

Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2025-53-03>

УДК 577.38:577.353:577.345:535.372

ДОЗОВІ ЕФЕКТИ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ТА ТЕРАГЕРЦОВОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ПЛАЗМАТИЧНУ МЕМБРАНУ ЕРИТРОЦИТІВ

Л. В. Січевська^{id}, Т. М. Овсяннікова^{id}, І. А. Забєліна^{id}, А. О. Коваленко^{id},
О. М. Левченко^{id}, О. В. Гурін^{id}

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

e-mail: sichevska@karazin.ua

Надійшла до редакції 17 березня 2025 р. Переглянута 18 квітня 2025 р.

Прийнята до друку 22 квітня 2025 р.

Актуальність. У сучасній медицині активно застосовуються різні технічні засоби та розробки у вигляді інвазивної внутрішньосудинної (ВЛОК) та неінвазивної транскутанної методик опромінення крові, у тому числі, з застосуванням низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НЛВ) різних діапазонів. Незважаючи на позитивні клінічні результати такого впливу, фізико-молекулярні механізми залишаються не до кінця з'ясованими. Ультрафіолетовий (УФ) і терагерцовий (ТГц) діапазони електромагнітного випромінювання відносять до біогенних, тому встановлення їх ефектів на рівні клітин крові дозволить мотивовано рекомендувати їх до використання у медичній та біотехнологічній практиці після розроблення відповідних методик впливу.

Мета роботи — дослідження біогенної активності НЛВ ультрафіолетового та терагерцового діапазонів на структурно-функціональний стан еритроцитів крові щурів *in vitro*.

Матеріали і методи. Методами мікроелектрофорезу, спектрофотометрії та кислотних еритрограм досліджено, відповідно, дзета-потенціал еритроцитів, вміст первинних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в еритромасі (кон'югати жирних кислот фосфоліпідів мембран еритроцитів — дієнові (ДК), трієнові (ТК) і тетраєнові (ТЕК), оксодієнові (ОДК)), резистентність еритроцитів до дії кислотного гемолітика після попереднього лазерного опромінення в УФ та ТГц діапазонах. Лазерне опромінення зразків в УФ діапазоні здійснювали імпульсним азотним лазером ($\lambda = 0,337$ мкм), опромінення в ТГц діапазоні — безперервним CO₂-лазером ($\lambda = 118,8$ мкм).

Результати. Вплив НЛВ УФ та ТГц низької потужності дози опромінення спричинює фізико-хімічні зміни в плазматичній мембрані еритроцитів. Встановлено нелінійне дозозалежне зниження електрокінетичного потенціалу клітинної поверхні та підвищення гемолітичної чутливості еритроцитів на тлі активації процесів перекисного окислення ліпідів в еритроцитарних мембранах.

Висновки. За умов впливу НЛВ стимулюються процеси вільно-радикального переокислення ліпідів мембран еритроцитів. Виявлена виражена біогенна активність НЛВ УФ діапазону на рівні мембран еритроцитів. Отримані дані можуть бути використані для розширення спектру застосування НЛВ УФ діапазону в методиках ВЛОК.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: низько-інтенсивне лазерне випромінювання; ультрафіолетовий діапазон; терагерцовий діапазон; дзета-потенціал еритроцитів; перекисне окислення ліпідів; кислотний гемоліз.

Як цитувати: Січевська ЛВ, Овсяннікова ТМ, Забєліна ІА, Коваленко АО, Левченко ОМ, Гурін ОВ. Дозові ефекти ультрафіолетового та терагерцового лазерного випромінювання на плазматичну мембрану еритроцитів. Біофізичний вісник. 2025;53:34–45. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2025-53-03>

Citation: Sichevska LV, Ovsyannikova TM, Zabelina IA, Kovalenko AO, Levchenko OM, Gurin OV. Dose effects of ultraviolet and terahertz laser radiation on the plasma membrane of erythrocytes. Biophysical Bulletin. 2025;53:34–45. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2025-53-03> (in Ukrainian)

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

Біостимулююча дія низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ) широкого частотного діапазону з різними показниками потужності дози активно досліджується та представлена в наукових літературних джерелах [1–4], проте ефекти НІЛВ у більшості випадків дискусійні, оскільки остаточні механізми впливу випромінювання й досі залишаються не виявлені. В науковій періодиці представлений та обговорюється широкий спектр властивостей лазерного випромінювання медичного спрямування: протизапальна та стимулююча до регенерації клітин дія НІЛВ [5–6], втілення фізіотерапевтичних методів з застосуванням низькоінтенсивного лазера [7], лазеротерапія з метою посилення кисневого постачання за рахунок перфузії крові [8]. Однак, не дивлячись на чисельні наукові звіти про дослідження *in vitro* на тваринах та випадки практичного застосування, що підтверджують позитивний результат, лазеротерапія все ще залишається недоказовим методом медичного втручання. Незважаючи на невизначеність механізмів впливу когерентного випромінювання на біооб'єкти, у клінічній практиці успішно застосовують внутрішньосудинне лазерне опромінення крові (ВЛОК), в тому числі, у вигляді інвазивної внутрішньосудинної [9, 10] та неінвазивної транскутанної методик опромінення [11, 12]. Вказані методики застосовуються для лікування захворювань різної етіології та мають позитивний клінічний результат [13]. Результативне вирішення медичних проблем здійснюється, переважно, з застосуванням інфрачервоного та ближнього інфрачервоного діапазонів НІЛВ. В сучасних дослідженнях встановлено, що біологічна ефективність низькоінтенсивного лазерного випромінювання суттєво залежить від дози та потужності випромінювання і має нелінійний характер [14]. З метою вивчення молекулярних механізмів біогенного впливу лазерного випромінювання останнім часом суттєво розширився діапазон частот НІЛВ, який використовується в медико-біологічних експериментах. Досліджується біогенна активність ультрафіолетового (УФ) і терагерцового (ТГц) діапазонів НІЛВ. Практичне застосування УФ випромінювання пов'язане з певними проблемами та викликає ряд запитань. Наприклад, необхідно враховувати, що УФ опромінення може викликати як корисні (терапевтичні), так і шкідливі (побічні) ефекти, такі як канцерогенний, прояв якого залежить від частотних характеристик випромінювання [15, 16]. Добре досліджені бактерицидні властивості УФ випромінювання довгий час застосовувалися в медичній практиці з метою дезинфекції поверхні відкритої рани, проте з відкриттям антибіотиків зазнали зменшення попиту. Однак, зі зростанням лікарської стійкості збудників інфекцій до антибіотикотерапії УФ опромінення знову стає альтернативним методом лікування інфекцій, що дозволяє передбачити перспективи розвитку УФ-лазерної антибіотикотерапії. Питання біогенного впливу ТГц лазерного випромінювання набуло актуальності особливо за останні два десятиліття. Результати дослідження біологічної ефективності НІЛВ ТГц діапазону представлені в матеріалах звіту масштабного Європейського Проєкту дослідження взаємодії випромінювання ТГц НІЛВ з біологічними системами (2004) та інших наукових джерелах [17, 18]. Особливо актуальна проблема сьогодення — застосування ТГц випромінювання для діагностики онкологічних захворювань [19, 20]. Терагерцова спектроскопія і візуалізація продемонстрували потенціал розпізнавання типів клітин. Опубліковані дані, які підтверджують успішну терагерцову візуалізацію патологічних тканин і показують виразну диференціацію між пухлинними і здоровими тканинами [20, 21]. Проте залишається відкритим питання про безпеку застосування терагерцового випромінювання, у зв'язку з чим біогенна активність ТГц випромінювання потребує подальшого ретельного дослідження.

