

ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛАЗЕРА НА СВОЙСТВА БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА *in vitro*

© 2023 г. Д.А. Серов*, Е.И. Нагаев*, А.И. Кулешова*, В.Е. Реут**, М.Е. Асташев*.[#]

*Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, ул. Вавилова, 38, Москва, 119991, Россия

**Белорусский государственный университет, просп. Независимости, 4, Минск, 220030, Беларусь

[#]E-mail: astashev@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.10.2022 г.

После доработки 09.11.2022 г.

Принята к публикации 16.11.2022 г.

Исследовано влияние хирургического лазера на физико-химические свойства молекул бычьего сывороточного альбумина. После воздействия лазерного излучения увеличивается оптическая плотность белковых растворов, уменьшается интенсивность флуоресценции, на спектре комбинационного рассеяния наблюдается существенное уменьшение интенсивности полосы α -спиралей, коэффициент преломления растворов существенно не изменился. При этом увеличивалась вязкость растворов альбумина, а псевдопластичность уменьшалась. Массовое повреждение полипептидной цепи белка не наблюдалось, напротив, наблюдалась интенсивная агрегация. Таким образом, при действии излучения хирургического лазера в растворе альбумина преобладают процессы частичной денатурации и агрегации, в меньшей степени повреждаются ароматические аминокислотные остатки, при этом не наблюдается фрагментация молекул альбумина.

Ключевые слова: лазерное излучение, оптический пробой, пространственная структура белка.

DOI: 10.31857/S0006302923030079, EDN: FQPRSL

Сегодня лазерная хирургия используется крайне широко, с помощью лазерной техники выполняются оперативные вмешательства в различные ткани и части тела (дерма, костная ткань, мышечная ткань, жировая ткань, сухожилия, почти все внутренние органы, глаза и т.п.) [1]. Разные ткани имеют различные оптические (коэффициент отражения, коэффициент преломления, спектральные характеристики, глубина проникновения излучения) и теплофизические (теплопроводность, теплоемкость) свойства [2]. Поэтому для каждой ткани и задачи внутри ткани необходимо подбирать длину волны лазерного излучения, длительность воздействия, частоту следования импульсов, плотность потока энергии и т.п. [3]. При лазерной хирургии разрушение происходит непосредственно в процессе воздействия лазерного излучения на ткань [4]. Обычно используются лазеры, плотность мощности излучения которых достаточна для удаления, разрушения или термического некроза клеток и тканей [5]. В настоящее время лазеры на основе активной среды Nd:YAG являются наиболее распространенными [6]. Популярность объясняется тем,

что при длине волны Nd:YAG-лазера 1064 нм большинство тканей имеют низкий коэффициент поглощения [7]. Из-за этого эффективная глубина проникновения такого излучения в ткани довольно велика, это обеспечивает хороший гемостаз и коагуляцию [8]. При этом при воздействии на ткань хирургических лазеров наблюдается развитие нелинейных процессов. Одним из наиболее часто регистрируемых нелинейных процессов является оптический пробой, быстропротекающий необратимый процесс превращения среды из прозрачной в сильно поглощающую под действием интенсивного излучения [9]. Оптический пробой происходит при превышении некоторых пороговых значений плотности энергии лазерного излучения [10]. Известно, что в присутствии наноразмерных примесей вероятность оптического пробоя слабопоглощающих сред увеличивается на несколько порядков [11]. Молекулы белков в силу своего размера также являются наноразмерными объектами. Сегодня неизвестно, могут ли молекулы белков, приводить к увеличению вероятности пробоя в фосфатном буфере. Также мало что известно об изменениях, которые могут происходить в молекулах белков при оптическом пробое.

Сокращение: БСА – бычий сывороточный альбумин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лазерное облучение. В качестве мишени был выбран бычий сывороточный альбумин (БСА) (SigmaAldrich, США), растворенный в фосфатном буферном растворе (SigmaAldrich, США) в концентрации 0.5 мг/мл при pH 7.2. Раствор белка без лазерного воздействия был использован в качестве контроля. В качестве источника лазерного излучения использовали Nd:YAG-лазер NL300 (Ekspla, Литва) со следующими параметрами: длительность импульса $\tau = 4$ нс, частота $\nu = 1$ кГц, длина волны $\lambda = 532$ нм, энергия в импульсе $\epsilon = 2$ мДж. Излучение лазера фокусировалось в центре кюветы и перемещалось вдоль прямой линии длиной 1 см со скоростью 700 м/с при помощи гальвано-механической системы зеркал (рис. 1). Перемещение фокуса излучения в кювете обусловлено необходимостью инициирования пробоя в невозмущенной среде, а также избегания тепловой дефокусировки и дополнительного рассеяния на пузырьках образующегося газа [12].

