

## ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА БИЛИРУБИНА, ЛОКАЛИЗОВАННОГО В КЛЕТКАХ ТКАНИ

В.Ю. Плавский, Л.Г. Плавская, Т.С. Ананич, В.М. Катаркевич,  
В.Н. Кнюкшто, И.А. Леусенко, А.И. Третьякова, А.В. Микулич

Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск

E-mail: [v.plavskii@ifanbel.bas-net.by](mailto:v.plavskii@ifanbel.bas-net.by)

Интерес к изучению фотоники билирубина и побочных неблагоприятных эффектов, обусловленных сенсibilизирующим действием указанного тетрапиррола на биологические системы различного уровня организации, обусловлен широким использованием фототерапии для снижения уровня билирубина при синдроме гипербилирубинемии (желтухи) новорожденных детей. В последние годы актуальность данной проблемы еще более обострилась в связи с применением для терапии гипербилирубинемии новорожденных источников излучения на основе сверхъярких светодиодов, которые позволяют варьировать в широком диапазоне не только интенсивность излучения, но и длину волны воздействующего излучения в пределах полосы поглощения пигмента ( $\lambda = 400\text{--}530$  нм).

Цель настоящей работы – изучение фотофизических свойств билирубина, локализованного в клетках ткани, и исследование механизма сенсibilизированного билирубином повреждения клеток в культуре при воздействии излучения синей и зеленой областей спектра, а также сравнительные исследования фотостабильности пигмента в комплексе с альбумином и при его локализации в клетках.

В работе показана способность билирубина проникать через мембрану животных клеток, локализоваться в митохондриях и вызывать фотосенсibilизированную гибель клеток. Определяющее влияние на летальное действие света оказывает билирубин, локализованный внутри клеток (дополнительное присутствие пигмента в питательной среде практически не сказывается на жизнеспособности клеток при их облучении). Фотобиологический эффект зависит от физиологического состояния клеток, дозы воздействующего излучения и концентрации фотосенсibilизатора. Вклад фототермических процессов в сенсibilизированное билирубином снижение жизнеспособности клеток в выбранном интервале плотностей мощности (не более  $20$  мВт/см<sup>2</sup>) не значителен. При облучении клеток в отсутствие билирубина, а также при инкубации клеток с билирубином ( $C_{\text{БР}} = 40$  мкМ) без светового воздействия эффект слабо выражен.

Установлено, что основной интермедиат фотоповреждения клеток при их сенсibilизации билирубином – синглетный кислород. При этом гибель клеток может быть обусловлена как прямым сенсibilизирующим действием билирубина, так и продуктов его структурной (люмирубин) и конфигурационной (Z, E-, EZ-билирубин) фотоизомеризации. О вкладе фотопродуктов билирубина в сенсibilизированное повреждение клеток свидетельствует отсутствие фотобиологического эффекта на начальных стадиях дозовой зависимости. При более высоких дозовых нагрузках дозовая зависимость выживаемости клеток близка к экспоненциальной. Другая характерная особенность дозовых кривых выживаемости клеток – практически идентичный фотобиологический эффект излучения светодиодного источника с  $\lambda_{\text{макс}} = 465$  нм, соответствующего максимуму спектра поглощения билирубина в комплексе с альбумином, и излучения с  $\lambda_{\text{макс}} = 520$  нм, соответствующего длинноволновому склону указанного спектра. Следовательно, можно ожидать, что включение билирубина в клетки сопровождается существенными изменениями его структурных и абсорбционных характеристик. При этом флуоресценцию билирубина, локализованного в клетках, удастся зарегистрировать лишь при 77 К.

Для выяснения спектральных характеристик билирубина, локализованного в клетках, изучено его сенсibilизирующее действие при плавной перестройке излучения в пределах полосы поглощения пигмента. Показано, что спектр действия излучения, опосредованный сенсibilизированными эффектами билирубина и его фотопродуктов в клетках ткани, существенно отличается от спектра сенсibilизирующего действия пигмента в растворе (модельных молекулярных средах).

Впервые показано, что включение билирубина в клетки сопровождается многократным увеличением его фотохимической устойчивости по сравнению с молекулами пигмента, связанными с альбумином. Билирубин, локализованный в животных клетках, может выполнять функцию селективного фильтра, экранирующего излучение, способное вызывать фотоизомеризацию билирубина, связанного с молекулами альбумина крови. Эффект экранировки излучения билирубином, локализованным в клетках ткани, необходимо учитывать при создании фототерапевтической аппаратуры для лечения гипербилирубинемии новорожденных детей.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Ф17АРМ-028).