

УДК 547.937 : 541.14

ФОТОХИМИЯ БИЛИРУБИНА

Мышкин А. Е. Сахаров В. Н.

Рассмотрено современное состояние исследований фотохимических превращений билирубина в различных средах. Приведены данные о некоторых физических, химических и физико-химических свойствах билирубина. Особое внимание уделено процессам фотодинамического разрушения и фотоизомеризации билирубина. Приведенный материал обсуждается в связи с актуальной проблемой использования света при лечении гипербилирубинемии у детей.

Библиография — 85 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	72
II. Строение и свойства билирубина	72
III. Фотопревращения билирубина	78
IV. Фототерапия желтухи новорожденных и ее проблемы	88

I. ВВЕДЕНИЕ

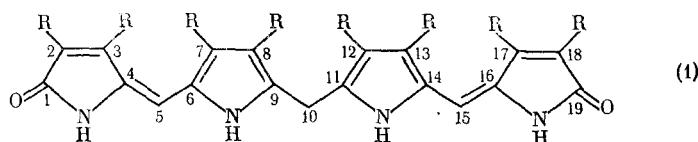
Желчный пигмент билирубин (БР) образуется в организме главным образом при деструкции гемоглобина, выходящего в плазму крови из разрушающихся эритроцитов. В отличие от белка и «свободного» железа, также являющихся продуктами деструкции гемоглобина, БР не утилизируется организмом и, более того, может оказывать на организм токсическое действие. Поэтому удаление БР из организма является важным физиологическим процессом. Процесс этот, однако, в значительной степени осложнен нерастворимостью БР в водных средах, вследствие чего транспорт БР в организме осуществляется путем связывания БР в водорастворимые комплексы и образования водорастворимых производных. В частности, в кровяном русле БР циркулирует в комплексе с сывороточным альбумином (СА) и при участии клеток печени выводится в желчные протоки в основном в виде сложных эфиров с одной или двумя молекулами глюкуроновой кислоты. При нарушении системы удаления БР из организма может возникнуть патологическое состояние — гипербилирубинемия; это состояние сопровождается отложением БР в коже, вследствие чего кожа приобретает желтый оттенок. Данное обстоятельство и послужило основанием для распространенного в медицинской практике термина «желтуха».

В последнее время приобрело широкое распространение лечение желтухи у новорожденных путем облучения кожи видимым светом в определенном диапазоне длин волн. Успешное применение фототерапии побудило исследователей предпринять работы по изучению различных аспектов фотохимии билирубина. Этому вопросу и посвящен настоящий обзор. Учитывая, что в последние годы в отечественной литературе не появлялось обзорных сообщений по билирубину вообще, мы рассмотрели также необходимые для понимания фотохимии БР разделы, дающие представление о наиболее важных физико-химических, физических и химических свойствах БР.

II. СТРОЕНИЕ И СВОИСТВА БИЛИРУБИНА

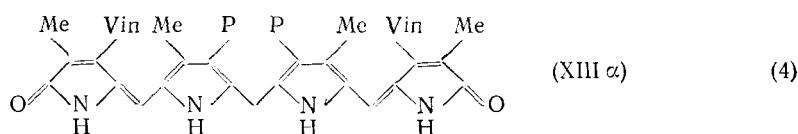
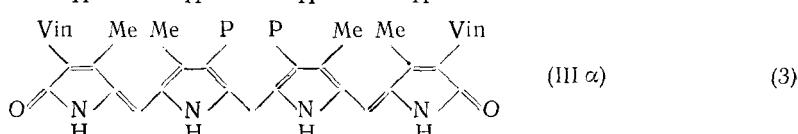
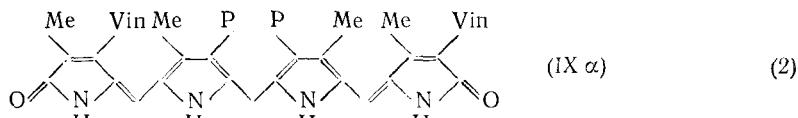
1. Строение

Билирубин представляет собой набор структурных изомеров тетрапиррольного соединения общей формулы:



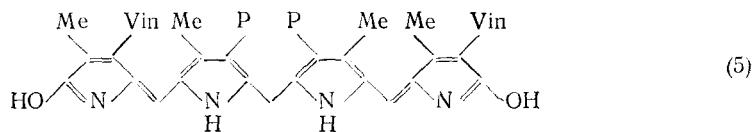
где R — метил (Me), винил Vin или карбоксиэтил (R — остаток пропионовой кислоты) при условии, что во всех случаях имеется две винильных, две карбоксиэтильных и четыре метильных группы.

Принято считать, что в организме образуется лишь один из структурных изомеров БР (так называемый БР IX α):



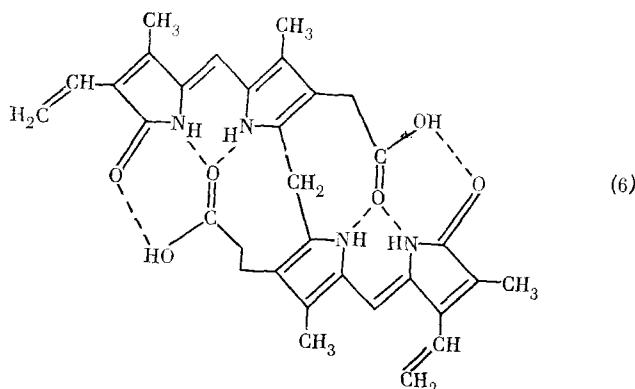
Именно этот изомер в медицинской, биологической и химической практике называют просто билирубином. Однако имеются сведения о том, что в сыворотке крови страдающих желтухой новорожденных содержится только 62—70% БР $\text{IX}\alpha$, а остальное количество БР состоит из изомеров $\text{III}\alpha$ (10—19%) и $\text{XIII}\alpha$ (16—20%) [1].