Аналіз опублікованих робіт [22, 23] щодо впливу НІЛВ показує, що саме в мембранному апараті клітини розвиваються первинні фізико-хімічні реакції, які в тій чи іншій мірі визначають відгук клітини й організму в цілому на вплив факторів зовнішнього середовища. Плазматичні мембрани еритроцитів є зручною біологічною моделлю для дослідження мембрано-модулюючої дозозалежної дії низькоінтенсивного опромінення різних частотних діапазонів. Метою роботи було дослідження біогенної активності НІЛВ УФ та ТГц діапазонів на рівні структурно-функціональних властивостей мембран еритроцитів крові щурів *in vitro*, виявлення ефектів опромінення за показниками електрофоретичної рухливості, рівня первинних продуктів перекисного окислення ліпідів та резистентності клітин до впливу кислотного гемолітика.

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ

В експерименті були використані 6-місячні безпородні білі щурі-самці з початковою масою 200–250 г, які утримувалися на стандартній дієті віварію в умовах вільного доступу до води. В досліджуваних групах було не менше трьох тварин, всього було п'ять таких груп. Дослідження здійснювалися згідно з національними «Загальними етичними принципами проведення експериментів на тваринах», ухваленими Першим Національним конгресом з біоетики [24], що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [25].

З метою встановлення особливостей реакції червоних клітин крові щурів на дію лазерного випромінювання УФ та ТГц діапазонів *in vitro* досліджувалися електрокінетичні властивості мембранної поверхні еритроцитів щурів, зміни рівня первинних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та резистентність еритроцитів до дії кислотного гемолітика.

Препарат суспензії відмитих еритроцитів отримували за загально прийнятою методикою. Первинні продукти ПОЛ — це кон'югати жирних кислот фосфоліпідів мембран еритроцитів: дієнові (ДК), трієнові (ТК) і тетраєнові (ТЕК), оксодієнові (ОДК) визначали в еритромасі після їх екстракції в суміші гептан/ізопропанол спектрофотометричним методом на відповідних довжинах хвиль 233 нм (ДК), 268 нм (ТК), 276 нм (ОДК), 287 нм (ТЕК). Розрахунок концентрацій кон'югатів здійснювали за законом Бугера-Ламберта-Бера з урахуванням відповідних коефіцієнтів молярної екстинкції ϵ_0 (для ДК, ТК та ОДК: $\epsilon_0=2,2 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$, $\epsilon_0=4,34 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$ та $\epsilon_0=2,7 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$, відповідно). Концентрацію кон'югатів представляли в нмоль на 1 мл еритромаси (для ДК, ОДК, ТК); коефіцієнт молярної екстинкції для ТЕК не визначений, тому їх рівень визначали в одиницях оптичної щільності на 1 мл еритромаси [26, 27].

Величину дзета-потенціалу еритроцитів оцінювали за показником електрофоретичної рухливості клітин в розчині 5 мМ трис-НСІ буфера, рН 7,4 з постійним значенням сили струму 4 мА в електрофоретичній камері. Розрахунки величини дзета-потенціалу здійснювали за формулою Гельмгольца-Смолуховського [28]. Щільність поверхневого заряду еритроцитів визначали за методом [29].

Резистентність еритроцитів до дії кислотного гемолітика досліджували за методом [30] визначення гемолітичної активності еритроцитів за допомогою агрегометра-формометра АКК-01. Величину LAG-період визначали як відлік інтервалу часу після додавання гемолітику до моменту розгортання гемолізу. Відсоток прогемолізованих еритроцитів в певний момент часу обчислювали за формулою:

$$\%D_i = \frac{D_1 - D_i}{\Delta D},$$

де D_i — показник оптичної щільності в даний момент часу; ΔD — величина, що дорівнює різниці між початковим значенням оптичної щільності і значенням оптичної щільності

після закінчення гемолізу. Значення tgA обчислювали на лінійній ділянці залежності $\%D_i(t)$, що за фізичним змістом відповідає швидкості гемолізу еритроцитів [31].

Лазерне опромінення зразків в ультрафіолетовому діапазоні здійснювали імпульсним азотним лазером ($\lambda = 0,337$ мкм), середня потужність випромінювання 5 мВт, щільність потужності випромінювання $2,8$ мВт/см²; опромінення в субміліметровому діапазоні – безперервним CO₂-лазером ($\lambda = 118,8$ мкм), середня потужність випромінювання 20 мВт, щільність потужності випромінювання $9,5$ мВт/см². Експозиційна доза за умов опромінення азотним лазером становила: $D_{1УФ}=0,109$ Дж/см², $D_{2УФ}=0,327$ Дж/см², $D_{3УФ}=0,546$ Дж/см². За умов опромінення CO₂-лазером експозиційна доза була $D_{1ТГц}=0,624$ Дж/см², $D_{2ТГц}=1,871$ Дж/см², $D_{3ТГц}=3,119$ Дж/см². Товщина шару опромінюваної суспензії еритроцитів становила 1 мм, час опромінення зразків 10 хвилин.

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснено з використанням стандартних пакетів програм Excel (версія 7), розраховані середні значення і стандартна похибка середнього для досліджуваних зразків клітин, результати опрацьовані з використанням методу Стюдента [32]. Результати експериментальних досліджень на графіках та в таблицях 1, 2 представлені як середнє $\pm$ довірчий інтервал для середнього ($\bar{X} \pm \Delta x$; $P=95\%$).