Дифференциальная двухлучевая спектроскопия. Спектры поглощения образцов были получены с помощью спектрофотометра Cintra 4040 (GBC Scientific Equipment Ltd, Австралия). Измерения выполняли в кварцевых кюветах с длиной пути 10 мм при комнатной температуре ($\sim 22^\circ\text{C}$). Регистрацию спектров поглощения выполняли до воздействия, а также после 2.5, 5, 15 и 30 мин воздействия лазера. Для каждого варианта было выполнено не менее шести независимых измерений.

Спектроскопия комбинационного рассеяния. Спектры комбинационного рассеяния были записаны с помощью микроскопа Senterra II (Bruker Optik GmbH, Германия) с каплей водного раствора БСА (5 мг/мл), высушенного на подложке из CaF_2 , в контроле и после 30 мин лазерного воздействия. Регистрацию вели при установленном объективе $50\times$, длине волны возбуждающего света 532 нм, мощности лазера 12.5 мВт, времени накопления 2 с. С каждого образца записывали не менее 100 спектров, которые далее усредняли. Для каждого варианта было выполнено как минимум три независимых измерения для обеспечения воспроизводимости. Для дальнейшей обработки спектров использовали программное обеспечение OPUS 8.2.28 (Bruker Optik GmbH, Германия). Обработка спектров включала следующие этапы: 1) коррекция методом «изогнутой резинки», 2) нормализация «Min-Max»; 3) сглаживание (число точек сглаживания 17) [13].

Динамическое рассеяние света. Гидродинамический размер частиц измеряли с помощью Zetasizer ULTRA Red Label (Malvern Panalytical Ltd., Великобритания). Для измерения брали 1 мл раствора БСА (5 мг/мл) до лазерного воздействия, через 5 и 30 мин после лазерного воздействия. Из-

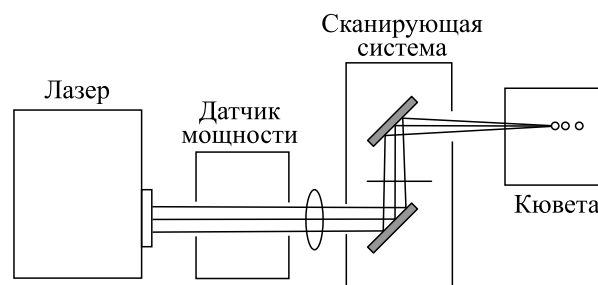


Рис. 1. Принципиальная оптическая схема установки для лазерного облучения растворов белков в условиях оптического пробоя.

мерение выполняли в пластиковых кюветах при комнатной температуре ($\sim 22^\circ\text{C}$). Для каждого варианта было выполнено пять независимых экспериментов. Интегральное распределение частиц в растворе по величине гидродинамического диаметра рассчитывали с помощью программного обеспечения ZS Xplorer по алгоритму, описанному в предыдущей работе [14].

Флуоресцентная спектроскопия. Спектры флуоресценции белковых растворов БСА были записаны с помощью спектрометра FP-8300 (JASCO Applied Sciences, Канада). Измерения выполняли при температуре $\sim 22^\circ\text{C}$ в кварцевой кювете с длиной пути 10 мм, содержащей 1.8 мл раствора БСА (5 мг/мл). Измерения выполняли до лазерного воздействия, через 5 и 30 мин воздействия. Для каждого варианта было выполнено три независимых эксперимента. При повторных измерениях максимальная интенсивность испускания изменялась не более чем на 2% [15].

Вискозиметрия. Измерения вязкости белковых растворов выполняли на вискозиметре SmartPave 102 (Anton Paar GmbH, Австрия) с измерительным набором DG26.7 и ячейкой C-PTD200. Для измерения использовали 3.8 мл образца. Все измерения выполняли при температуре в измерительной ячейке 25°C , в диапазоне скоростей смешения от 1000 до 100 с^{-1} . Для каждого варианта было выполнено три независимых эксперимента. Расчет вязкости выполняли с помощью программного обеспечения RheoCompass™ (Anton Paar GmbH, Австрия). Более детально процедуры, используемые при определении вязкости, описаны ранее [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании влияния времени воздействия лазерного излучения на оптическую плотность раствора БСА (рис. 2) было показано, что при воздействии лазерного излучения оптическое поглощение раствора БСА увеличивается. При этом оптическое поглощение в диапазоне