бис-Лактамная, или диоксоформа (формула (1)) не является единственно возможной для БР. В принципе можно допустить существование и бис-лактимной формы (5):



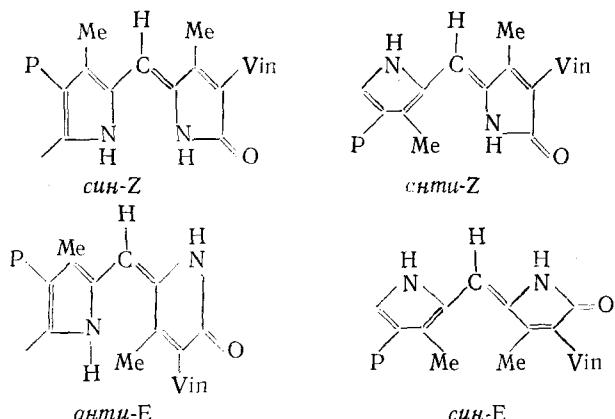
В настоящее время, однако, нет достаточно надежных данных о содержании той и другой формы как в растворах, так и в твердом состоянии. *бис*-Лактамная форма объясняет большинство химических и физико-химических свойств БР, но противоречит чрезвычайно низкой растворимости БР в воде — при pH 7,4 и ионной силе 0,1 M растворимость БР составляет всего 0,05 мг/л [2]. Противоречие исчезает, если допустить образование системы достаточно прочных внутримолекулярных водородных связей с участием остатков пропионовой кислоты, атомов водорода при пиррольных атомах азота и эндоциклических карбонильных групп [3, 4].

Однако имеются данные, свидетельствующие о том, что атомы водорода, расположенные при пиррольных атомах азота (и к тому же только в двух средних пиррольных циклах), образуют водородные связи лишь в неполярных растворителях, в то время как в твердом состоянии БР четыре атома водорода групп NH не участвуют в образовании внутримолекулярных водородных связей [5]. Предполагается, кроме того, что формула (6) соответствует плоской конформации молекулы БР [6]. Это подтверждается данными рентгеноструктурного анализа [7]. Конформация молекулы БР является, кроме того, хиральной, и ее жесткость сообщает БР оптическую активность [8]. Методом ЯМР определен свободноэнергетический барьер между энантиомерными



конформациями БР в хлороформе, составивший $17,9 \pm 0,5$ ккал/моль [9].

Наряду со структурной и зеркальной изомерией существует также возможность *цис* — *транс*-изомерии в молекуле БР, поскольку расположение заместителей относительно двух енамидных связей $C=C$ может быть различным. Ниже приведены возможные геометрические изомерные структуры относительно лишь одной из енамидных связей $C=C$:



Методом простого полуэмпирического конформационного анализа показано [10], что плоская конфигурация выполняется только для изомера *син-Z*. Таким образом, плоской конформации молекулы БР следует приписать строение типа *син-Z*, *син-Z*. Обычно пренебрегают изомерией, связанной с вращением средних пиррольных циклов относительно эндоциклической связи $C-C$ и используют для обозначения основной конформации БР $IX\alpha$ более краткое обозначение *Z,Z*.

2. Физико-химические свойства

Из физико-химических свойств БР наибольший интерес для фотохимических исследований представляет растворимость БР в различных средах и образование комплексов с другими молекулами. Кроме того, знание этих характеристик БР существенно для понимания его поведения в организме на различных стадиях метаболизма.

О чрезвычайно низкой растворимости БР в воде упоминалось выше. Поскольку БР имеет две амидные карбонильные группы и, что еще более существенно, две карбоксильные группы, решающее значение для растворимости БР в водных средах имеет pH среды. С повышением pH вначале ионизуются карбоксильные группы, затем енольные группы, что облегчает солюбилизацию БР в воде. Оптимальным для приготовления водных растворов БР считается 0,1 М NaOH, KOH или

Na_2CO_3 . Цианид калия также способствует растворению БР: в 0,1 М KCN растворяется 0,04 М БР [6]. При нейтрализации щелочных растворов БР образуются коллоидные растворы. В кислых растворах БР практически не растворим. Большинство неполярных органических растворителей не растворяют БР. К числу неэффективных растворителей БР относятся и такие полярные растворители как метанол, этанол, уксусная кислота. Напротив, БР хорошо растворяется в ацетоне, бензole, метилизобутилкетоне, формамиде, диметилформамиде (ДМФА), диметилсульфоксиде (ДМСО), пиридине, хлороформе [6]. Особенное распространение у исследователей приобрел хлороформ.

В недавно опубликованной работе [11] приведены данные, противоречащие распространенной концепции липофильности БР и обусловленной этим его нейротоксичности. Автор [11] показал, что БР обладает низкой растворимостью в триглицеридах и что его растворимость увеличивается с возрастанием полярности среды.

Особое значение имеет растворимость БР в водных растворах белков, в частности, альбуминов из сыворотки крови. Следует отметить, что белки сами по себе неспособны солюбилизировать БР в водном растворе. Обычно при необходимости растворить БР в нейтральном водном растворе белка предварительно растворяют БР в щелочном растворе белка, после чего раствор нейтрализуют. Из этого следует, что белки не способны разрывать внутримолекулярные водородные связи в молекуле БР. В то же время белки образуют достаточно устойчивые комплексы с БР, в котором названные связи предварительно разорваны [6].