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження електричних властивостей мембранної поверхні клітин методом мікроелектрофорезу широко застосовується в науковій практиці [29, 33, 34]. Електрокінетичний потенціал плазматичних мембран еритроцитів є важливим фізико-хімічним показником для оцінки таких параметрів біологічної активності клітин, як стійкість до дії зовнішніх чинників [34], клітинний гомеостаз [33], активація (інактивація) клітин [29] та інше. З метою дослідження біогенної активності УФ та ТГц діапазонів визначали дозову залежність поверхневих електричних властивостей мембран еритроцитів за умов впливу НІЛВ. Експериментально методом мікроелектрофорезу [28] визначали електрофоретичну рухливість еритроцитів крові щурів та обчислювали значення дзета-потенціалу і щільність розподілу поверхневого заряду клітин.

На рисунку 1 представлені результати досліджень дозозалежної зміни величини дзета-потенціалу опромінених еритроцитів. Спостерігається тенденція зниження електрокінетичного потенціалу досліджуваних клітин зі зростанням експозиційної дози опромінення для УФ та ТГц діапазонів. При УФ опроміненні суттєво змінюється заряд мембранної поверхні в інтервалі доз до $0,327$ Дж/см², встановлено зменшення величини дзета-потенціалу на 33% відносно контрольного зразка. Тоді як за умов максимальної експозиційної дози опромінення ($0,546$ Дж/см²) зменшення величини дзета-потенціалу відбувається на 39% у порівнянні з неопроміненим контролем. За умов опромінення ТГц лазером встановлено зменшення досліджуваної величини на 47% при максимальній дозі опромінення ($3,119$ Дж/см²) порівняно з неопроміненим контролем, при цьому на перших етапах опромінення також, як і для УФ-діапазону, зміни більш значні у порівнянні з максимальною дозою. Результати представлені в таблиці 1 узгоджуються з загальним уявленням щодо механізму формування електрокінетичного потенціалу мембран та логічно підтверджують, що першопричина зміни електрокінетичних властивостей – зміна перерозподілу зарядів на мембранній поверхні опромінених клітин.

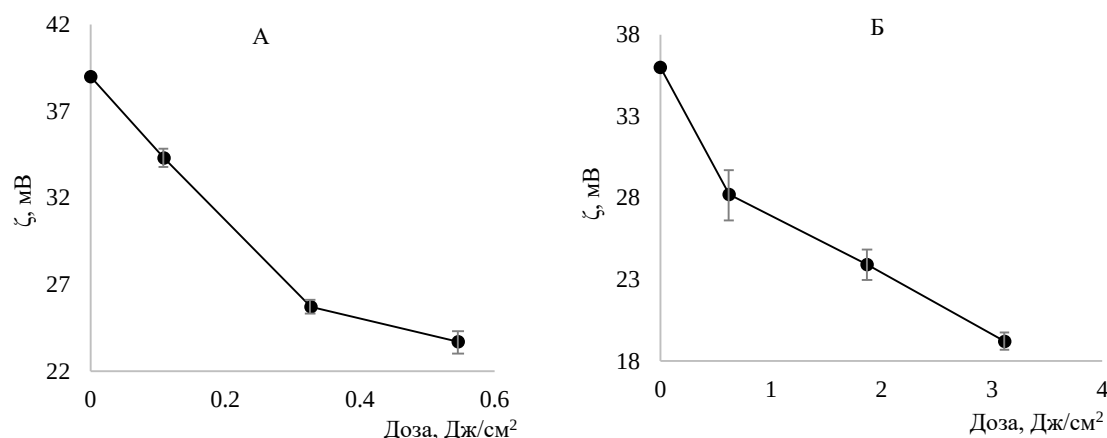


Рис. 1. Дозозалежна зміна величини дзета-потенціалу мембранної поверхні еритроцитів за умов впливу лазерного випромінювання діапазонів УФ (А), $\lambda = 0,337$ мкм та ТГц (Б), $\lambda = 118,8$ мкм.

Fig. 1. Dose-dependent change in the value of the zeta potential of the membrane surface of erythrocytes under the conditions of exposure to UV (A) ($\lambda = 0.337 \mu\text{m}$) and THz (Б) ($\lambda = 118.8 \mu\text{m}$) laser radiation.

Таблиця 1. Щільність поверхневого заряду опромінених лазером еритроцитів в УФ та ТГц діапазонах ($\bar{X} \pm \Delta x$; $n = 5$)

Table 1. Surface charge density of laser-irradiated erythrocytes in the UV and THz ranges ($\bar{X} \pm \Delta x$; $n = 5$)

	УФ	ТГц
	$\delta, 10^{-3} \text{ Кл} \cdot \text{м}^{-2}$	
Контроль	$1,13 \pm 0,04$	$1,04 \pm 0,02$
$D_1 (0,109 \text{ Дж/см}^2)$	$0,99 \pm 0,08$	$0,82 \pm 0,08$
$D_2 (0,327 \text{ Дж/см}^2)$	$0,74 \pm 0,09$	$0,69 \pm 0,10$
$D_3 (0,546 \text{ Дж/см}^2)$	$0,69 \pm 0,07$	$0,56 \pm 0,05$

Відомо, що електрофоретична рухливість клітин та щільність заряду поверхні визначається фосfolіпідним складом клітинної мембрани та фізико-хімічним станом ліпідому [35]. Вплив фізичних чинників на мембрани еритроцитів може спричинювати перебудови ліпідного бішару [36], зміни фосfolіпідного складу та їх жирнокислотних залишків [37]. У зв'язку з цим доцільно було дослідити активність процесів ПОЛ та визначити рівень генерації первинних продуктів переокислення жирнокислотних залишків із різною кількістю подвійних зв'язків у фосfolіпідах мембран еритроцитів після опромінення НІЛВ УФ та ТГц діапазонів. Як видно з рисунку 2, одноразове опромінення суспензії еритроцитів УФ лазером за умов різних експозиційних доз ($D_1=0,109 \text{ Дж/см}^2$; $D_2=0,327 \text{ Дж/см}^2$; $D_3=0,546 \text{ Дж/см}^2$) спричинює зниження рівня ДК після УФ опромінення в дозах $0,109 \text{ Дж/см}^2$ (на 17 %) та $0,327 \text{ Дж/см}^2$ (на 50 %), після опромінення в максимальній дозі $0,546 \text{ Дж/см}^2$ не виявлено достовірних змін концентрації ДК. Рівень ТК, ОДК та ТЕК стає нижчим контрольного значення після УФ опромінення в усіх досліджуваних дозах (Рис. 2, Рис. 3), проте дозова залежність є нелінійною. Максимальне зменшення досліджуваних показників встановлено в зразках опромінених в дозі $D_2=0,327 \text{ Дж/см}^2$: на 56% для ТК, на 57% для ОДК, на 52% для ТЕК порівняно з неопроміненим контролем.

