

УДК [57.085.2:535.37]:[615.849.1:577.112.824]

<https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-1-10>



## Методы собственной и зондовой флуоресценции в оценке *in vitro* влияния терапевтических доз облучения на молекулу альбумина

Н. Д. Пузан<sup>1</sup>, И. А. Чешик<sup>1</sup>, В. Н. Беляковский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Гомель, Беларусь

<sup>2</sup>Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

### Резюме

**Цель исследования.** Методами собственной и зондовой флуоресценции изучить *in vitro* влияние терапевтических доз облучения на молекулу альбумина.

**Материалы и методы.** С целью изучения радиационно-индуцируемых изменений сывороточного альбумина при облучении *in vitro* терапевтическими дозами (2 Гр, 40 Гр и 70 Гр) исследование проводилось в двух направлениях: терапевтическими дозами ионизирующего излучения облучался буфер, используемый потом для приготовления раствора альбумина (предварительное облучение буфера); терапевтическими дозами ионизирующего излучения облучался буферный раствор альбумина. О наличии структурно-функциональных (конформационных) изменений в молекуле альбумина судили по изменению значений собственной ( $\lambda_{\text{возб}} = 280$  нм) и зондовой ( $\lambda_{\text{возб}} = 280$  нм,  $\lambda_{\text{возб}} = 320$  нм) флуоресценции. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы GraphPad Prism, 6.0.

**Результаты.** Облучение терапевтическими дозами 2 Гр, 40 Гр и 70 Гр вызывает конформационные изменения (статистически значимое снижение интенсивности флуоресценции) в молекуле альбумина как при предварительном облучении буферного раствора, используемого потом для приготовления альбумина, так и при облучении буферного раствора альбумина.

**Заключение.** Количественные изменения интенсивности флуоресценции как собственной, так и зондовой отличаются при разных режимах облучения альбумина.

**Ключевые слова:** альбумин, терапевтические дозы облучения, собственная и зондовая флуоресценция

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочитали и одобрили финальную версию для публикации.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Источники финансирования.** Работа выполнена в рамках ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», тема «Разработать критерии оценки радиационно-индуцированных изменений ткани внутренней среды, основанной на анализе структуры и механических свойств клеточного компонента на моделях *in vitro* и *in vivo*», рег. № 20210231.

**Для цитирования:** Пузан НД, Чешик ИА, Беляковский ВН. Методы собственной и зондовой флуоресценции в оценке *in vitro* влияния терапевтических доз облучения на молекулу альбумина. Проблемы здоровья и экологии. 2024;21(1):81–88. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-1-10>



## Methods of intrinsic and probe fluorescence in assessment of the effect of therapeutic radiation doses *in vitro* on the albumin molecule

Natallia D. Puzan<sup>1</sup>, Igor A. Cheshik<sup>1</sup>, Vasili N. Belyakovsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus

<sup>2</sup>Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

### Abstract

**Objective.** To study *in vitro* the effect of therapeutic doses of radiation on the albumin molecule using intrinsic and probe fluorescence methods.

**Materials and methods.** In order to study radiation-induced changes in serum albumin during *in vitro* irradiation with therapeutic doses (2 Gy, 40 Gy and 70 Gy), the study was conducted in 2 directions: therapeutic doses of ionizing radiation irradiated a buffer, which was then used to prepare an albumin solution (pre-irradiation of the buffer); therapeutic

doses of ionizing radiation irradiated an albumin buffer solution. The presence of structural and functional (conformational) changes in the albumin molecule was judged by changes in the values of intrinsic ( $\lambda_{exc}=280$  nm) and probe ( $\lambda_{exc}=280$  nm,  $\lambda_{exc}=320$  nm) fluorescence. Statistical processing of the obtained data was carried out using the program GraphPad Prism 6.0.

**Results.** Irradiation with therapeutic doses of 2 Gy, 40 Gy and 70 Gy causes conformational changes (a statistically significant decrease in fluorescence intensity) in the albumin molecule, both during preliminary irradiation of the buffer solution used later for the preparation of albumin, and during irradiation of the buffer solution of albumin.

**Conclusions.** Quantitative changes in the fluorescence intensity, both intrinsic and probe, differ under different modes of albumin irradiation.