Комплексообразованию БР с СА посвящено значительное количество исследований. Установлено, что СА обладают центрами «сильного» и «слабого» связывания БР [12, 13]. Прочно связываются с СА 1—2 молекулы БР и менее прочно 10—14 молекул [13]. Менее прочно связанные молекулы БР сравнительно легко вытесняются из комплексов карбоновыми кислотами [14—16], а также некоторыми другими соединениями.

3. Химические свойства

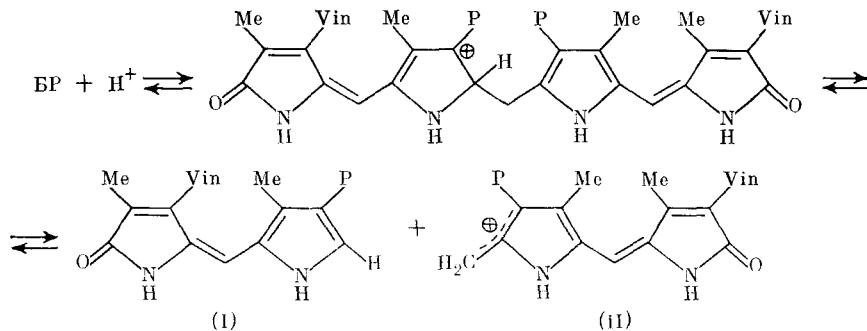
Рассматривая структуру молекулы БР, можно *a priori* сделать ряд заключений о наиболее общих возможностях его химических превращений. Прежде всего молекулу БР можно рассматривать состоящей из двух сопряженных фрагментов, разделенных метиленовым мостиком. Отсюда естественно предположить, что последний является достаточно активным реакционным центром, так как в результате возможного дегидрирования БР по связи, примыкающей к этому мостику, сопряжение охватывает всю тетрапиррольную систему, что должно привести к выигрышу в ее энергии. Наличие большого количества двойных связей, в том числе четырех эндоциклических углерод-углеродных двойных связей, позволяет ожидать для БР различные реакции присоединения по двойным связям, а также типичные для олефинов реакции окислительного расщепления. Остатки пропионовой кислоты определяют слабые кислотные свойства БР, которые могут усиливаться в щелочной среде в результате таутомерного перехода БР в *бис*-лактимную форму с двумя енольными гидроксилами. Основные свойства БР определяются атомами азота в средних пиррольных циклах. В крайних пиррольных циклах атомы азота, будучи амидными, основностью не обладают.

Сильные окислители, такие как перманганат калия или хромовая кислота в уксусной кислоте [17], разрушают тетрапиррольную систему до однопиррольных соединений, из смеси которых выделены гематиновая кислота и метилвинилмалеимид. Менее сильные окислители, такие как иод, разбавленный раствор хлорного железа [18], соли церия или гидрохинон в щелочной среде [19], окисляют лишь центральный метиленовый мостик БР с образованием молекулы биливердина (см. далее соединение (V)).

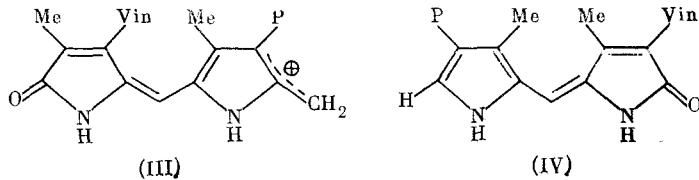
Восстановить БР можно лишь с помощью сильных восстановителей. При катализитическом гидрировании БР в присутствии коллоидного палладия или платины в щелочной среде [20] последовательно были восстановлены винил в положении 18, затем винил в положении 3 (образование мезобилирибуина), после чего в более жестких условиях восстанавливались C(5)- и C(15)-метеновые мостики (образование уробилиногенов). Для восстановления БР использовали также амальгаму натрия [21, 22].

Интересным со всех точек зрения является поведение БР в присутствии кислот. Обнаружено [23], что в результате подкисления раствора БР IX α в ДМСО сухим хлористым водородом при комнатной температуре через 1 мин образуется смесь изомеров БР: IX α , III α и XIII α в соотношении 1 : 2 : 1. В системе ДМСО — уксусная кислота изомеризация протекает лишь при нагревании. В щелочной среде (ДМСО — NaOH — вода) изомеризации обнаружено не было.

Исходя из продуктов кислотной изомеризации БР IX α , легко представить себе механизм процесса, который, по-видимому, включает протонирование молекулы БР по атомам C(9) или C(11) с последующим расщеплением протонированной молекулы БР на два дипиррilmетеновых фрагмента. Протонирование по C(9), в частности, приводит к следующим превращениям БР IX α :



При протонировании по C(11) аналогично образуются фрагменты:



В результате рекомбинации (I) и (II) (обратная реакция) вновь образуется изомер БР IX α . В результате же рекомбинации (I) и (III) и (II) и (IV) образуются соответственно изомеры БР: III α и XIII α .

Физиологически важной реакцией БР является образование его водорастворимых сложных эфиров по остаткам пропионовой кислоты, в частности, образование эфиров с глюкуроновой кислотой. Моно- и диглюкурониды БР получены из БР с активированными имидазолом карбоксильными группами [24].

Значительное количество работ посвящено образованию комплексов БР с металлами [25—27]; однако эти свойства БР уже значительно отходят от темы настоящего обзора.

4. Оптические спектры поглощения

Оптические характеристики, и, в частности, спектры поглощения БР существенны для понимания механизма его фотохимических превращений. По данным, приведенным в обзоре [6], в спектре поглощения нейтрального водного раствора БР имеется максимум при 440 нм.