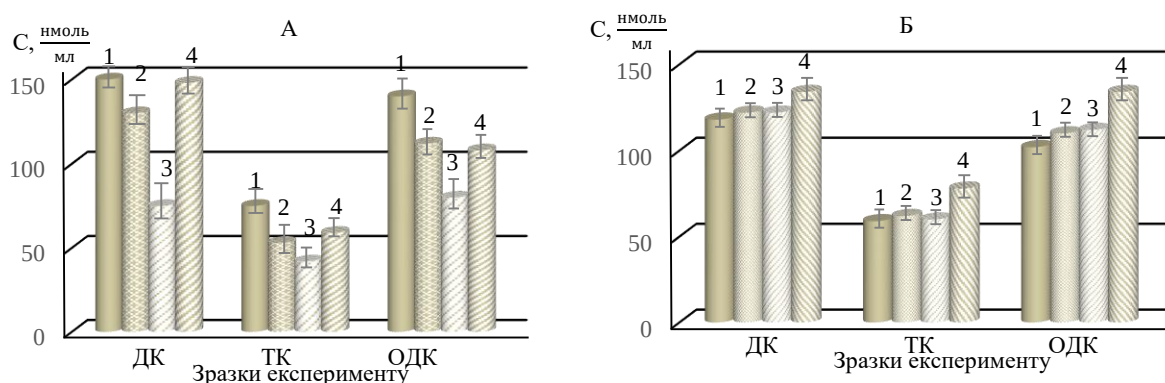


Рис. 2. Вплив НІЛВ УФ ($\lambda=0,337 \mu\text{м}$) (А) та ТГц ($\lambda = 118,8 \mu\text{м}$) (Б) діапазонів на рівень первинних продуктів ПОЛ (ДК, ТК, ОДК) в дозах опромінення: 1 — контроль; 2 — D_1 ; 3 — D_2 ; 4 — D_3 .

Fig. 2. Influence of LLL UV ($\lambda=0.337 \mu\text{m}$) (A) and THz ($\lambda = 118.8 \mu\text{m}$) (B) ranges on the level of primary products of POL (DC, TC, ODK) in doses: 1 — control; 2 — D_1 ; 3 — D_2 ; 4 — D_3 .

За умов впливу ТГц НІЛВ виявлено дозозалежне монотонне збільшення генерації продуктів ПОЛ у порівнянні з неопроміненим контролем. Лазерне випромінювання даного діапазону стимулює первинні ланки ПОЛ, спостерігається тенденція зростання концентрації кон'югатів зі збільшенням експозиційної дози, але експериментальні дані мають статистичну значущість лише для максимальної дози $3,119 \text{ Дж/см}^2$, з застосуванням якої було зареєстровано підвищення концентрації для усіх продуктів ПОЛ, що вимірювалися, приблизно на 30 %. Аналогічні залежності спостерігались і для ТЕК, як видно з результатів експериментальних досліджень представлених на рисунку 3.

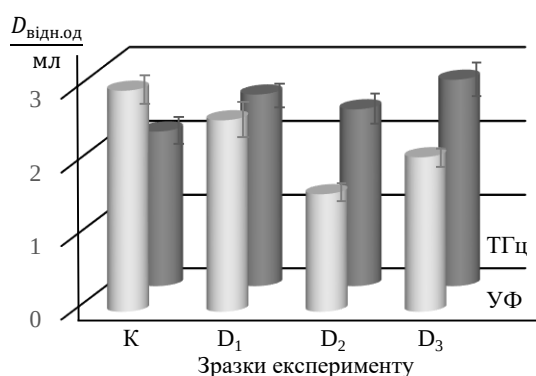


Рис. 3. Вплив НІЛВ УФ ($\lambda = 0,337 \mu\text{м}$) та ТГц ($\lambda = 118,8 \mu\text{м}$) діапазонів на рівень первинних продуктів ПОЛ для жирних кислот з чотирма та більше подвійними зв'язками (ТЕК).

Fig. 3. The effect of LLL UV ($\lambda = 0.337 \mu\text{m}$) and THz ($\lambda = 118.8 \mu\text{m}$) ranges on the level of primary LPO products for fatty acids with four or more double bonds (TEC).

Електрична активність еритроцитів визначається фізичним станом ліпідного бішару [38], конформаційним станом мембранних інтегральних білків [39], білків цитоскелету та їх взаємодією, примембранним іонним оточенням [40], що, в свою чергу, в комплексі забезпечує в'язкоеластичні властивості еритроцитарної мембрани. Слід припустити, що виявлені зміни електрокінетичного потенціалу еритроцитів крові щурів за умов впливу лазерного випромінювання спричинені, перш за все, зміною в'язкоеластичних властивостей клітинних мембран. Дослідження стійкості плазматичних мембран

еритроцитів до дії кислотного гемолітика після їх лазерного опромінення дозволяє впевнитися в важливості такого припущення.

На рисунку 4 та в таблиці 2 представлені результати досліджень стійкості мембран еритроцитів до дії кислотного гемолітика після опромінення клітин НІЛВ УФ та ТГц діапазонів. Встановлено зниження стійкості еритроцитарних мембран та достовірне зменшення величини лаг-періоду на 22% при УФ опроміненні в дозах 0,327 Дж/см² та 0,546 Дж/см². Разом з тим, розрахункові дані, які відображено в таблиці 2, свідчать про те, що лазерне випромінювання не впливає на швидкість кислотного гемолізу еритроцитів в досліджуваному інтервалі доз УФ випромінювання, не виявлено достовірних змін цього параметру в опромінених зразках.