**Keywords:** *albumin, therapeutic doses of radiation, intrinsic and probe fluorescence*

**Author contributions.** All the authors made a significant contribution to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The work was carried out within the framework of the SPSR “Natural Resources and the Environment” topic “To develop criteria for assessing radiation-induced changes in the tissue of the internal environment based on the analysis of the structure and mechanical properties of the cellular component on in vitro and in vivo models”, reg.№ 20210231.

**For citation:** *Puzan ND, Cheshik IA, Belyakovskiy VN. Methods of intrinsic and probe fluorescence in assessment of the effect of therapeutic radiation doses in vitro on the albumin molecule. Health and Ecology Issues. 2024;21(1):81–88. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-1-10>*

## Введение

Основная область применения люминесценции в медицине — это диагностика патологических процессов в организме [1], в том числе злокачественных новообразований [2] и состояния мембран эритроцитов у онкопациентов [3]. Также отмечается [4], что флуоресценция уже давно используется для характеристики конформационных изменений, лежащих в основе функции белка: внутренняя флуоресценция триптофана чувствительна к окружающей среде, что делает его бесценным и популярным инструментом для изучения движения белков *in vitro*. Kirilova E. M. с коллегами (2011) сообщили [5], что флуоресцентная спектроскопия стала ценным инструментом визуализации белков благодаря своей большой чувствительности, а флуоресцентные красители все чаще используются в клинических и медицинских целях.

Наиболее подробно исследовано взаимодействие с альбумином отрицательно заряженного зонда 1-анилино-8-нафталинсульфонат (АНС). В гидрофобной области домена II альбумина (вблизи остатка триптофана-214) имеется около 5 центров связывания данного зонда, из которых 2-3 имеют более высокую константу связывания [5]. Попадая в эти центры, молекула АНС оказывается в жестком окружении, а ее аминогруппа полностью скрыта от молекулы воды. Примерно 90 % флуоресценции АНС происходит именно из этих центров. Остальные 2–3 центра связывают АНС слабее, и в них зонд частично доступен воде. При переходе от pH 7 к pH 4 (N-F переход) константа связывания АНС «сильными» центрами снижается, однако число таких

центров возрастает, за счет чего интенсивность флуоресценции АНС тоже возрастает [6].

По мнению Ota C., Takano K. (2019), данный зонд обладает уникальным свойством, заключающимся в том, что флуоресценция АНС слаба в воде, в то время как интенсивность флуоресценции резко возрастает в гидрофобных средах. Поэтому АНС широко использовался в качестве зонда микроокружения, а в настоящее время его применение расширено до детального конформационного анализа, такого как зондирование гидрофобных участков нативных белков и характеристики частично свернутых промежуточных белков [7].

## Цель исследования

Методами собственной и зондовой флуоресценции изучить *in vitro* влияние терапевтических доз облучения на молекулу альбумина.

## Материалы и методы

С целью изучения радиационно-индуцируемых изменений сывороточного альбумина при облучении *in vitro* терапевтическими дозами исследование проводилось в двух направлениях:

1. Терапевтическими дозами ионизирующего излучения (ИИ) облучался буфер, используемый потом для приготовления раствора альбумина.
2. Терапевтическими дозами ИИ облучался буферный раствор альбумина.

**Первый этап.** На аппарате для проведения лечения microSelectron Digital HDR с источником OncoSelect Ir-192 тип MICROSELECTRON-V2 (изготовитель — Nucletron B. V., Нидерланды)

У «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» терапевтическими дозами (2 Гр, 40 Гр и 70 Гр) облучался фосфатный буфер (рН = 7,4), который в последующем использовался для приготовления буферного раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА) в концентрации 0,6 мг/мл. Таким образом, были проанализированы 4 раствора:

— 1-й раствор (интактный) — буферный раствор БСА;

— 2-й раствор — облученный (2 Гр) растворитель (фосфатный буфер), используемый потом для приготовления буферного раствора БСА;

— 3-й раствор — облученный (40 Гр) растворитель (фосфатный буфер), используемый потом для приготовления буферного раствора БСА;

— 4-й раствор — облученный (70 Гр) растворитель (фосфатный буфер), используемый потом для приготовления буферного раствора БСА.