Переход в щелочную область сопровождается существенным гипсохромным сдвигом — $\lambda_{\max} = 420$ нм. При добавке белков к щелочному раствору БР положение максимума поглощения сдвигается в сторону больших длин волн (450 нм), приближаясь к положению максимума в нейтральном безбелковом растворе. Это обстоятельство предполагает определенное сходство состояний БР в безбелковом водном растворе и в присутствии белков. Поскольку для образования комплексов БР с белками, как указано выше, требуется предварительный разрыв внутримолекулярных водородных связей в молекуле БР, можно предположить, что БР в комплексах с белками названных связей не имеет или почти не имеет. Сходство же спектров позволяет сделать аналогичный вывод и для БР в безбелковом водном растворе. Такое же состояние, видимо, характерно и для БР, растворенного в хлороформе ($\lambda_{\max} = 453$ нм) и ДМФА ($\lambda_{\max} = 456$ нм).

Данные о поглощении БР в УФ-области противоречивы, что обусловлено различной степенью чистоты изучаемого пигмента. Одна из причин этого — относительно малая устойчивость БР в растворах. Например, для 0,1 М растворов NaOH, NH₄OH и Na₂CO₃ в присутствии воздуха оптическая плотность в максимуме поглощения БР уменьшается со скоростью 2—10% в час [28]. Поэтому измерение УФ- и видимых спектров БР рекомендуется производить в течение нескольких минут после приготовления раствора.

В ИК-спектре БР в КBr имеется полоса поглощения карбоксильного гидроксила при 2500 см⁻¹ и карбонильной группы при 1680 см⁻¹. Смещение карбонильной полосы в сторону меньших волновых чисел обусловлено вовлечением карбонильной группы в водородную связь [29].

5. Люминесцентные свойства

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

При комнатной температуре не было обнаружено ни флуоресценции, ни фосфоресценции растворов БР. В то же время в различных полярных растворителях при 77К наблюдали зеленоватое излучение при ~ 525 нм [30]. В этаноле при 77К определен квантовый выход флуоресценции $Q_F = 0,13$ [31].

Подробно изучена флуоресценция БР в системе эфир—изопентан—этанол — ДМФА (6 : 5 : 3 : 0,5) при возбуждении высокочастотной импульсной лампой на длине волны < 450 нм [32]. Полупериод эмиссии составлял < 5 нс, что характерно для флуоресценции. Каждый квантовый выход флуоресценции (по сравнению с флуоресценцией при комнатной температуре) составил $\sim 0,05$. Спектр возбуждения, измеренный в максимуме эмиссии при 520 нм, выявил довольно резкий максимум при 472 ± 5 нм, который существенно отличался от широкой полосы в области 470 нм в спектре поглощения при комнатной температуре. Исследуя влияние температуры в интервале от 293 до 215К на поглощение БР в дихлорэтане и ДМФА при 450 нм, авторы работы [32] обнаружили спектральные изменения только для раствора ДМФА. Одновременно в растворе ДМФА при 215 К появлялась и флуоресценция, которая в дихлорэтане при данной температуре отсутствовала. На основании этого в [32] высказано предположение о том что в некоторых полярных растворителях, в частности в ДМФА, при понижении температуры равновесно появляется флуоресцирующая форма БР.

Позднее было обнаружено, что возможна флуоресценция раствора БР и при комнатной температуре, если в этом растворе содержится СА, с которым БР образует комплекс. В зависимости от происхождения СА могут изменяться как максимум испускания, так и квантовый выход флуоресценции [33]. Если в случае СА человека эти параметры составляют соответственно 527 нм и 0,00102, то для СА быка, кролика

и обезьяны — соответственно 546 нм и 0,00085, 531 нм и 0,00084, 528 нм и 0,00037. В работе [31], однако, приведен более высокий квантовый выход флуоресценции комплекса БР с СА быка ($Q_F=0,01$).

Таким образом, раствор БР не флуоресцирующий при комнатной температуре, начинает флуоресцировать либо при понижении температуры, либо при образовании комплекса БР с белком. И в том, и в другом случае излучает свет молекула БР, имеющая ограниченное число степеней свободы. Поэтому вполне логичен вывод авторов [31] о том, что безызлучательная потеря энергии билирубином в жидким растворе обусловлена вибрациями молекулы или конформационными изменениями, которые полностью подавляют излучение. Данный вывод в известной степени подтверждается обнаружением флуоресценции БР в водном растворе в мицеллярном окружении молекул цетилтрити-тиламмонийбромида [34].

Авторы работы [35] объясняют отсутствие флуоресценции БР в обычных условиях быстрой внутренней конверсией ($k \approx 10^{12} \text{ с}^{-1}$) первично образующегося синглетно-возбужденного состояния S_1 в состояние с несколько более низкой энергией S_1' , которое может безызлучательно переходить либо в исходное синглетное состояние S_0 , либо в первое возбужденное триплетное состояние T_1 , о котором речь пойдет позднее.

III. ФОТОПРЕВРАЩЕНИЯ БИЛИРУБИНА

1. Первичные фотопревращения

Фотовозбужденный БР подвергается превращениям, давая продукты, которые в свою очередь могут подвергаться дальнейшим превращениям как под действием света, так и в темноте. Чтобы приблизиться к пониманию механизма фотопревращений БР, целесообразно рассмотреть отдельно первичные фотопревращения, попытавшись выделить их из общей цепочки превращений БР на свету. Введем более жесткое ограничение, допустив, что в первичных фотопревращениях БР не участвуют другие молекулы, в том числе молекулярный кислород.