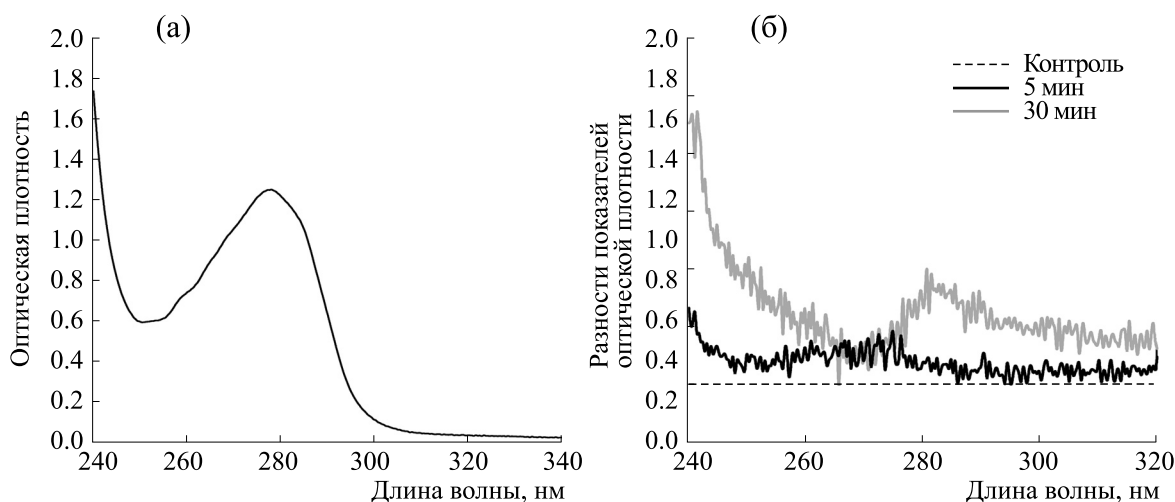


Рис. 2. Влияние времени лазерного облучения на оптическую плотность водного раствора БСА: (а) — спектр поглощения водного раствора БСА (0.5 мг/мл) в контроле; (б) — разности показателей поглощения в районе локального минимума 250 нм и максимума 280 нм. Данные получены с помощью дифференциальной двулучевой спектроскопии в субнанометровом разрешении. Результаты представлены в виде средних значений $\pm$ стандартное отклонение (для упрощения восприятия показаны значения SD для контроля и 30 мин экспозиции), $n = 6$.

длин волн 250–280 нм линейно растет в течение 30 мин воздействия. Поглощение раствора БСА увеличивается почти на 0.05 единицы оптической плотности как в локальном минимуме (~250 нм), так и в локальном максимуме (~280 нм). Нужно отметить, что подобные изменения происходят также в более длинноволновой области (>310 нм). Таким образом, наблюдается увеличение интенсивности поглощения и в спектральном диапазоне поглощения ароматических аминокислотных остатков, и в диапазоне >310 нм. Можно предполагать несколько вариантов объяснения полученных результатов: 1) наблюдается химическая модификация ароматических аминокислотных остатков, при которой возрастает оптическое поглощение; 2) поглощение изменяется за счет частичной денатурации белка; 3) оптическая плотность увеличивается из-за не специфического рассеяния, вызванного агрегацией белка.

При исследовании влияния времени воздействия лазерного излучения на флуоресценцию раствора БСА (рис. 3) показано, что максимум возбуждения флуоресценции наблюдается при 296 нм. Положение максимума возбуждения не изменяется после воздействия на раствор БСА лазерного излучения как в течение 5 мин, так и в течение 30 мин. Интенсивность флуоресценции за 5 мин воздействия лазерного излучения уменьшается на 2%, а при действии лазерного излучения в течение 30 минут — почти на 10%. Максимум пика эмиссии как для интактного белкового раствора, так и для раствора, подвергнутого воздействию лазерного излучения, находится в районе 337–338 нм. При этом форма пятна флуоресценции на 3D-картах существенно не изменя-

ется при воздействии лазерного излучения. Также на флуоресцентных 3D-картах наблюдается на порядок меньший по интенсивности пик ($I_{em}/I_{ex} = 335/254$ нм). При воздействии лазерного излучения в течение 30 мин наблюдается уменьшение интенсивности данного пика на 15%. Таким образом, показано, что при воздействии лазерного излучения на белковый раствор наблюдается незначительное уменьшение интенсивности флуоресценции ароматических аминокислотных остатков. Данное изменение может быть связано как с деградацией ароматических аминокислот, так и с изменением вторичной структуры молекулы.