После облучения образцы доставлялись в Институт радиобиологии НАН Беларуси для анализа, который проводился через 60 минут после облучения, потом через 90, 120, 150, 180, 210 и 240 минут.

О наличии структурно-функциональных (конформационных) изменений в молекуле альбумина судили по изменению значений собственной и зондовой (АНС; 0,4 мг/мл) флуоресценции.

Регистрация спектров интенсивности собственной и зондовой флуоресценции проводилась на спектрофлуориметре CM 2203 Solar (РБ) при стабильной температуре (+23 °С) в кюветном отделении прибора. Условия регистрации собственной флуоресценции: длина возбуждения — 280 нм, диапазон регистрации — 300–650 нм, спектральная ширина щели возбуждения и флуоресценции — 3 нм. Условия регистрации зондовой флуоресценции: длина возбуждения — 280 и 320 нм, диапазон регистрации — 300–650 нм, спектральная ширина щели возбуждения и флуоресценции — 3 нм.

**Второй этап.** На аппарате для проведения лечения microSelectron Digital HDR с источником OncoSelect Ir-192 тип MICROSELECTRON-V2 (изготовитель — Nucletron B. V., Нидерланды) У «Гомельский областной клинический онкологиче-

ский диспансер» терапевтическими дозами (2 Гр, 40 Гр и 70 Гр) облучался фосфатный буферный раствор БСА (рН = 7,4; 0,6 мг/мл). Таким образом, были проанализированы 4 раствора:

— 1-й раствор (интактный) — буферный раствор БСА;

— 2-й раствор — облученный (2 Гр) фосфатный буферный раствор БСА;

— 3-й раствор — облученный (40 Гр) фосфатный буферный раствор БСА;

— 4-й раствор — облученный (70 Гр) фосфатный буферный раствор БСА.

После облучения образцы доставлялись в Институт радиобиологии НАН Беларуси для анализа, который проводился через 60 минут после облучения, потом через 90, 120, 150, 180, 210 и 240 минут.

О наличии структурно-функциональных (конформационных) изменений в молекуле альбумина судили по изменению значений собственной и зондовой (АНС; 0,4 мг/мл) флуоресценции. Регистрация спектров интенсивности собственной и зондовой флуоресценции проводилась как и на первом этапе.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы GraphPad Prism, 6.0. Вначале проводилась проверка гипотезы о соответствии распределения количественных показателей закону нормального распределения с использованием W-теста Шапиро – Уилка ( $n < 50$ ). Результаты проверки показали, что для всех анализируемых растворов характерно нормальное распределение, поэтому статистическая значимость оценивалась с помощью параметрического  $t$ -критерия Стьюдента. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ( $M \pm Sd$ ). Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки менее 5 % ( $p < 0,05$ ).

## Результаты и обсуждение

**Первый этап.** Полученные данные по предварительному облучению терапевтическими дозами ИИ буфера, используемого потом для приготовления раствора альбумина, представлены в таблицах 1–3.

Таблица 1. Значения собственной флуоресценции (предварительное облучение буфера)  
Table 1. Values of intrinsic fluorescence (pre-irradiation of buffer)

Время после облучения	1-й раствор (интактный)	2-й раствор (2 Гр)	3-й раствор (40 Гр)	4-й раствор (70 Гр)
	$M \pm Sd$	$M \pm Sd$	$M \pm Sd$	$M \pm Sd$
60 мин	238,18±2,99	245,68±4,94	231,49±2,54	232,49±1,17

Окончание таблицы 1

End of Table 1.

Время после облучения	1-й раствор (интактный)	2-й раствор (2 Гр)	3-й раствор (40 Гр)	4-й раствор (70 Гр)
	M±Sd	M±Sd	M±Sd	M±Sd
90 мин	232,01±1,19	239,50±1,27	221,13±0,17* +	227,57±0,68
120 мин	225,14±0,76	233,46±1,24	216,07±0,36*	223,13±0,29
150 мин	224,54±0,26	229,98±0,46*	212,90±0,58	221,43±0,47
180 мин	222,35±1,01	226,12±0,62*	209,35±0,94	219,99±0,43
210 мин	220,78±1,57	224,99±1,52	208,44±0,85	218,21±0,17* +
240 мин	218,44±0,91	223,08±0,68*	207,32±0,18*	216,80±0,27

\*При сравнении с 1-м раствором (интактный); + при сравнении с 60 мин.