Авторы работы [36], облучая помещенный в кварцевую кювету раствор БР в хлороформе, а также в фосфатном буфере при pH 7,4 с добавками СА, монохроматическим и немонохроматическим ксеноновыми источниками, обнаружили методом дифференциальной спектроскопии наличие фотолабильного продукта с максимумом поглощения при 490 нм. Детектировать продукт удавалось только в присутствии избытка БР, который выполнял роль защитного материала (внутреннего фильтра). Эксперимент был воспроизведен позднее теми же авторами [37] с использованием аппаратуры, которая позволяла выделить возбуждающее излучение с максимумом в области 410—440 нм, имеющее малую энергию как в области ниже 360 нм, так и выше 470 нм; это, в частности, создавало условия для большей устойчивости фотопродукта с максимумом поглощения при 490 нм. Обнаружено, что концентрация фотопродукта растет до достижения конверсии БР 10—15%, после чего остается постоянной.

Тщательно анализируя дифференциальные спектры, авторы [37] пришли к выводу, что наряду с фотопродуктом с $\lambda_{\text{макс}}=490$ нм возникает второй фотопродукт, поглощающий при 420 нм. Следует отметить сходство дифференциальных спектров таких, казалось бы, различных систем, как растворы БР в четыреххлористом углероде и хлороформе, с одной стороны, и раствор БР в фосфатном буфере с добавкой СА быка, с другой стороны. В противовес этому, дифференциальный спектр облученного раствора БР в фосфатном буфере с добавкой СА человека имеет характерные особенности. Отсюда можно заключить, что СА человека, в отличие от СА быка, существенно модифицирует молекулу БР.

Авторы [38], облучая БР в хлороформе с добавкой 1% этианола на длине волны ~ 440 нм, обнаружили в дифференциальных спектрах (рис. 1) наряду с отрицательным максимумом при ~ 460 нм (соответ-

ствующим убыли БР) положительное поглощение в области 350 и 500 нм. Аналогичные спектры получены в случаях облучения растворов БР в хлороформе с 1% гексана при 420 и 430 нм, а также в аммиачном метаноле при 400, 410 и 420 нм. Существенно, что полоса поглощения при ~ 500 нм возникает как в анаэробных, так и в аэробных условиях. Отсутствие эффекта синглетного кислорода в последнем случае доказано малым влиянием на спектр тушитилей флуоресценции синглетного кислорода — диметилбутена, диэтил- и триэтиламина. Интенсивность полосы при ~ 500 нм в процессе облучения постепенно увеличивается и достигает постоянного значения через 1—10 мин (щелочные растворители ускоряют процесс). При более продолжительном облучении интенсивность этой полосы начинает уменьшаться. Если достигший фоторавновесия раствор оставить в темноте при 22°C , происходит медленное, но вполне заметное термическое восстановление исходного спектра. Этот процесс ускоряется добавками следов CF_3COOH (тогда восстановление происходит практически мгновенно) или I_2 . Аналогичный эффект оказывает и облучение фоторавновесного раствора светом длиной волны ~ 510 нм с шириной полосы 10 нм. В последнем случае возникает новое фотостационарное состояние раствора с меньшим содержанием фотопродукта.

Авторам работы [38] удалось с помощью тонкослойной хроматографии выделить фотопродукт, образующийся при облучении раствора БР в аммиачном метаноле. Продукт, названный авторами фотобилирубином, представлял собой желтое вещество с широкой полосой поглощения при 440 нм, не имеющее пика поглощения в области 500 нм. Фотобилирубин был всегда загрязнен различными количествами БР, который, как полагают авторы, образуется путем обратного термического превращения фотобилирубина в БР. По мнению авторов [38], пики в дифференциальных спектрах при 350 и 500 нм не являются максимумами поглощения фотопродукта, а характеризуют лишь различие в поглощении между БР и фотопродуктом в области указанных длин волн. Выдвинуто логичное предположение о том, что фотобилирубин есть не что иное, как смесь продуктов фотонизомеризации БР у экзоциклических енамидных связей $\text{C}=\text{C}$, среди которых преобладают почти идентичные Z, E- и E, Z-изомеры и содержится небольшое количество E, E-изомера (см. формулы на стр. 74).

На рис. 2 приведены кривые, которые характеризуют уменьшение концентрации БР (убыль поглощения при 453 нм), облучаемого в растворе хлороформа светом длины волны >390 нм [38]. В разных опытах использовались растворы, насыщенные аргоном (a), насыщенные

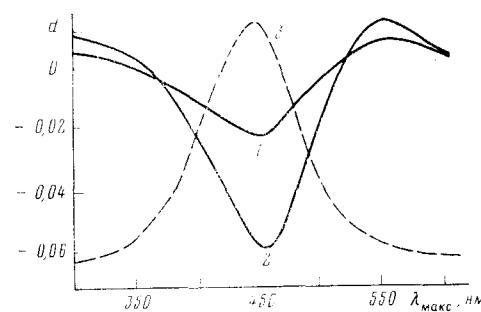


Рис. 1. Дифференциальные спектры раствора БР в хлороформе с 1% этанола при облучении на длине волны ~ 440 нм; 1 — через 60 с, 2 — через 360 с после облучения; 3 — интегральный спектр БР (в произвольном масштабе)

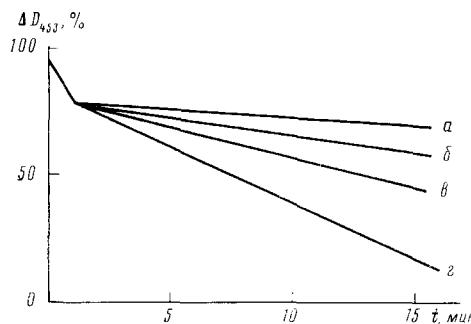


Рис. 2. Уменьшение концентрации БР при облучении раствора БР в хлороформе (концентрация $1,5 \cdot 10^{-2}$ М) источником с областью длин волн >390 нм (пояснение в тексте)