Для исследования возможного изменения вторичной структуры молекулы белка при действии хирургического лазера использован метод микроскопии комбинационного рассеяния. Исследовано влияние времени воздействия лазерного излучения на спектр комбинационного рассеяния раствора БСА (рис. 4). Установлено, что после 30-минутного воздействия лазерного излучения в спектрах белка не наблюдалось существенных изменений. Из особенностей следует отметить уменьшение интенсивностей в пиках с максимумами 1570 и 1770 cm^{-1} . Вероятно, такое изменение интенсивности в сигнале комбинационного рассеяния может свидетельствовать только о незначительной перестройке внутри молекулы белка. Таким образом, установлено, что при действии излучения хирургического лазера произошли структурные изменения, однако нельзя однозначно утверждать, чем эти перестройки вызваны. Для выяснения этого вопроса был прецизи-

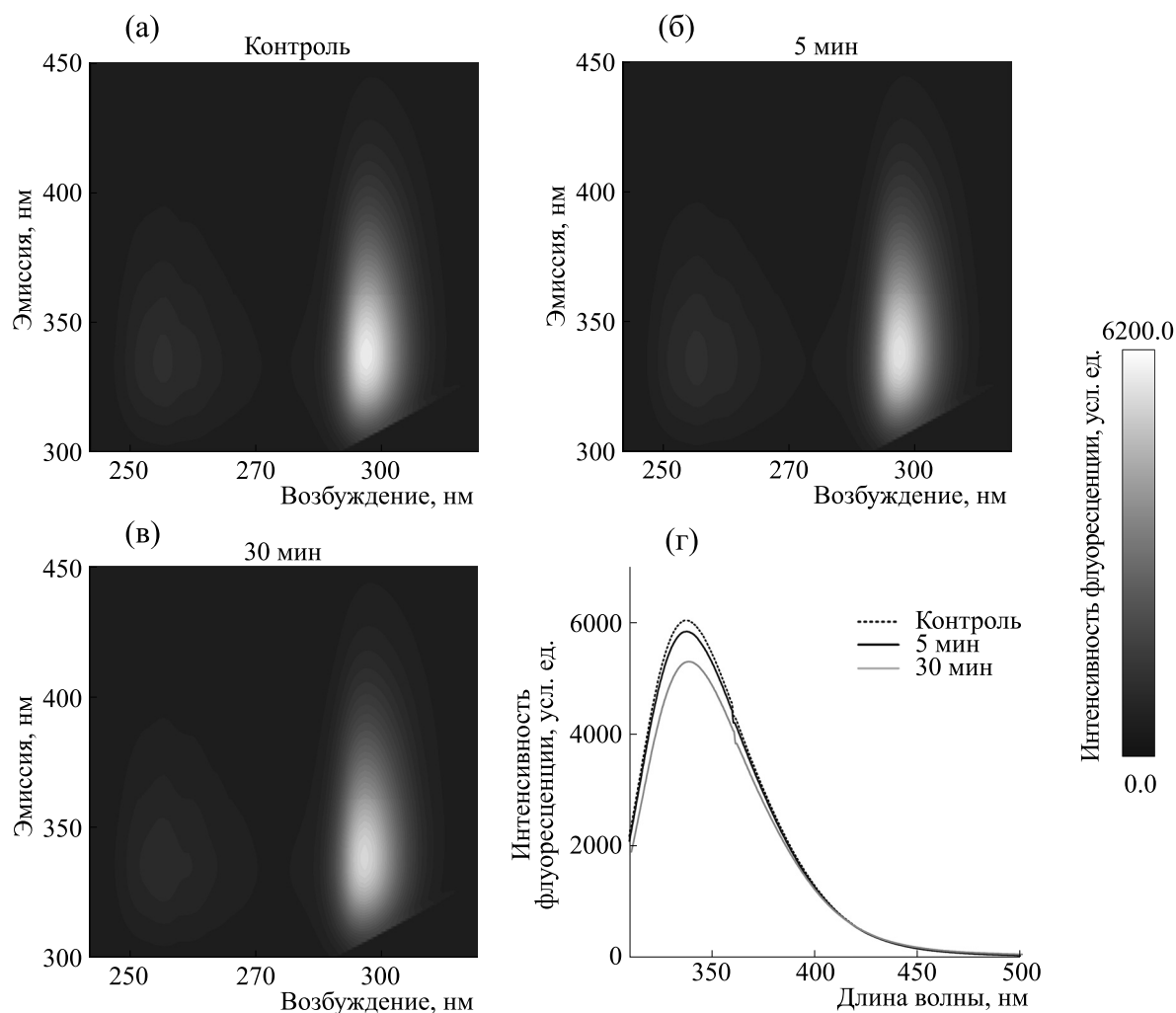


Рис. 3. Влияние времени лазерного облучения на флуоресценцию белкового раствора БСА с концентрацией 5 мг/мл. Представлены 3D-карты флуоресценции в контроле (а), после 5 мин (б) и 30 мин (в) лазерного облучения. По оси абсцисс — диапазон длин волн эмиссии в нм (I_{em}), по оси ординат — диапазон длин волн возбуждения в нм (I_{ex}). (г) — Спектры флуоресценции ($I_{ex} = 297$ нм) раствора БСА с концентрацией 5 мг/мл в контроле и после 5 и 30 мин лазерного облучения. Интенсивность флуоресценции выражена в относительных единицах с помощью шкалы градаций серого, которая одина для всех трех спектров.

онно измерен коэффициент преломления раствора бычьего сывороточного альбумина и проведены реологические исследования.