Таблица 2. Значения зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 280 \text{ нм}$ ) (предварительное облучение буфера)Table 2. Values of probe fluorescence ( $\lambda_{\text{exc}} = 280 \text{ нм}$ ) (pre-irradiation of buffer)

Время после облучения	1-й раствор (интактный)	2-й раствор (2 Гр)	3-й раствор (40 Гр)	4-й раствор (70 Гр)
	M±Sd	M±Sd	M±Sd	M±Sd
60 мин	90,66±1,63	87,39±0,87	87,28±1,52	86,45±0,56
90 мин	91,48±0,14	85,82±0,24	86,42±0,20 +	83,66±0,16
120 мин	93,17±0,18	85,21±0,17	85,56±0,07 +	82,60±0,09
150 мин	91,97±0,16	81,36±3,60*	84,34±0,26	82,14±0,29
180 мин	92,04±0,06	77,61±0,25	83,71±0,21*	80,84±0,13
210 мин	91,84±0,06	77,14±0,03*	82,85±0,28	81,30±0,07*
240 мин	91,18±0,06	76,51±0,02	82,79±0,02*	80,36±0,26

\* При сравнении с 1-м раствором (интактный); + при сравнении с 60 мин.

Таблица 3. Значения зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 320 \text{ нм}$ ) (предварительное облучение буфера)Table 3. Values of probe fluorescence ( $\lambda_{\text{exc}} = 320 \text{ нм}$ ) (pre-irradiation of buffer)

Время после облучения	1-й раствор (интактный)	2-й раствор (2 Гр)	3-й раствор (40 Гр)	4-й раствор (70 Гр)
	M±Sd	M±Sd	M±Sd	M±Sd
60 мин	40,97±0,11	45,30±0,08	41,16±0,24	42,11±0,11
90 мин	42,92±0,02	44,72±0,02	42,76±0,09	42,11±0,09
120 мин	43,10±0,09	43,52±0,06	42,10±0,01* +	40,81±0,09
150 мин	42,84±0,08	39,87±0,05	41,42±0,07	40,53±0,03
180 мин	42,73±0,04	39,59±0,08	41,31±0,01*	39,98±0,06
210 мин	42,48±0,03	39,36±0,12	41,07±0,13	40,31±0,02
240 мин	42,35±0,12	39,37±0,04	40,79±0,03*	40,06±0,12

\*При сравнении с 1-м раствором (интактный); + при сравнении с 60 мин.

Исходя из полученных данных, предварительное облучение буфера терапевтическими дозами ИИ, используемого потом для приготовления раствора альбумина, вызывает конформационные изменения альбумина:

— при облучении 2 Гр методом зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 280$  нм) установлено статистически значимое уменьшение интенсивности флуоресценции на 11,6 % (через 150 минут после облучения);

— при облучении 40 Гр методом собственной флуоресценции установлено статистически значимое уменьшение интенсивности флуоресценции на 4,7 % (через 90 минут после облучения), методом зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 320$  нм) — статистически значимое уменьшение интенсивности флуоресценции на 2,4 % (через 120 минут после облучения);

— при облучении 70 Гр методом собственной флуоресценции установлено статистически значимое уменьшение интенсивности флуоресценции на 1,2 % (через 210 минут после облучения).

Со временем наблюдается статистически значимое снижение интенсивности флуоресцен-

ции альбумина при облучении дозами 2 Гр, 40 Гр и 70 Гр.

Известно, что при воздействии высоких доз ИИ в клетках и в растворах различных белков образуются долгоживущие радикалы белков, время полужизни которых превышает 20 ч. Так, например, время полужизни радикалов белков (овальбумина, бычьего сывороточного альбумина, казеина) при дозах облучения 1–10 Гр составляет около 3–5 ч [8]. А при облучении в дозе 50 Гр было обнаружено существование долгоживущих радикалов со временем полужизни около 3,5 ч [9]. Также были получены данные о том, что эти радикалы могут длительное время осуществлять генерацию активных форм кислорода в водном окружении *in vitro*. Именно этот процесс может быть причиной достаточно длительного протекания окислительного стресса после воздействия ИИ [8].