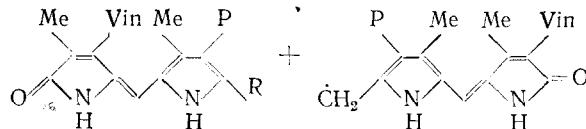
O_2 с $0,15\text{ M}$ 1,4-диазабицикло[2,2,2]октана (б), насыщенные O_2 с $1,5 \cdot 10^{-3}\text{ M}$ диметилбутена (в) и просто насыщенные O_2 (г). Видно, что все кривые имеют общий начальный участок, которому соответствует время облучения ~ 1 мин. Авторы [38] полагают, что этот участок характеризует образование фотобилирубина, последующие же участки отдельных кривых характеризуют конверсию БР, скорость которой зависит от состава смеси.

Продукты, подобные найденному в [38] фотобилирубину, были обнаружены и другими авторами. В частности, авторы работы [39], облучая БР в хлороформе видимым светом, выделили с выходом 7% желтый продукт, обладающий более высокой полярностью по сравнению с БР $IX\alpha$. В работе [40] после облучения интенсивным видимым светом раствора БР в хлороформе были выделены три изомера БР, имеющие такой же максимум поглощения (442 нм), что и БР $IX\alpha$ (Z,Z -изомер). Два из этих изомеров в темноте разлагались с образованием коричневых продуктов, третий же превращался в исходный БР. При облучении все три изомера превращались в Z,Z -изомер БР $IX\alpha$.

Рассмотренные выше работы позволяют сделать очень важный для понимания фотохимии БР вывод: первичными продуктами, возникающими при облучении БР видимым светом, являются геометрические изомеры БР. Возможно, что одной из причин отсутствия у БР в обычных условиях флуоресценции и фосфоресценции является расходование избыточной энергии возбужденных синглетного и триплетного состояний на преодоление энергетического барьера, отделяющего Z,Z -изомер БР от других геометрических изомеров. Будучи менее устойчивыми по сравнению с Z,Z -изомером БР, эти изомеры в зависимости от условий либо превращаются в исходный БР, либо不可逆но превращаются в отличные от БР продукты. Особенно важным свойством «фотоизомеров» БР является их полярность, по-видимому, обусловленная полным или частичным разрушением свойственных Z,Z -изомеру БР внутримолекулярных водородных связей. Полярность обусловливает водорастворимость этих изомеров, что может оказаться одним из решающих факторов при фототерапии желтухи новорожденных.

2. Фотохимическое образование структурных изомеров билирубина

Как уже указывалось, в присутствии кислоты происходит изомеризация БР $IX\alpha$ в его структурные изомеры $III\alpha$ и $XIII\alpha$. Первой стадией процесса является протонирование молекулы БР по атомам С(9) или С(11). Исходя из общих химических соображений можно предположить, что аналогичная реакция может протекать и по радикальному механизму. Если по той или иной причине в растворе, содержащем БР $IX\alpha$, возникнет свободный радикал R , то одним из возможных превращений будет его присоединение к молекуле БР по С(9) или С(11). Вновь образовавшиеся тетрапиррольные свободные радикалы могут распадаться каждый на два дипиррольных фрагмента, например (после присоединения по С(9)):



Радикальный фрагмент, в свою очередь, может присоединиться к непрореагировавшей молекуле БР $IX\alpha$ по С(9) или С(11) (развитие цепи), после чего от образовавшегося гексапиррольного свободного радикала может отцепиться входивший в исходную молекулу дипиррольный фрагмент в виде свободного радикала и т. д. В результате вместо имевшегося первоначально в системе изомера БР $IX\alpha$ возникнут еще два изомера: $III\alpha$ и $XIII\alpha$. Первичный радикал R может образоваться из какого-либо компонента системы, включая и молекулу БР. Одним из факторов, стимулирующих зарождение свободных радикалов, является облучение светом.

Фотоизомеризацию типа $\text{IX} \alpha \rightleftharpoons \text{III} \alpha \rightleftharpoons \text{XIII} \alpha$, действительно, неоднократно наблюдали экспериментально. В частности, автор работы [41] обнаружил эту изомеризацию, облучая видимым светом растворы БР $\text{IX} \alpha$ (2,5 мг%) в водных буферах с pH 8,0 и 8,5 в отсутствие O_2 . В меньшей степени данная реакция оказалась типичной для раствора БР в хлороформе и совсем не имела места в 0,1 N водном растворе NaOH и DMCO .

Фотоизомеризация БР $\text{IX} \alpha$ в его структурные изомеры является, вероятно, одной из причин обычной загрязненности имеющихся в продаже препаратов БР изомерами $\text{III} \alpha$ и $\text{XIII} \alpha$.

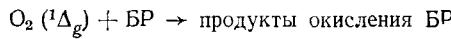
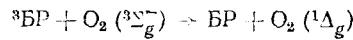
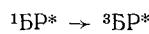
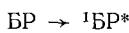
3. Взаимодействие билирубина с молекулярным кислородом при фотооблучении

Поскольку в физиологических условиях фотохимические превращения БР происходят всегда в присутствии молекулярного кислорода, то с практической точки зрения наибольший интерес представляют исследования фотохимии БР в кислородсодержащих растворах и, более конкретно, взаимодействие БР с O_2 в условиях фотооблучения.