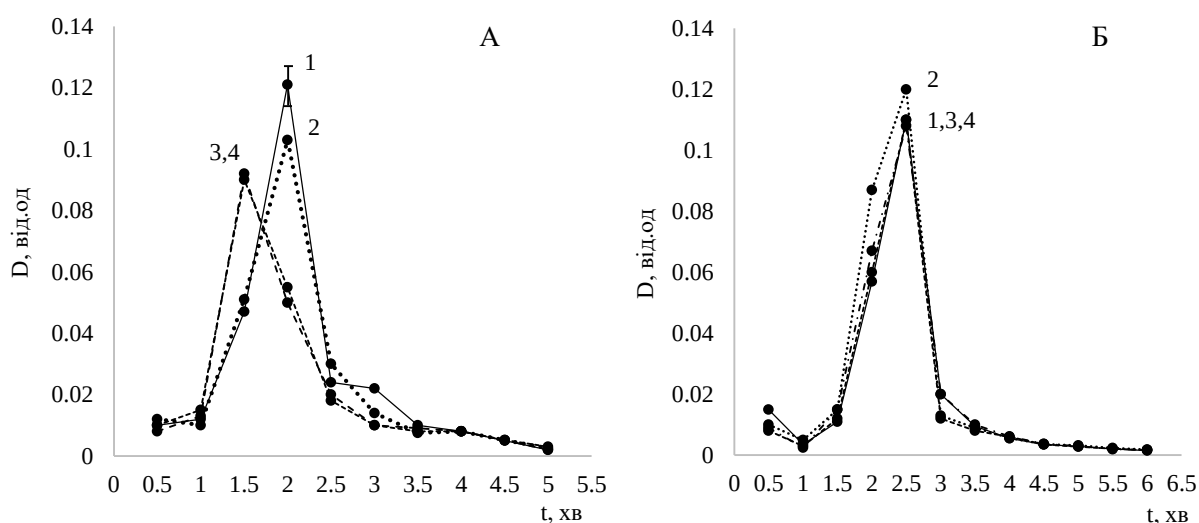


Рис. 4. Дозові ефекти НІЛВ УФ ($\lambda = 0,337$ мкм) (А) та ТГц ($\lambda = 118,8$ мкм) (Б) діапазонів на резистентність мембран еритроцитів до дії кислотного гемолітика в дозах опромінення: 1 — контроль; 2 — D_1 ; 3 — D_2 ; 4 — D_3 .

Fig. 4. Dose effects of LLLV UV ($\lambda = 0.337$ μm) (A) and THz ($\lambda = 118.8$ μm) (B) ranges on the resistance of erythrocyte membranes to acid hemolysis in doses: 1 — control; 2 — D_1 ; 3 — D_2 ; 4 — D_3 .

За результатами експериментальних досліджень не виявлено біогенної активності лазерного випромінювання ТГц діапазону при опроміненні суспензії еритроцитів. Відсутні достовірні зміни стійкості еритроцитарної мембрани до дії кислотного гемолітика, про що свідчать експериментальні дані рисунку 4.

Таблиця 2. Розрахункові параметри кислотного гемолізу еритроцитів щурів за умов впливу лазерного випромінювання УФ – діапазону ($\bar{X} \pm \Delta x$; $n = 5$)

Table 2. Calculated parameters of acid hemolysis of rat erythrocytes under the conditions of exposure to UV laser radiation ($\bar{X} \pm \Delta x$; $n = 5$)

Умови експерименту	Швидкість гемолізу ($\text{tgAx}10^{-3}$)	LAG-період (d,сек)
Контроль	$3,3 \pm 0,1$	$77,9 \pm 1,0$
D_1 (0,109 Дж/см ²)	$3,6 \pm 0,1$	$76,5 \pm 1,3$
D_2 (0,327 Дж/см ²)	$2,98 \pm 0,16$	$61,4 \pm 1,7$
D_3 (0,546 Дж/см ²)	$3,42 \pm 0,17$	$60,4 \pm 1,6$

З огляду на отримані експериментальні результати дослідження, а також аналіз світової літератури, можна припустити, що встановлене зниження дзета-потенціалу еритроцитів при опроміненні в обох режимах свідчить про перерозподіл заряджених груп клітинної поверхні, стимульований лазерним випромінюванням. Без зміни іонного середовища в експерименті заряд поверхні клітин може змінюватися виключно завдяки молекулярним перебудовам у самій клітині. У світовій літературі описані випадки зниження дзета-потенціалу мембрани еритроцитів за абсолютно різних умов, наприклад, при паразитарній інфекції [41], при зберіганні еритроцитів [42], при розвитку патологічних станів організму людини [43] або під впливом статичного магнітного поля різної магнітної інтенсивності на еритроцити здорових людей [44]. Авторами називаються можливі причини зміни дзета-потенціалу, не пов'язані з кількістю залишків сіалової кислоти на клітинній поверхні, які роблять основний внесок у величину потенціалу, як вважається [41, 43, 44]. До таких причин відносяться зміна кластеризації або ремоделювання мембранних білків еритроцитів, підвищена здатність мембрани до деформації [45], латеральні білок-білкові взаємодії, структурні та механічні зміни цитоплазматичної мембрани та властивостей клітин за рахунок модифікації ліпідому еритроцитів [46]. Взаємодії між сусідніми молекулами можуть змінювати перерозподіл білків та нейтралізувати деякі поверхневі заряди.

Зміна ліпідому за умов впливу НІЛВ може здійснюватися за механізмом ПОЛ. Справді, результати дослідження, продемонстровані у цій роботі на рисунках 2 і 3, вказують на підвищення рівня первинних продуктів ліпопереокислення після опромінення еритроцитів в максимальній дозі у діапазоні ТГц. Динаміка утворення первинних продуктів ПОЛ під дією НІЛВ УФ діапазону показує їх зниження, що нелінійно залежить від поглиненої дози. Але, враховуючи замкненість системи інкубації клітин, зниження базового рівня первинних продуктів (порівняно з контролем) може бути пов'язане з утворенням цих інтермедіатів більш просунутих продуктів ПОЛ, наприклад, вторинних, типу малонового альдегіду або основ Шиффа, концентрація яких у цьому дослідженні не вимірювалася, на жаль. Деякими авторами було показано, що під дією НІЛВ різних діапазонів знижується сатурація кисню в еритроцитах, дезоксигенація еритроцита відбувається за рахунок фотодисоціації кисню з гемоглобіну [47, 48, 49]. Ці спостереження дозволяють припустити, що у разі лазерно-індукованої дезоксигенації еритроцитів вільний кисень, що утворюється в результаті фотодисоціації, діє як окисник і призводить до окисного пошкодження еритроцитів.

Таким чином, активація вільно-радикальних процесів за умов впливу НІЛВ досліджуваних діапазонів може бути однією з причин перебудови еритроцитарної мембрани та зниження дзета-потенціалу клітин. При цьому опромінення в УФ діапазоні викликає більш суттєві зміни досліджуваних параметрів порівняно з ТГц, але залежність від дози не є лінійною і потребує додаткових досліджень для уточнення механізмів.

