

СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МОЛЕКУЛ Z,Z-БИЛИРУБИНА IX α

О. Н. Дудинова

ВВЕДЕНИЕ

Исследование спектрально-люминесцентных характеристик молекулы желчного пигмента Z,Z-билирубина IX α (Z,Z-БР IX α) не только представляет чисто академический интерес, но и имеет большое практическое значение для оптимизации метода фототерапии гипербилирубинемии (желтухи) новорожденных детей. Неинфекционная физиологическая желтуха новорожденных обусловлена избыточным накоплением в крови, а также подкожном слое ребенка Z,Z-БР IX α вследствие его гиперпродукции и/или низкой скорости вывода из организма (экскреции). В случае непринятия экстренных мер, наличие высокой концентрации указанного токсичного пигмента в организме младенца может сказаться на его физическом и нервно-психическом развитии, а также стать непосредственной причиной смерти.

В настоящее время существуют два метода лечения гипербилирубинемии: фототерапия и заменное переливание крови. Из-за большого числа побочных эффектов и сложности подбора донора крови заменное переливание используется только в экстренном случае. Основной и наиболее распространенный метод лечения гипербилирубинемии новорожденных – фототерапия, заключающаяся в воздействии на поверхность тела ребенка излучением, спектральный состав которого соответствует длинноволновой полосе поглощения Z,Z-БР IX α ($\lambda=400\text{--}530$ нм).

СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ФОТОИЗОМЕРИЗАЦИЯ БИЛИРУБИНА

Люминесцентные свойства билирубина (БР) наилучшим образом дают представление о характере возбужденных состояний молекулы, что в свою очередь делает возможным более глубокое понимание фотохимии билирубина и связанных с ней проблем фототерапии.

Отличительной особенностью флуоресценции растворов Z,Z-БР IX α при комнатной температуре – ее крайне низкий квантовый выход: $\Phi_{\text{ФЛ}} < 2 \cdot 10^{-4}$ для растворов пигмента в хлороформе и $\Phi_{\text{ФЛ}}=(1\text{--}3) \cdot 10^{-3}$ для его комплекса с сывороточным альбумином человека (САЧ) в буферной водной среде [1]. Причем низкое значение $\Phi_{\text{ФЛ}}$ не обусловлено высокой

эффективностью интеркомбинационной конверсии $S_1 \rightarrow T_1$: квантовый выход в триплетное состояние для растворов БР в хлороформе $\phi_T < 0.005$, а для комплекса БР-САЧ $\phi_T < 0.01$ [1]. Значит, ни испускание излучения в виде флуоресценции, ни интеркомбинационная конверсия $S_1 \rightarrow T_1$ не являются основными путями дезактивации энергии электронного возбужденного синглетного состояния молекулы БР при комнатной температуре. Следовательно, электронная релаксация синглетно-возбужденного БР в данных условиях может происходить в основном путем внутренней конверсии и/или фотохимических реакций.

Считается, что при воздействии светом, соответствующим полосе поглощения БР, наблюдаются следующие типы фотохимических процессов:

а) реакции самосенсибилизированного окисления пигмента (при участии синглетного кислорода). Однако нельзя исключить, что синглетный кислород, генерируемый триплетно возбужденным Z,Z-БР IX α , не будет вызывать повреждения других жизненно важных молекулярных структур и органелл клетки. Так же процессы самосенсибилизированного фотоокисления пигмента, характеризующиеся очень низким квантовым выходом $\phi_{FO} < 0.01$ [1], не вносят определяющего значения в фотоконверсию БР.