Исследовано влияние времени лазерного облучения на показатель рефракции раствора БСА при длинах волн 435.8, 589.3 и 632.8 нм (рис. 5). Показано, что показатель преломления раствора БСА существенным образом не меняется после воздействия лазерного излучения на всех исследованных длинах волн.

Белковые растворы являются неньютоновскими жидкостями, поэтому их вязкость необходимо исследовать при различных скоростях смешения. При исследовании влияния времени лазерного облучения на вязкость раствора БСА при различных скоростях смешения (рис. 6) было показано,

что для раствора БСА характерна псевдопластичность, которая характеризуется тем, что вязкость жидкости уменьшается при увеличении скоростей смешения или напряжений сдвига. Также показано, что воздействие лазерного излучения на растворы БСА приводит к увеличению вязкости. При этом при высоких скоростях смешения вязкость контрольного раствора и раствора, облученного в течение 30 мин, отличается менее чем на 10%. При низких скоростях смешивания вязкость контрольного раствора и раствора, облученного в течение 30 мин, почти не отличается, следовательно, лазерное облучение приводит к уменьшению псевдопластичности раствора БСА. Поскольку при высоких скоростях смешивания ($>400 \text{ с}^{-1}$) вязкость увеличивается, увеличивается

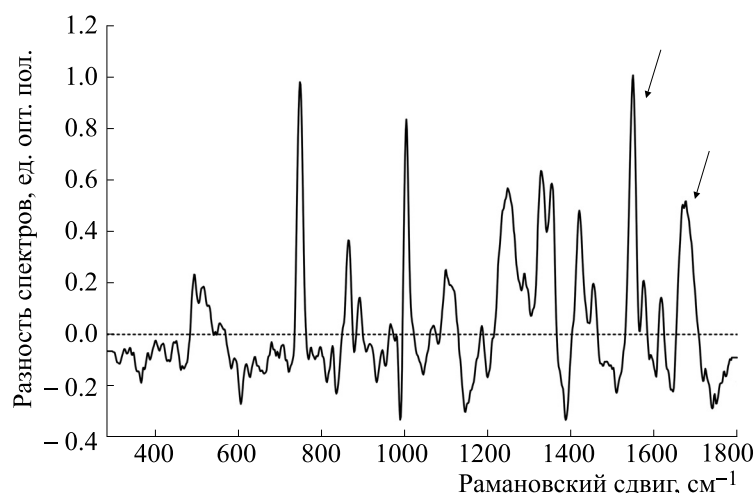


Рис. 4. Разность спектров комбинационного рассеяния раствора БСА (0.5 мг/мл) в контроле и после лазерного облучения в течение 30 мин. Данные получены с помощью рамановского микроскопа. Стрелками указано изменение интенсивности в пиках 1570 и 1770 см^{-1} .

и сопротивление перемещению одной их части жидкости относительно другой. Другими словами, молекулы белка более интенсивно взаимодействуют друг с другом, что обычно в белковых растворах приводит к их агрегации. Для проверки данного предположения была изучена динамика распределения по размерам светорассеивающих частиц в растворе БСА.