**Второй этап.** Полученные данные по облучению буферного раствора альбумина терапевтическими дозами ИИ представлены в таблицах 4–6.

Таблица 4. Значения собственной флуоресценции (облучение буферного раствора альбумина)  
Table 4. Values of intrinsic fluorescence (irradiation of an albumin buffer solution)

Время после облучения	1-й раствор (интактный)	2-й раствор (2 Гр)	3-й раствор (40 Гр)	4-й раствор (70 Гр)
	M±Sd	M±Sd	M±Sd	M±Sd
60 мин	238,18±2,99	227,65±3,92	236,13±2,63	227,91±2,48
90 мин	232,01±1,19	220,79±1,57	223,22±0,82	214,16±1,23
120 мин	225,14±0,76	217,29±1,15	217,73±1,65	207,09±2,79
150 мин	224,54±0,26	214,61±1,22	213,97±1,09	199,70±7,09*
180 мин	222,35±1,01	212,38±0,95	213,13±0,71	201,36±0,98
210 мин	220,78±1,57	209,91±0,26*	211,66±0,55	197,75±4,59
240 мин	218,44±0,91	210,89±0,49	210,47±2,24	199,98±0,63

\*При сравнении с 1-м раствором (интактный); \* при сравнении с 60 мин.

Таким образом, облучение буферного раствора альбумина терапевтическими дозами ИИ вызывает конформационные изменения белка:

— при облучении 2 Гр методом зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 280$  нм) установлено статистически значимое уменьшение интенсивности флуоресценции на 5,6 % (через 120 минут после облучения), на 3,0 % (через 180 минут после облучения) и на 2,9 % (через 210 минут после облучения);

— при облучении 40 Гр методом зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 280$  нм) установлено статистически значимое уменьшение интенсивности флуоресценции на 12,3 % (через 180 минут после облучения) и на 12,5 % (через 210 минут после облучения);

— при облучении 70 Гр методом собственной флуоресценции установлено статистически значимое уменьшение интенсивности флуоресценции на 11,1 % (через 150 минут после облучения).

Таблица 5. Значения зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 280 \text{ нм}$ ) (облучение буферного раствора альбумина)Table 5. Values of probe fluorescence ( $\lambda_{\text{exc}} = 280 \text{ nm}$ ) (irradiation of an albumin buffer solution)

Время после облучения	1-й раствор (интактный)	2-й раствор (2 Гр)	3-й раствор (40 Гр)	4-й раствор (70 Гр)
	M±Sd	M±Sd	M±Sd	M±Sd
60 мин	90,66±1,63	93,18±2,73	84,17±2,25	77,00±1,33
90 мин	91,48±0,14	88,83±0,34*	83,96±0,33*	76,56±0,74
120 мин	93,17±0,18	88,01±1,35*	82,67±0,03*	75,26±0,17*
150 мин	91,97±0,16	89,48±0,18*	81,44±0,14*	74,24±0,36
180 мин	92,04±0,06	89,32±1,00*	80,73±0,45*	73,40±0,34
210 мин	91,84±0,06	89,21±0,67*	80,38±0,59*	73,13±0,14*
240 мин	91,18±0,06	88,57±0,04*	79,93±0,07*	72,54±0,14*

\*При сравнении с 1-м раствором (интактный); \* при сравнении с 60 мин.

Таблица 6. Значения зондовой флуоресценции ( $\lambda_{\text{возб}} = 320 \text{ нм}$ ) (облучение буферного раствора альбумина)Table 6. Values of probe fluorescence ( $\lambda_{\text{exc}} = 320 \text{ nm}$ ) (irradiation of an albumin buffer solution)