Автор работы [42] впервые показал, что БР сенсибилизирует образование синглетного кислорода. Установлено, что при облучении БР в хлороформе видимым светом фотоокисление БР сильно ускоряется метиленовой синью, октаэтилпорфином и другими фотосенсибилизаторами образования $^1\text{O}_2$, в то время как тушители $^1\text{O}_2$ — 1,4-диазабицикло[2,2,2]октан и транс-β-каротин ингибируют фотоокисление. Автор [42] предположил, что фотохимическое окисление БР молекулярным кислородом осуществляется через стадию переноса энергии от триплетно-возбужденного БР к $^3\text{O}_2$. Другим доказательством участия в реакции синглетного кислорода (преимущественно в состоянии $^1\Delta_g$) является близость константы скорости реакции БР с фотофизическими генерируемым $^1\text{O}_2$ в воде ($3,5 \cdot 10^8$ л/моль·с) к константам скорости фотохимического окисления БР в хлороформе, смеси хлороформа с метанолом и в других растворителях. Определена константа скорости физического тушения флуоресценции билирубина $^1\text{O}_2$, равная $9 \cdot 10^8$ л/моль·с [37].

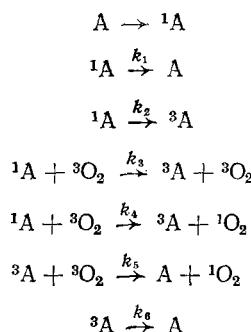
Существование триплетного состояния БР экспериментально доказано в [43]. Раствор БР в концентрации $4 \cdot 10^{-5}$ M в бензоле с добавкой 0,1 M бифенила подвергали импульсному радиолизу дозой ~ 1000 рад, после чего регистрировали спектр поглощения возбужденного БР. Обнаружено, что во всей области регистрируемого спектра (490—700 нм) после импульса возбуждения длительностью 20 нс интенсивность поглощения равномерно возрастает, достигая максимума через 5 мкс, после чего убывает с полупериодом 9 мкс. При этом скорость возрастания поглощения совпадает со скоростью разрушения триплетного состояния бифенила, измеряемой при 360 нм.

Аналогичное, но более слабое, поглощение возникает и при импульсном радиолизе БР в отсутствие бифенила. Добавляя 10^{-5} M БР к раствору антрацена в бензоле (концентрация $3 \cdot 10^{-5}$ M) автор работы [43] отметил значительное возрастание скорости распада триплетного состояния антрацена, откуда следует, что триплетный уровень БР ниже, чем у антрацена. Так же установлено, что триплетный уровень БР близок к триплетному уровню перилена и имеет энергию ~ 150 кДж/моль. С помощью лазерного флаш-фотолиза при использовании антрацена в качестве стандарта определен выход синглет-триплетного перехода $\Phi_T \leqslant 0,1$. Предложенный механизм фотоокисления БР включает следующие стадии:



Поскольку энергия молекулы $O_2(^1\Delta_g)$ составляет 94 кДж/моль, а энергия $^3\text{BR}^*$ ~ 150 кДж/моль, обратный перенос энергии от $O_2(^1\Delta_g)$ на БР в основном состоянии с возбуждением БР в триплетное состояние невозможен. Потому тушение синглетного кислорода при взаимодействии его с БР сопровождается химическими превращениями БР. Ингибиовать же, как полагает автор работы [43], разрушение БР могут тушители синглетного кислорода, имеющие энергию между 150 и 94 кДж/моль; ингибиование происходит путем переноса энергии от триплетного состояния БР. Тушители с энергией ниже 94 кДж/моль могут ингибиовать разрушение БР как за счет переноса энергии его триплетного состояния, так и за счет тушения синглетного кислорода (в зависимости от относительных концентраций O_2 и тушителя). Что касается сенсибилизаторов, то те из них, энергия которых превышает 150 кДж/моль, могут облегчать образование $^3\text{BR}^*$ преимущественно перед процессом сенсибилизации образования $O_2(^1\Delta_g)$. Сенсибилизаторы же с энергией между 150 и 94 кДж/моль могут только возбуждать образование $O_2(^1\Delta_g)$.

Авторы работы [35] изучили влияние различных факторов на квантовые выходы (φ) фотоокисления БР, работая с его разбавленными растворами — $(0,5—5) \cdot 10^{-3}$ М. Последнее обстоятельство предотвращало образование биливердина, которому благоприятствуют высокие концентрации БР. Установлено, что значение φ возрастает с увеличением концентрации O_2 в хлороформе, метаноле, фреоне-113 и воде. В водном растворе φ возрастает с повышением pH от 7 до 11. Предложена следующая схема фотопревращений обобщенного акцептора синглетного кислорода (A):



В случае БР константой скорости k_4 можно пренебречь, так как энергия синглет-триплетного расщепления для БР (разность между энергией $^3\text{BR}^*$, равной 240 кДж/моль [31], и энергией $^3\text{BR}^*$, равной ~ 150 кДж/моль [43]) составляет ~ 90 кДж/моль, что ниже энергии $O_2(^1\Delta_g)$ (94 кДж/моль). Константа k_3 в основном определяется диффузией и вследствие этого должна быть значительно меньше k_1 . Однако это соблюдается только в растворе хлороформа, а в трех других растворителях $k_3 > k_1$. Исходя из этого, авторы [35] заключают, что состояние, релаксирующее с константой скорости k_1 , не есть первично образующееся синглетное возбужденное состояние. Предлагается приведенная на рис. 3 схема межуровневых переходов в процессе фотовозбуждения БР и релаксации возбужденных состояний БР в присутствии O_2 . Согласно этой схеме, первично образующееся состояние S_1 очень быстро превращается в нефлуоресцирующее состояние S_1' .