Результаты исследования влияние времени воздействия лазерного облучения на динамику

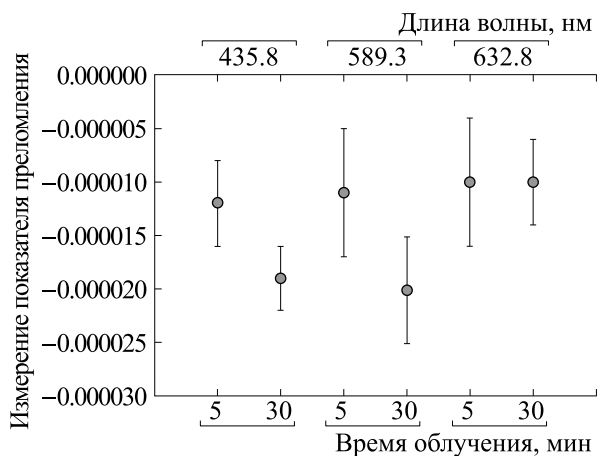


Рис. 5. Влияние времени лазерного облучения на показатель преломления водного раствора БСА при длинах волн 435.8, 589.3 и 632.8 нм. Время облучения лазером указано в подписи к оси абсцисс. По оси ординат — разность между значениями показателя преломления в соответствующем варианте эксперимента и контроле (до облучения лазером). Данные получены с помощью прецизионной рефрактометрии. Результаты представлены в виде средних значений $\pm$ стандартное отклонение, $n = 3$.

распределения по размерам БСА и его агрегатов в растворе представлены в табл. 1. Показано, что интактный препарат белка содержит индивидуальные молекулы БСА (средний гидродинамический диаметр около 3 нм), а также агрегаты со средним гидродинамическим диаметром 25 и 400 нм. На один агрегат размером 25 нм в растворе приходится около миллиона индивидуальных молекул БСА, на один агрегат с размером 200 нм — более миллиарда индивидуальных молекул БСА. При воздействии лазерного излучения не наблюдается увеличения среднего гидродинамического диаметра индивидуальных молекул БСА.

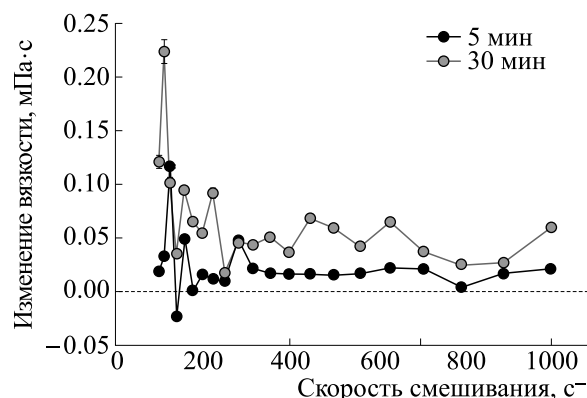


Рис. 6. Влияние времени лазерного облучения на вязкость водного раствора БСА при различных скоростях смешивания. Время облучения лазером указано в легенде рисунка. По оси ординат — разность между значениями вязкости в соответствующем варианте эксперимента и контроле (до облучения лазером). Результаты представлены в виде средних значений $\pm$ стандартное отклонение, $n = 3$.

Таблица 1. Влияние лазерного облучения на эволюцию распределения по размерам молекул БСА и его агрегатов в водном растворе

№ пика	Размер, нм	Интенсивность, %
Контроль		
1	2.3	8.81 ± 0.89
2	24.9	2.73 ± 0.67
3	108.0	2.45 ± 0.84
5 мин облучения		
1	2.9	6.90 ± 0.44
2	27.8	2.69 ± 0.40
3	229.8	3.41 ± 1.30
30 мин облучения		
1	2.9	6.494 ± 0.52
2	32.3	2.66 ± 0.41
3	461.3	5.26 ± 0.36

Примечание. Данные получены методом динамического светорассеяния. Результаты представлены в виде средних значений $\pm$ стандартное отклонение, $n = 5$.

При этом интенсивность светорассеяния на индивидуальных молекулах БСА при воздействии лазерного излучения в течение 30 мин уменьшается на 10–15%. Также за 30 мин воздействия лазером гидродинамический диаметр «малых» агрегатов увеличивается с 25 нм до 30 нм. Гидродинамический диаметр «больших» агрегатов за 30 мин воздействия увеличивается с 200 нм до 400 нм. При этом интенсивность светорассеяния на таких агрегатах увеличивается почти в два раза. На один агрегат с размером 400 нм приходится несколько триллионов индивидуальных молекул БСА. Само же количество «больших» агрегатов увеличилось более чем на один порядок величины.

ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что после воздействия лазерного излучения наблюдается увеличение интенсивности поглощения белковых растворов (рис. 2). При этом увеличение оптической плотности наблюдается как в диапазоне поглощения ароматических аминокислотных остатков, так и в более длинноволновой области (310 нм). Можно предполагать, что полученные данные могут свидетельствовать об изменениях в структуре белка [17]. Известно, что при оптическом пробое образуется большое количество как восстановительных, так и окислительных эквивалентов [18]. Наблюдается генерация ультрафиолетового излучения, ударных акустических волн, микрообъемов с существенным повышением температуры [19]. При таком наборе воздействий может наблюдаться 1) химическая модификация аминокислотных остатков; 2) фрагментация полипептидной цепи; 3) изменение третичной и вторичной структуры молекул

БСА; 4) частичная денатурация и 5) агрегация молекул. Нужно отметить, что похожий набор событий происходит с белками при действии окислительного стресса [20], который развивается в живых системах при действии на них различных физических и химических факторов [21], при развитии воспалений [22], гипоксии [23] и т.д.

Исследована флуоресценция белкового раствора БСА после воздействия лазерного излучения (рис. 3). Обычно максимум возбуждения приходится в диапазоне длин волн 275–290 нм [24], мы же зарегистрировали максимум в более длинноволновой области на 295 нм, что наблюдается при высоких концентрациях белка вследствие флуоресценции остатков ароматических аминокислот. Установлено, что при действии лазерного излучения интенсивность флуоресценции несколько уменьшается. При этом не наблюдается изменения максимума эмиссии. Химическая модификация флуорофора обычно влияет на форму пятна эмиссии на 3D-карте флуоресценции. Однако нами установлено, что форма пятна флуоресценции на 3D-картах существенно не изменяется. Таким образом, можно утверждать, что при действии оптического пробоя происходит незначительная деградация ароматических аминокислотных остатков. Для исследования возможного изменения вторичной структуры молекулы белка при оптическом пробое использован метод рамановской микроскопии (рис. 4). В спектрах БСА не наблюдалось существенных изменений, единственные изменения наблюдались в районе 1570 см^{-1} и 1770 см^{-1} . Данные изменения связаны с деградацией α -спиралей [25]. Изменения в структуре α -спиралей обычно ведут к частичной денатурации или агрегации молекул. При частичной денатурации происходит суще-