Дослідниками було показано, що дія різних факторів на еритроцити тварин і людини *in vivo* або *in vitro* — бактеріальних токсинів [41], зберігання [42] та багатьох інших [50] призводить до зміни асиметрії ліпідного бішару, зокрема, на поверхню зовнішнього моношару експонується фосфатидилсерін із внутрішньоклітинного мембранного шару. Це може викликати наслідки, а саме: агрегацію клітин, зміну їхньої форми, ініціацію еритроптозу. З іншого боку, сильна агрегація спостерігалася і через знижений дзета-потенціал клітин крові. На зразках зрілих еритроцитів, агрегати яких мали велику площу поверхні, що охоплює декілька клітин, фракціонованих за щільністю, було виявлено зниження величини дзета-потенціалу у порівнянні з молодими еритроцитами [51]. Еритрограми кислотного гемолізу клітин після дії НІЛВ, представлені в даній роботі,

показали (Рис. 4 і Табл. 2), що стійкість клітин знижується, причому дозозалежно, тільки після опромінення в УФ діапазоні. Зареєстровані різні величини оптичної щільності зразків гемолізатів опромінених еритроцитів УФ НІЛВ у досліджуваних дозах (Рис. 4) можуть вказувати на формування в загальному пулі еритроцитів субпопуляції клітин менш стійкої до гемолізу, яка характеризується відносним зниженням концентрації гемоглобіну всередині клітин після їх опромінення внаслідок часткового виходу молекул в середовище ще до застосування гемолітику. Таким чином, значна частина клітин під дією НІЛВ УФ діапазону набуває більш крихкої мембрани і, швидше за все, клітини зменшуються в об'ємі, що може свідчити про ериптоз частини досліджуваної популяції еритроцитів, опромінених НІЛВ УФ в дозах $0,327 \text{ Дж/см}^2$ і $0,546 \text{ Дж/см}^2$. Можливо, явища, які спостерігаються в даних дослідженнях: зниження дзета-потенціала поряд зі зниженням стійкості клітин та активацією процесів ПОЛ, свідчать на користь зміни асиметрії еритроцитарних мембран за рахунок перерозподілу компонентів ліпідного бішару, у тому числі і за рахунок появи в зовнішньому ліпідному моношарі фосфоліпідів внутрішнього шару. Що призводить до апоптичних змін в еритроцитах під дією НІЛВ УФ діапазону.

ВИСНОВКИ

За умов впливу НІЛВ встановлено дозозалежне зниження електрокінетичного потенціалу плазматичної мембрани еритроцитів при опроміненні в УФ та ТГц діапазонах, залежність не є лінійною для всіх досліджуваних частот випромінювання.

Активация вільно-радикальних процесів під дією НІЛВ УФ та ТГц діапазонів може бути однією з причин перебудови еритроцитарної мембрани та зниження дзета-потенціалу клітин за таких умов опромінення. Встановлена залежність від дози не є лінійною для досліджуваних частот і потребує подальшого вивчення з метою з'ясування механізмів дії.

Еритрограми кислотного гемолізу виявили дозозалежне зниження стійкості еритроцитарних мембран до дії гемолітика після їх опромінення НІЛВ в УФ діапазоні, опромінення в дозах $0,327 \text{ Дж/см}^2$ і $0,546 \text{ Дж/см}^2$ викликає формування в загальному пулі еритроцитів субпопуляції клітин менш стійких до гемолізу за рахунок підвищеної крихкості мембрани.

Отримані дані можуть бути використані для розширення спектру застосування НІЛВ УФ діапазону в методиках ВЛОК.

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів

Authors' ORCID ID

Л. В. Січевська  <https://orcid.org/0000-0001-6613-2645>
Т. М. Овсяннікова  <https://orcid.org/0000-0002-5386-6559>
І. А. Забеліна  <https://orcid.org/0009-0005-3071-9635>
А. О. Коваленко  <https://orcid.org/0000-0002-6332-8922>
О. М. Левченко  <https://orcid.org/0000-0002-4460-8419>
О. В. Гурін  <https://orcid.org/0000-0003-1382-5338>

REFERENCES

1. Khuda LV, Cheban LM, Khudiyi OI. The influence of low-frequency laser emission on phyto- and zooplankton productivity properties. Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems). 2020;12(2):196–201. <https://doi.org/10.31861/biosystems2020.02.196> (In Ukrainian)
2. Luo GY, Sun L, Wei EX, Tan X, Liu TC. The effects of low-intensity He-Ne laser irradiation on erythrocyte metabolism. Lasers Med Sci. 2015;30(9):2313–8. <https://doi.org/10.1007/s10103-015-1806-6>

3. Oliveira MC, Krueger GF, Sganzerla JT, Gassen HT, Hernández PAG, Allgayer MDC, et al. Effect of radiotherapy and low-level laser therapy on circulating blood cells of rats. *J Lasers Med Sci.* 2021;12:e45. <https://doi.org/10.34172/jlms.2021.45>
4. Gorenskaya OV, Shckorbatov YuG, Filiponenko NS. Mutations rate in different lines of drosophila melanogaster after the treatment with caffeine and he-ne laser radiation. *Photobiol Photomed.* 2018;24:41–5. <https://doi.org/10.26565/2076-0612-2018-24-05> (In Ukrainian)
5. Erthal V, da Silva MD, Cidral-Filho FJ, Santos AR, Nohama P. ST36 laser acupuncture reduces pain-related behavior in rats: involvement of the opioidergic and serotonergic systems. *Lasers Med. Sci.* 2013;28(5):1345–51. <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1260-7>
6. Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Salgado MAC, Bjordal JM, Alves LP, Munin E, Costa MS. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B.* 2007;89(1):50–5. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2007.08.005>
7. Vasilyeva-Linetska LYa. Low-level laser therapy in rehabilitation of patients with ischemic heart disease: review of evidence-based studies. *Photobiol Photomed.* 2019;28:39–53. <https://doi.org/10.26565/2076-0612-2019-28-05> (In Ukrainian)
8. Huang YC, Tran N, Shumaker PR, Kelly K, Ross EV, Nelson JS, Choi B. Blood flow dynamics after laser therapy of port wine stain birthmarks. *Lasers Surg Med.* 2009;41(8):563–71. <https://doi.org/10.1002/lsm.20840>
9. Krasnoselsky N, Simonova L, Zavadskaya T, Pushkar E, Gertman V. Natural and systemic treatment effects of intra-vascular laser therapy in cancer patients. *Exp Clin Med.* 2019;82(1):87-93. <https://doi.org/10.35339/ekm.2019.01.13> (In Ukrainian)
10. Tomé RF, Silva DF, Dos Santos CA, de Vasconcelos Neves G, Rolim AK, de Castro Gomes DQ. ILIB (intravascular laser irradiation of blood) as an adjuvant therapy in the treatment of patients with chronic systemic diseases – An integrative literature review. *Lasers Med Sci.* 2020;35(9):1899–907. <https://doi.org/10.1007/s10103-020-03100-4>
11. Naeser MA, Saltmarche A, Krengel MH, Hamblin MR, Knight JA. Improved cognitive function after transcranial light-emitting diode treatments in chronic, traumatic brain injury: two case reports. *Photomed Laser Surg.* 2011;29:351–8. <https://doi.org/10.1089/pho.2010.2814>
12. Liebert A, Capon W, Pang V, Vila D, Bicknell B, McLachlan C, Kiat H. Photophysical mechanisms of photobiomodulation therapy as precision medicine. *Biomedicines.* 2023;11(2):237–68. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020237>
13. Kazemikhoo N, Sarafnejad AF, Ansari F, Mehdipour P. Modifying effect of intravenous laser therapy on the protein expression of arginase and epidermal growth factor receptor in type 2 diabetic patients. *Lasers Med. Sci.* 2016;31(8):1537–45. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-2012-x>
14. Pasternak K, Nowacka O, Wrobel D, Pieszynski I, Bryszewska M, Kujawa J. Influence of MLS laser radiation on erythrocyte membrane fluidity and secondary structure of human serum albumin. *Mol Cell Biochem.* 2014;388:261–7. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1917-y>
15. Gupta A, Avci P, Dai T, Huang YY, Hamblin MR. Ultraviolet radiation in wound care: sterilization and stimulation. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2013;2(8):422–37. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0366>
16. Le Duff F, Fontas E, Giaccherio D, Sillard L, Lacour JP, Ortonne JP, et al. 308-nm excimer lamp vs. 308-nm excimer laser for treating vitiligo: a randomized study. *Br J Dermatol.* 2010;163:188–92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09778.x>
17. Hintzsche H, Stopper H. Effects of terahertz radiation on biological systems. *Crit Rev Environ Sci Technol.* 2012;42: 2408–34. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.574206>
18. Wang Y, Xiong Y, Chen M, Liu F, He H, Ma Q, Gao P, Xiang G, Zhang L. The biological effects of terahertz wave radiation-induced injury on neural stem cells. *iScience.* 2023;26(10):107418. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107418>
19. Gezimati M, Singh G. Advances in terahertz technology for cancer detection applications. *Opt Quantum Electron.* 2023;55(2):151. <https://doi.org/10.1007/s11082-022-04340-0>
20. Wang L. Terahertz imaging for breast cancer detection. *Sensors (Basel).* 2021;21(19):6465. <https://doi.org/10.3390/s21196465>
21. Fitzgerald AJ, Berry E, Zinovev NN, Walker GC, Smith MA, Chamberlain JM. Topical Review: An introduction to medical imaging with coherent terahertz frequency radiation. *Phys Med Biol.* 2002;47(7):R67–84. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/47/7/201>
22. Musawi AI, Jaafar MS, Al-Gailani MS, Ahmed NM, Suhaimi FM, Bakhsh M. Erythrocyte sedimentation rate of human blood exposed to low-level laser. *Lasers Med Sci.* 2016;31(6):1195–201. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-1972-1>