Время после облучения	1-й раствор (интактный)	2-й раствор (2 Гр)	3-й раствор (40 Гр)	4-й раствор (70 Гр)
	M±Sd	M±Sd	M±Sd	M±Sd
60 мин	40,97±0,11	43,74±0,09	42,60±0,30	40,13±0,45
90 мин	42,92±0,02	44,27±0,05	41,04±0,06	39,54±0,08
120 мин	43,10±0,09	43,88±0,22	40,24±0,10	39,04±0,07
150 мин	42,84±0,08	44,65±0,10	39,90±0,07	38,68±0,07*
180 мин	42,73±0,04	44,63±0,03	39,83±0,03*	38,43±0,04*
210 мин	42,48±0,03	44,33±0,03	39,32±0,13	38,41±0,08
240 мин	42,35±0,12	43,92±0,17	39,50±0,07	38,08±0,14

\*При сравнении с 1-м раствором (интактный); \* при сравнении с 60 мин.

Со временем наблюдается статистически значимое снижение интенсивности флуоресценции альбумина при облучении дозами 2 Гр, 40 Гр и 70 Гр.

Следовательно, облучение терапевтическими дозами 2 Гр, 40 Гр и 70 Гр вызывает конформационные изменения в молекуле альбумина как при предварительном облучении буферного раствора, используемого потом для приготовления альбумина, так и при облучении буферного раствора альбумина. Однако количественные изменения интенсивности флуоресценции как собственной, так и зондовой отличаются при разных режимах облучения альбумина.

Рубцова Е. В. (2015) в своей работе отмечает, что внутри глобулы белка существуют области, в которых вода находится в связанном состоянии. Связанная вода на поверхности белка и внутри глобулы отличается по своим свойствам от объемной воды. Так, средняя плотность водной оболочки белка на 10 % больше, чем в объемной воде [10].

Что касается объемной воды, а именно растворителя, то Е. Б. Бурлакова с коллегами (2003) отмечали первостепенное значение растворителя (воды) в реализации действия малых доз ИИ [11].

Возможно, растворитель биообъектов также играет ключевую роль в понимании механизмов действия терапевтических доз ИИ.

## Заключение

Облучение терапевтическими дозами 2 Гр, 40 Гр и 70 Гр вызывает конформационные изменения (статистически значимое снижение интенсивности флуоресценции) в молекуле альбумина как при предварительном облучении буферного раствора, используемого потом для приготовления

албумина, так и при облучении буферного раствора альбумина.

Количественные изменения интенсивности флуоресценции как собственной, так и зондовой отличаются при разных режимах облучения альбумина.