ственное увеличение количества молекул воды в гидратной оболочке белка, при этом наблюдается изменение в коэффициенте преломления [26]. Мы с высокой точностью измерили коэффициент преломления на разных длинах волн (рис. 5) и не зафиксировали существенных отличий. Агрегация молекул белка, в том числе и «мягкая», всегда приводит к изменению реологических свойств [27]. Установлено, что воздействие лазерного излучения с одной стороны приводит к увеличению вязкости растворов БСА, а с другой — уменьшает псевдопластичность коллоидного раствора (рис. 6). Такие изменения в растворе могут свидетельствовать о более интенсивном взаимодействии молекул белка друг с другом (агрегация) и об отсутствии фрагментации полипептидной цепи. Исследование эволюции по размеру светорассеивающих частиц в растворе БСА подтверждает развитие агрегации (табл. 1). Интересно, что после воздействия лазерного излучения не наблюдается сдвига пика индивидуальных молекул в область меньших размеров. Очевидно, что это свидетельствует об отсутствии массового повреждения полипептидной цепи и присутствии в растворе частей белковой молекулы. Фракция индивидуальных молекул после воздействия лазерного излучения уменьшает интенсивность светорассеяния, но не изменяет положение. При этом фракции агрегатов после воздействия лазерного излучения увеличиваются в размерах и имеют большую интенсивность светорассеяния, то есть в растворах БСА активно происходит агрегация [28]. Таким образом, при действии хирургического лазера в растворе БСА превалируют процессы частичной денатурации и агрегации, в меньшей степени повреждаются ароматические аминокислотные остатки, при этом не наблюдается фрагментации молекул белка.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (грант № 075-15-2022-315 на организацию и развитие научного центра мирового уровня «Фотоника»).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. И. Козлов. Лазерная медицина, **1** (1), 6 (1997).
2. К. М. Гираев, Н. А. Ашурбеков, М. А. Магомедов и др., Биофизика, **62** (4), 784 (2017).
3. Д. Г. Кочиев и И. А. Щербаков, Природа, № 3, 3 (2014).
4. Д. Г. Кочиев, С. А. Нарышкин, О. В. Теодорович и др., Оптика и спектроскопия, **119** (3), 424 (2015).
5. Т. Г. Кравченко, А. В. Лаппа и В. П. Турбабин, Лазерные технологии в медицине, **2**, 249-255 (1999).
6. Д. В. Еникеев, Е. А. Лаухтина, М. Р. Аршиев и др., Вестн. РАМН, **75** (2), 162 (2020).
7. Y. H. Rhee, H. Y. Ryu, J. C. Ahn, et al., J. Cosmetic Laser Therapy, 1-8 (2022).
8. A. M. Luke, S. Mathew, M. M. Altawash, et al., J. Lasers Med. Sci., **10** (4), 324 (2019).
9. S. V. Gudkov, I. V. Baimler, O. V. Uvarov, et al., Front. Physics, **8**, (2020).
10. E. Migal, E. Mareev, E. Smetanina, et al., Nonlinear Optics and Applications XI. — SPIE, **11026**, 126 (2019).
11. I. V. Baimler, V. K. Chevokin, V. A. Podvyaznikov, et al., Front. Physics, **9**, (2021).
12. M. Zhilnikova, E. Barmina, I. Pavlov, et al., J. Phys. Chem. Solids, **160**, 110356 (2022).
13. V. S. Novikov, V. V. Kuzmin, S. M. Kuznetsov, et al., Spectrochim. Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, **255**, 119668 (2021).
14. N. V. Penkov, Physics of Wave Phenomena, **28** (2), 135 (2020).
15. M. N. Moskovskiy, A. V. Sibirev, A. A. Gulyaev, et al., Photonics, **8** (12), (2021).
16. V. I. Mashchenko, N. N. Sitnikov, I. A. Khabibullina, et al., Polymer Sci., Ser. A, **63** (2), 91 (2021).
17. R. M. Sarimov, V. N. Binhi, T. A. Matveeva, et al., Int. J. Mol. Sci. **22** (5), (2021).
18. E. V. Barmina, A. V. Simakin, and G. A. Shafeev, Chem. Phys. Lett., **678**, 192 (2017).
19. I. V. Baimler, A. B. Lisitsyn, D. A. Serov, et al., Front. Physics, 604 (2020).
20. С. В. Пинчук, И. Б. Василевич, А. Ю. Молчанова и др., Биофизика, **67** (4), 776 (2022).
21. V. I. Bruskov, A. V. Chernikov, V. E. Ivanov, et al., Physics of Wave Phenomena, **28** (2), 103 (2020).
22. N. V. Andrianova, D. B. Zorov, and E. Y. Plotnikov, Biokhimiya, **85** (12), 1591 (2020).
23. M. Savyuk, M. Krivonosov, T. Mishchenko, et al., Antioxidants (Basel, Switzerland), **9** (8), (2020).
24. F. W. Teale and G. Weber, Biochem. J., **65** (3), 476 (1957).
25. E. S. Allakhverdiev, V. V. Khabatova, B. D. Kossalbayev, et al., Cells, **11** (3), (2022).
26. R. M. Sarimov, T. A. Matveyeva, and V. N. Binhi, J. Biol. Phys., **44** (3), 345-360 (2018).
27. M. Klost, C. Brzeski, and S. Drusch, Food Hydrocolloids, **108**, 106036 (2020).
28. N. F. Bunkin, A. V. Shkirin, B. W. Ninham, et al., ACS Omega, **5** (24), 14689 (2020).

Influence of Laser Radiation of a Surgical Laser on the Structure of Bovine Serum Albumin Molecules *in vitro*

D.A. Serov*, E.I. Nagaev*, A.I. Kuleshova*, V.E. Reut, and M.E. Astashev***

**Prokhorov General Physics Institute, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 38, Moscow, 119991 Russia*

***Belarusian State University, prosp. Nezavisimosti 4, Minsk, 220030 Belarus*

The influence of laser radiation of a surgical laser on the physicochemical properties of bovine serum albumin molecules was studied. After exposure to laser radiation, the optical density of protein solutions increases, the fluorescence intensity decreases, a significant decrease of the intensity of the α -helix band on the Raman spectrum is observed and the refractive index of protein solution did not significantly change. However, the viscosity increased, and the pseudoplasticity of aqueous solutions of albumin decreased. There was no massive damage to the protein polypeptide chain, on the contrary, intensive aggregation was observed. Thus, in a bovine serum albumin solution subjected to contact action of laser radiation, the processes of partial denaturation and aggregation prevail, aromatic amino acid residues of the protein are damaged to a lesser extent, and fragmentation of albumin molecules is not observed.

Keywords: laser radiation, optical breakdown, spatial structure of a protein