23. Paranich AV, Sichevska LV, Roshal OD. Structural and functional changes in plasma membranes of cells under the influence of laser radiation. *Photobiol Photomed.* 2000;3(3–4):94–7. (In Ukrainian)
24. Reznikov OG. General ethical principles of animal experiments. *Endokrynologia.* 2003;8(1):142–5. Available from: <https://endokrynologia.com.ua/index.php/journal/issue/view/59/65> (In Ukrainian)
25. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg. 1986. 53 p.
26. Recknagel RO, Ghoshal AK. Quantitative estimation of peroxidative degeneration of rat liver microsomal and mitochondrial lipids after carbon tetrachloride poisoning. *Exp Mol Pathol.* 1966;5:413–26. [https://doi.org/10.1016/0014-4800\(66\)90023-2](https://doi.org/10.1016/0014-4800(66)90023-2)
27. Yamamoto Y, Niki E, Eguchi J, Kamiya Y, Shimasaki H. Oxidation of biological membranes and its inhibition. Free radical chain oxidation of erythrocyte ghost membranes by oxygen. *Biochim Biophys Acta – Biomembr.* 1985;819(1):29–36. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(85\)90192-0](https://doi.org/10.1016/0005-2736(85)90192-0)
28. Levine S, Levine M, Sharp KA, Brooks DE. Theory of the electrokinetic behavior of Human erythrocytes. *Biophys J.* 1983;42:127–135. [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(83\)84378-1](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(83)84378-1)
29. Szeremeta M, Petelska AD, Kotyńska J, Pepiński 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>
30. Ilani A, Granoth R. The pH dependence of the hemolytic potency of bile salts. *Biochim Biophys Acta – Biomembr.* 1990;1027(2):199–204. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(90\)90085-3](https://doi.org/10.1016/0005-2736(90)90085-3)
31. Rudenko SV, Nipot EE. Protection by chlorpromazine, albumin and bivalent cations against haemolysis induced by melittin, [Ala-14]melittin and whole bee venom. *Biochem J.* 1996;317(3):747–54. <https://doi.org/10.1042/bj3170747>
32. Glantz SA. *Primer of biostatistics.* 3rd ed. New York: McGraw Hill; 1992. 440 p.
33. Dobrzyńska I, Szachowicz-Petelska B., Darewicz B., Figaszewski ZA. Characterization of human bladder cell membrane during cancer transformation. *J Membr Biol.* 2015;248(2):301–7. <https://doi.org/10.1007/s00232-015-9770-4>
34. Petelska AD, Janica JR, Kotyńska J, Łebkowska U, Figaszewski ZA. The effect of contrast medium SonoVue on the electric charge density of blood cells. *J Membr Biol.* 2012;245(1):15–22. <https://doi.org/10.1007/s00232-011-9409-z>
35. Szachowicz-Petelska B, Dobrzyńska I, Figaszewski Z, Sulkowski S. Changes in physico-chemical properties of human large intestine tumour cells membrane. *Mol Cell Biochem.* 2002;238(1-2):41–7. <https://doi.org/10.1023/a:1019946718876>
36. Sichevska LV. The role of the lipid and the protein in radiation defeat of the erythrocyte membranes. *Biophys Bull.* 1998;1(1):128–32. Available from: <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/article/view/2084/1823> (In Russian)
37. Dobretsov GE, Borschevskaya VA, Petrov VA, Vladimirov YuA. The increase of phospholipid bilayer rigidity after lipid peroxidation. *FEBS Lett.* 1977;84(1):125–8. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(77\)81071-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(77)81071-5)
38. Dobrzyńska I, Szachowicz-Petelska B, Skrzydlewska E, Figaszewski ZA. Changes in electric charge and phospholipids composition in erythrocyte membrane of ethanol-poisoned rats after administration of teas. *Acta Pol Pharm.* 2004;61(6):483–7.
39. Adak S, Chowdhury S, Bhattacharyya M. Dynamic and electrokinetic behavior of erythrocyte membrane in diabetes mellitus and diabetic cardiovascular disease. *Biochim Biophys Acta – Gen Subj.* 2008;1780(2):108–15. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2007.10.013>
40. Stankowski S. Surface charging by large multivalent molecules Extending the standard Gouy-Chapman treatment. *Biophys J.* 1991;60:341–51. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(91\)82059-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(91)82059-8)
41. Tokumasu F, Ostera GR, Amaratunga C, Fairhurst RM. Modifications in erythrocyte membrane zeta potential by *Plasmodium falciparum* infection. *Exp Parasitol.* 2012;131(2):245–51. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.03.005>
42. Bordi F, Cametti C, De Luca F, Gili T, Misasi R, Sorice M, et al. Structural alteration of erythrocyte membrane during storage: a combined electrical conductometric and flow-cytometric study. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2001;56(9–10):857–64. <https://doi.org/10.1515/znc-2001-9-1030>
43. Karemore M, Avari J. Alteration in zeta potential of erythrocytes in preeclampsia patients. In: Nidhi Sharma, editor. *Prediction of Maternal and Fetal Syndrome of Preeclampsia.* 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85952>
44. Doltchinkova V, Lozanova S, Rukova B, Nikolov R, Ivanova E, Roumenin C. Electrokinetic properties of healthy and β -thalassemia erythrocyte membranes under *in vitro* exposure to static magnetic field. *Front Chem.* 2023;11:1197210. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1197210>