## Список литературы / References

1. Королик Е.В., Короленко Е.А., Жбанков Р.Г., Иванов А.А., Лещенко В.Г., Ильич Г.К. и др. Метод флуоресцентного зондирования в оценке транспортной функции альбумина. *Здравоохранение*. 1999;(1):11-13.  
Korolyuk EV, Korolenko EA, Zhbankov RG, Ivanov AA, Leshchenko V., Ilyich GK, et al. The method of fluorescent sensing in the assessment of albumin transport function. *Health-care*. 1999;1:11-13. (In Russ.).
2. Пушкарев С.В., Наумов С.А., Вовк С.М., Смольянинов Е.С., Удут В.В. Спектроскопическая диагностика злокачественных новообразований (обзор). *Автометрия*. 2000;(1):84-93.  
Pushkarev SV, Naumov SA, Vovk SM, Smolyaninov ES, Udut VV. Spectroscopic diagnosis of malignant neoplasms (review). *Autometry*. 2000;(1):84-93. (In Russ.).
3. Новицкий В.В., Степовая Е.А., Батухтин А.В., Гольдберг В.Е., Колосова М.В. Характеристика состояния мембран эритроцитов больных со злокачественными новообразованиями по данным флуоресцентного зондирования. *Бюллетень экпер. биол. и медицины*. 1999;128(8):226-229.  
Novitsky VV, Stepovaya EA, Batukhtin AV, Goldberg VE, Kolosova MV. Characteristics of the state of erythrocyte membranes in patients with malignant neoplasms according to fluorescence sensing data. *The expert bulletin. biol. and medicine*. 1999;128(8):226-229. (In Russ.).
4. Cohen BE, Pralle A, Yao X, Swaminath G, Gandhi ChS, Jan YuN, et al. A fluorescent probe designed for studying protein conformational change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2005;102(4):965-970.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0409469102>
5. Kirilova EM, Kalnina I, Zvagule T, Gabruseva N, Kurjane N, Solomenikova II. Fluorescent study of human blood plasma albumin alterations induced by ionizing radiation. *Journal of Fluorescence*. 2011;21(3):923-927.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10895-010-0608-2>
6. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Москва; 1994.  
Gryzunov YuA., Dobretsov GE. Blood serum albumin in clinical medicine. Moscow; 1994. (In Russ.).
7. Ota S, Takano K. Spectroscopic analysis of protein crowded environments using the charge-transfer fluorescence probe ANS. *ChemPhysChem*. 2019;20(11):1456-1466.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/cphc.201900226>
8. Пузан Н.Д., Суслова А.А. Влияние терапевтических доз ионизирующего излучения на конформационное состояние сывороточного альбумина. В: Радиобиология: вызовы XXI века: материалы межд. науч. конф., посвященной 30-летию Института радиобиологии; 2017, 27-30 сентября; Гомель. Гомель: Институт радиобиологии НАН Беларуси; 2017. С. 152-154. [дата обращения 2023 июль 13]. Режим доступа: [https://drive.google.com/file/d/0B6K-Pvik5WACaG5SeEtFUF91X0U/view?resourcekey=0-0RVvZZNMikKUU\\_RJdID5A](https://drive.google.com/file/d/0B6K-Pvik5WACaG5SeEtFUF91X0U/view?resourcekey=0-0RVvZZNMikKUU_RJdID5A)
9. Гудков С.В., Гармаш С.А., Карп О.Э., Смирнова В.С., Черников А.В., Брусков В.И. Долгоживущие радикалы аминокислот, индуцируемые рентгеновским излучением, являются источником образования перекиси водорода в водной среде. *Биофизика*. 2010;55(4):588-593.  
Gudkov SV, Garmash SA, Karp OE, Smirnova VS, Chernikov AV, Bruskov VI. Long-lived amino acid radicals induced by X-ray radiation are a source of hydrogen peroxide formation in an aqueous medium. *Biophysics*. 2010;55(4):588-593. (In Russ.).
10. Рубцова Е.В. Исследование топологии гидратных оболочек белков. [Электронный ресурс]. Сайт Российской государственной библиотеки. [дата обращения 2024 январь 12]. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01005564868?page=1&rotate=0&theme=white>
11. Бурлакова Е.Б., Кондратов А.А., Мальцева Е.Л. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов. *Химическая физика*. 2003;22(2):21-40.  
Burlakova E.B., Kondratov A.A., Maltseva E.L. The effect of ultra-low doses of biologically active substances and low-intensity physical factors. *Chemical physics*. 2003; 22(2):21-40. (In Russ.).

## Информация об авторах / Information about the authors

**Пузан Наталья Дмитриевна**, научный сотрудник, ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1518-7715>

e-mail: [natali\\_lu@tut.by](mailto:natali_lu@tut.by)

**Чешик Игорь Анатольевич**, к.м.н., доцент, директор ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4436-9371>

e-mail: [igor.cheshik@gmail.com](mailto:igor.cheshik@gmail.com)

**Natallia D. Puzan**, Researcher, Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1518-7715>

e-mail: [natali\\_lu@tut.by](mailto:natali_lu@tut.by)

**Igor A. Cheshik**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Director, Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4436-9371>

e-mail: [igor.cheshik@gmail.com](mailto:igor.cheshik@gmail.com)

**Бемяковский Василий Николаевич**, д.м.н., профессор, профессор кафедры онкологии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3112-2142>

e-mail: [vnbel55@mail.ru](mailto:vnbel55@mail.ru)

**Vasili N. Belyakovsky**, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Oncology, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3112-2142>

e-mail: [vnbel55@mail.ru](mailto:vnbel55@mail.ru)

### Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

**Пузан Наталья Дмитриевна**

e-mail: [natali\\_lu@tut.by](mailto:natali_lu@tut.by)

**Natallia D. Puzan**

e-mail: [natali\\_lu@tut.by](mailto:natali_lu@tut.by)

*Поступила в редакцию / Received 31.07.2023*

*Поступила после рецензирования / Accepted 30.01.2024*

*Принята к публикации / Revised 22.02.2024*