TH, Kagan VE, Samavati L, et al. The multiple functions of cytochrome c and their regulation in life and death decisions of the mammalian cell: from respiration to apoptosis, *Mitochondrion*. 2011;11:369–81. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2011.01.010>
40. Ikon N, Ryan RO. Cardiolipin and mitochondrial cristae organization. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2017;1859(6):1156–63. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.03.013>
41. Gorbenko GP. Resonance energy transfer study of hemoglobin and cytochrome complexes with lipids. *Biochim. Biophys. Acta*. 1998;12(24):13–4. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(98\)00140-6](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(98)00140-6)
42. Zaidi S, Hassan MI, Islam A, Ahmad F. The role of key residues in structure, function, and stability of cytochrome-c, *Cell. Mol. Life Sci*. 2014;71:229–55. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1341-1>.
43. Bertini I, Cavallaro G, Rosato A. Cytochrome c: occurrence and functions. *Chem. Rev*. 2006;106:90–115. <https://doi.org/10.1021/cr050241v>.
44. Schweitzer-Stenner R. Relating the multi-functionality of cytochrome c to membrane binding and structural conversion, *Biophys. Rev*. 2018;10:1151–85. <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0409-4>.
45. Fox CA, Ryan RO. Studies of the cardiolipin interactome. *Prog Lipid Res*. 2022;88:101195. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2022.101195>
46. Gasanoff ES, Yaguzhinsky LS, Garab G. Cardiolipin, Non-Bilayer Structures and Mitochondrial Bioenergetics: Relevance to Cardiovascular Disease. *Cells*. 2021;10(7):1721. <https://doi.org/10.3390/cells10071721>

INFLUENCE OF LOW-LEVEL LASER RADIATION ON THE PHYSICO-CHEMICAL  
INDICATORS OF BIOMEMBRANES

L. V. Sichevska<sup>id</sup>, T. M. Ovsyannikova<sup>id</sup>, A. O. Kovalenko<sup>id</sup>, I. A. Zabelina<sup>id</sup>, O. M. Levchenko<sup>id</sup>,  
O. V. Gurin<sup>id</sup>, V. P. Berest<sup>id</sup>

V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

e-mail: [sichevska@karazin.ua](mailto:sichevska@karazin.ua)

Submitted April 12, 2024; Revised August 18, 2024;

Accepted September 6, 2024

**Background:** The study of physical and molecular mechanisms of the influence of low-level laser radiation (LLLR) of a wide frequency range on biological objects allows to clarify the problem of laser photomodulation at the level of natural biological membranes and their model analogues.

**Objectives:** Identification of molecular and physical mechanisms of the influence of LLLR of a wide frequency range on biological objects of various levels of complexity.

**Materials and methods:** Research objects: unicellular organisms *S. cerevisiae*, concentration of cells in the sample  $18 \times 10^6$ ; model lipid membranes from a mixture of phosphatidylcholine and cardiolipin with different content of components (10%, 20% and 40% cardiolipin), which simulates the surface electrical properties of lipid models. A spectrophotometric study of charge redistribution on the cell surface was carried out using bromothymol blue dye. Complex formation of cytochrome c with model membranes was studied spectrophotometrically at the wavelength of the Soret band (405–410 nm). The influence of low-intensity laser radiation with wavelength and power density, respectively: 337 nm, 2.8 mW/cm<sup>2</sup>; 532 nm, 9.5 mW/cm<sup>2</sup>; 70.5 μm, 10.0 mW/cm<sup>2</sup> on the yeast cell surface; 632.8 nm, 5.1 mW/cm<sup>2</sup> on liposomes with different protein-lipid composition.

**Results:** LLLR of a wide frequency range causes a change in the surface electrical properties of *S. cerevisiae* cells, namely, a redistribution of the surface charges of the cell membrane, as a result of which a change in the surface membrane potential is recorded. Irradiation of samples of model lipid membranes with a helium-neon laser leads to a change in the surface characteristics of liposomes, which affects the kinetic parameters of the formation of protein-lipid complexes with the participation of cytochrome c.

**Conclusions:** The target of laser photomodulation processes is the surface of the biological membrane of both natural cells, for example yeast cells, and model lipid membranes made of a mixture of phospholipids with different content of components. The creation of lipid models based on the protein and lipid composition of natural membranes makes it possible to predict the reaction of cell membranes to the action of LLLR in the model, and to understand the molecular mechanisms of laser photomodulation processes.

**KEY WORDS:** low-level laser radiation; cells of *S. cerevisiae*; liposomes; membrane potential; protein-lipid interactions; cytochrome c; cardiolipin; phosphatidylcholine.