45. Huang YX, Wu ZJ, Mehrishi J, Huang BT, Chen XY, Zheng XJ, Liu WJ, Luo M. Human red blood cell aging: correlative changes in surface charge and cell properties. *J Cell Mol Med.* 2011;15(12):2634–42. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01310.x>
46. Himbert S, Rheinstädter MC. Structural and mechanical properties of the red blood cell's cytoplasmic membrane seen through the lens of biophysics. *Front Physiol.* 2022;13:953257. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.953257>
47. Hamada R, Ogawa E, Arai T. Continuous optical monitoring of red blood cells during a photosensitization reaction. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2019;37(2):110–6. <https://doi.org/10.1089/photob.2018.4513>
48. Ahlawat S, Kumar N, Uppal A, Kumar Gupta P. Visible raman excitation laser induced power and exposure dependent effects in red blood cells. *J Biophotonics.* 2017;10(3):415–22. <https://doi.org/10.1002/jbio.201500325>
49. Wasik M, Gorska E, Modzelewska M, Nowicki K, Jakubczak B, Demkow U. The influence of low-power helium-neon laser irradiation on function of selected peripheral blood cells. *J Physiol Pharmacol.* 2007;58(5):729–37. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18204188>
50. Sathi A, Viswanad V, Aneesh TP, Kumar BA. Pros and cons of phospholipid asymmetry in erythrocytes. *J Pharm Bioallied Sci.* 2014;6(2):81–5. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.129171>
51. D'Alessandro A, Blasi B, D'Amici GM, Marrocco C, Zolla L. Red blood cell subpopulations in freshly drawn blood: application of proteomics and metabolomics to a decades-long biological issue. *Blood Transfus.* 2013;11:75–87. <https://doi.org/10.2450/2012.0164-11>

DOSE EFFECTS OF ULTRAVIOLET AND TERAHERTZ LASER RADIATION ON THE PLASMA MEMBRANE OF ERYTHROCYTES

L. V. Sichevska^{id}, T. M. Ovsyannikova^{id}, I. A. Zabelina^{id}, A. O. Kovalenko^{id}, O. M. Levchenko^{id}, O. V. Gurin^{id}
V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., 61022, Kharkiv, Ukraine

e-mail: sichevska@karazin.ua

Submitted March 17, 2025; Revised April 18, 2025;

Accepted April 22, 2025

Background: In modern medicine, various technical means and developments are actively used in invasive intravascular (IVL) and non-invasive transcutaneous blood irradiation methods, including low-intensity laser radiation (LLLR) of various ranges. Despite the positive clinical results of such exposure, the physical and molecular mechanisms remain incompletely understood. Ultraviolet (UV) and terahertz (THz) ranges of electromagnetic radiation are classified as biogenic; therefore, establishing their effects at the level of blood cells will allow them to be recommended for use in medical and biotechnological practice after the development of appropriate exposure methods.

The objective was to study the biogenic activity of ultraviolet (UV) and terahertz (THz) ranges of LLLR on the structural and functional state of red blood cells of rats *in vitro*.

Materials and methods: Using methods of microelectrophoresis, spectrophotometry and chemical erythrograms, the following was studied: zeta potential of *red blood cells*; the content of the primary products of lipid peroxidation in the *red blood cells* (fatty acid conjugates of membrane of *red blood cells* phospholipids — diene (DK), triene (TK), and tetraene (TTK), oxodiene (ODK); resistance of erythrocytes to the action of an acid hemolytic after previous laser irradiation in the UV and THz ranges. Laser irradiation of the samples in the UV range was carried out by a nitrogen pulsed laser ($\lambda = 0.337 \mu\text{m}$), with the average radiation power 5 mW; irradiation in the THz range with a continuous CO₂ laser ($\lambda = 118.8 \mu\text{m}$), the average radiation power is 20 mW. When the samples were irradiated, the density of radiation power W did not exceed 7 W/m^2 . The exposure dose under nitrogen laser irradiation was $D_{1UV}=0.109 \text{ J/cm}^2$, $D_{2UV}=0.327 \text{ J/cm}^2$, $D_{3UV}=0.546 \text{ J/cm}^2$. Under CO₂ laser irradiation, the exposure dose was $D_{1THz}=0.624 \text{ J/cm}^2$, $D_{2THz}=1.871 \text{ J/cm}^2$, $D_{3THz}=3.119 \text{ J/cm}^2$. The thickness of irradiated red blood cell suspension layer was 1 mm.

Results: The effect of low-dose LLLR UV and THz radiation causes physicochemical changes in the plasma membrane of erythrocytes. A nonlinear dose-dependent decrease in the electrokinetic potential of the cell surface and an increase in the hemolytic sensitivity of erythrocytes against the background of activation of lipid peroxidation processes in erythrocyte membranes have been established.

Conclusions: Under the influence of LLLR, the free-radical peroxidation of lipids of erythrocyte membranes is stimulated. Pronounced biogenic activity of UV of LLLR was detected at the level of erythrocyte membranes. The obtained data can be used to expand the spectrum of application of LLLR of the UV range in IVL techniques.

KEY WORDS: low-level laser radiation (LLLR); terahertz (THz) radiation; ultraviolet radiation; red blood cells; zeta-potential of erythrocytes; lipid peroxidation; acid hemolysis.