б) реакции конфигурационной (образование Z,E-БР IX α , E,Z-БР IX α , E,E-БР IX α) и структурной (образование Z-люмирубина (ЛР) и E-ЛР) фотоизомеризации (рис. 1):

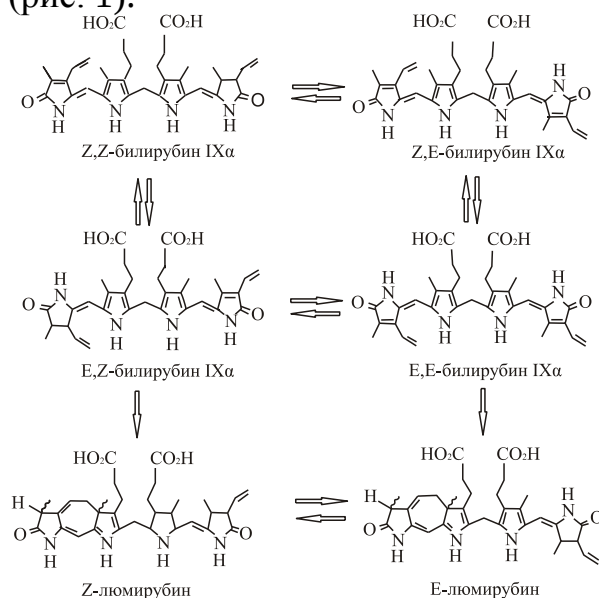


Рис. 1. Схема конфигурационной и структурной фотоизомеризации Z,Z-БР IX α

Квантовый выход структурной фотоизомеризации БР (образование ЛР) так же невысок ($\phi_{ЛР} < 0.002$ [1]). Более вероятна геометрическая (цис-транс) фотоизомеризация БР: суммарный квантовый выход образования Z,E- и E,Z-изомеров $\phi_{CT} < 0.11$ [1]. Из приведенных значений квантовых

выходов следует, что $\Phi_{\text{ФЛ}} + \Phi_{\text{Т}} + \Phi_{\text{ФО}} + \Phi_{\text{ЛР}} + \Phi_{\text{ЦТ}} \approx 0.13 \ll 1.0$, т. е. основной путь дезактивации энергии электронного возбужденного синглетного состояния молекулы БР при комнатной температуре – внутренняя конверсия. Главной причиной слабой флуоресценции растворов БР при комнатной температуре является вращательная подвижность внешних пиррольных колец молекулы. В этой связи можно ожидать, что увеличение (практически на порядок) интенсивности флуоресценции БР при его связывании с альбумином может быть обусловлено стерическими препятствиями со стороны аминокислотных остатков белка для вращения внешних пиррольных колец молекулы пигмента. Характерно, что у молекулы САЧ имеется два различных участка связывания БР с константами связывания $K_{\text{CB}} = 5,5 \cdot 10^7 \text{ М}^{-1}$ и $K_{\text{CB}} = 4,4 \cdot 10^6 \text{ М}^{-1}$ [2]. При этом флуоресценция БР наблюдается только при его локализации лишь в одном центре связывания, характеризующемся более высокой константой связывания. Установлено, что для БР, локализованного в сайте сильного связывания, максимум спектра флуоресценции находится при $\lambda = 529 \text{ нм}$. При соотношении концентраций $C_{\text{БР}}/C_{\text{САЧ}} = 2/1$, когда БР локализован в двух центрах связывания, $\lambda = 537 \text{ нм}$ [2]. Полученные результаты позволяют исследовать фотонику БР, локализованного в центре белковой молекулы, характеризующемся более низкой константой связывания.

Проведенные исследования показали, что облучение БР в комплексе с альбумином приводит к фотодеструкции пигмента (рис.2). Оптическая плотность комплекса линейно уменьшается в зависимости от экспозиционной дозы излучения. Линейность нарушается, начиная со спектра под номером 6, т.к. начального вещества практически не осталось. Интенсивное поглощение происходит за счет фотопродуктов.

Процессы изомеризации и окисления БР, индуцируемые светом, широко используются в клинической практике для снижения уровня БР у новорожденных детей с синдромом гипербилирубинемии.

Наиболее перспективным в настоящее время в разрабатываемой аппаратуре для фототерапии гипербилирубинемии новорожденных является использование светодиодных источников. Излучатели данного типа значительно превосходят широко распространенные ламповые источники (ртутные, галогенные, металлогалогенные) по совокупности спектрально-энергетических и эксплуатационных характеристик [3].

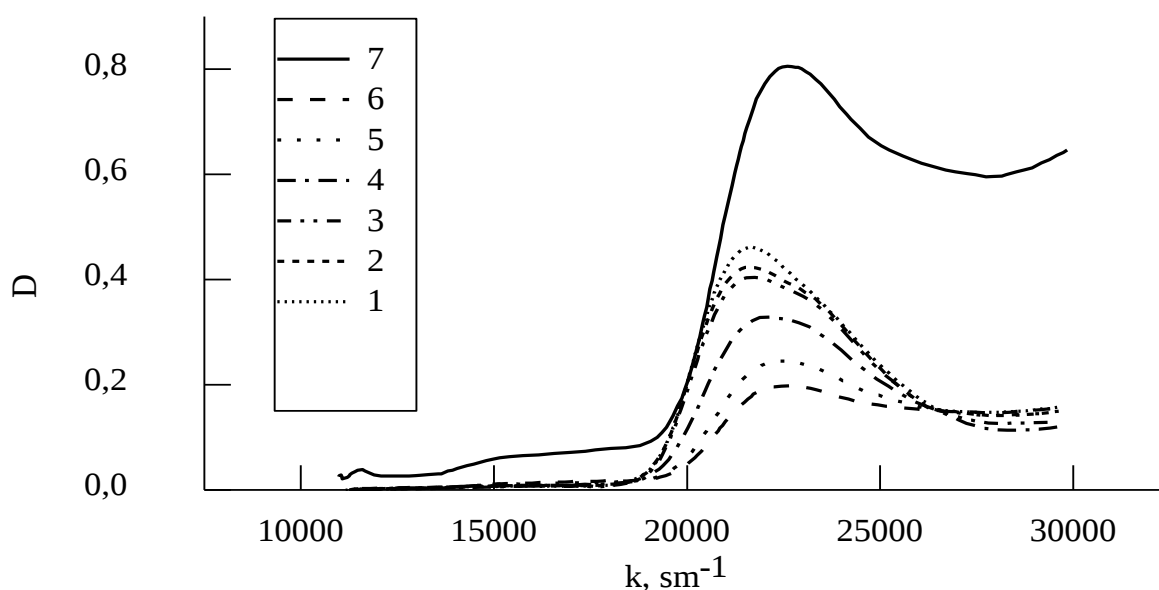


Рис.2. Спектры поглощения БР+САЧ после облучения прибором «Экстрасент №002»: D – оптическая плотность, k – волновое число. 1 – облучение в течении 2 мин. 2 – облучение в течении 7 мин. 3 – облучение в течении 12 мин. 4 – облучение в течении 17 мин. 5 – облучение в течении 27 мин. 7 – коэффициент усиления спектра 6 увеличили в 4 раза, видно, что начали появляться фотопродукты.

В отличие от ламповых источников, аппаратура для фототерапии гипербилирубинемии новорожденных на основе светодиодов характеризуется отсутствием УФ и инфракрасной составляющих (оказывающих побочные эффекты на новорожденного) и обеспечивает регулировку интенсивности воздействующего излучения в зависимости от тяжести состояния новорожденного.

Литература

1. Плавский В.Ю., Мостовников В.А., Мостовникова Г.Р., Третьякова А.И. Спектрально-флуоресцентные и поляризационные характеристики Z,Za. // Журн. прикл. спектр. 2007. Т. 74, № 1. С. 108–119.
2. Мышкин А.Е., Сахаров В.Н. Фотохимия билирубина // Успехи химии. 1982. №.1. С. 72–90.
3. Плавский В.Ю., Мостовникова Г.Р., Третьякова А.И. Фототерапевтические системы для лечения гипербилирубинемии новорожденных детей. Оптический журнал. 2014. Т. 81, № 6, С. 51–61.

МАГНИТОРЕОЛОГИЧЕСКАЯ ИММЕРСИОННАЯ СРЕДА ДЛЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ТРОМБОЛИЗИСА

М. Д. Екельчик

Сердечнососудистые заболевания являются главной причиной заболеваемости и смертности в мире, ежегодно унося 17 млн. жизней. В структуре болезней системы кровообращения отмечается рост уровня