В недавно опубликованной работе [44] измерены квантовые выходы процесса возбуждения БР в триплетное состояние в различных средах (с использованием лазерного флэш-фотолиза на длине волны 347 нм). В частности, в водном растворе с pH 9—11 и аммиачном метаноле квантовый выход составил менее 0,005. В неполярной среде (бензоле) величина $\varphi \sim 0,001$. Добавки триэтиламина к бензолу снижали φ до значений, меньших 0,005.

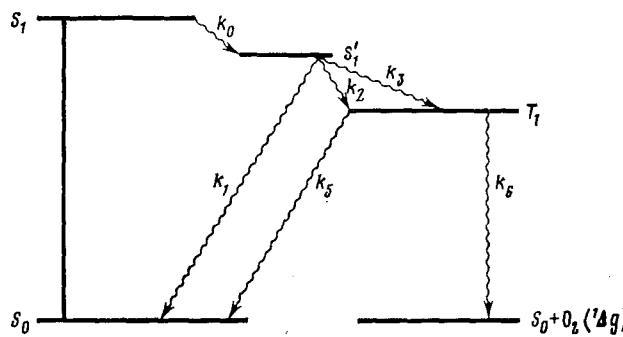
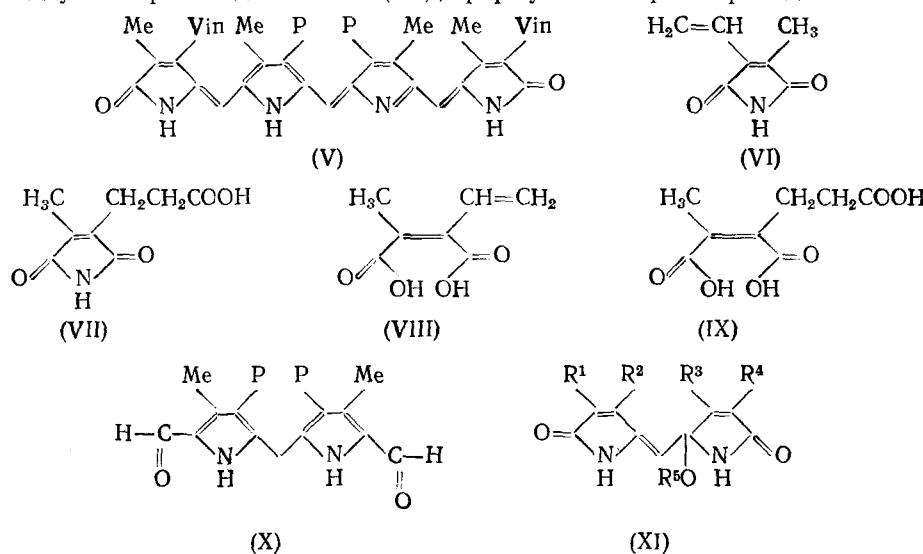


Рис. 3. Энергетические уровни БР при фотовозбуждении в присутствии O_2 ; конверсия с константами скорости k_3 и k_4 идет в присутствии 3O_2

4. Фотоокисление билирубина

Многие авторы неоднократно отмечали, что фотодеструкция БР в присутствии кислорода воздуха протекает заметно активнее, чем в его отсутствие. Как уже указывалось в предыдущем параграфе, первой стадией фотохимического окисления БР является фотовозбуждение его молекулы в триплетное состояние (возникающее в результате интеркомбинационного перехода из синглетно-возбужденного состояния БР). Полупериод жизни этого состояния (9 мкс) вполне достаточен для переноса триплетной энергии на молекулярный кислород. Образующийся при этом синглетный кислород, в свою очередь, может реагировать с молекулой БР в основном состоянии, окисляя ее. Таким образом, БР является, с одной стороны, фотосенсибилизатором образования молекулярного кислорода и, с другой стороны — акцептором синглетного кислорода. Процесс фотоокисления БР молекулярным кислородом в связи с этим принято считать самосенсибилизированным.

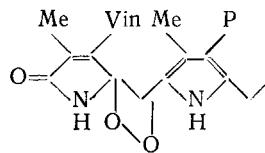
Состав продуктов реакции фотоокисления БР в сильной степени зависит от среды, в которой осуществляется процесс. В протонных растворителях (обычно в аммиачных метаноле, этаноле и воде) разными авторами обнаружены биливердин (биливердин IX), (V), метилвинилмалеимид (VI), имид гематиновой кислоты (VII), метилвинилмалеиновая кислота (VIII), гематиновая кислота (IX), дипирролдиальдегид (X) и аддукты пропентдиопентов (XI), формулы которых приведены ниже:



(XI): a) $R^1, R^3=Me$; $R^2=Vin$; $R^4=P$; б) $R^2, R^3=Me$; $R^1=Vin$; $R^4=P$;
в) $R^2, R^3=Me$; $R^4=Vin$; $R^1=P$; г) $R^2, R^4=Me$; $R^3=Vin$; $R^1=P$; $R^5=H$, Me или Et

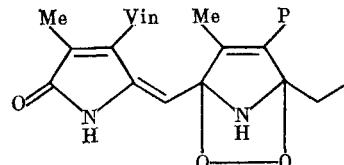
Зеленый пигмент биливердин является продуктом окисления метиленового мостика в молекуле БР, которое осуществляется достаточно легко и происходит даже в темноте, хотя и с небольшой скоростью [45]. Известно также образование биливердина из БР и в отсутствие кислорода [46]. Легкость превращения БР в биливердин послужила основанием для гипотезы о том, что биливердин — промежуточный продукт в процессе более глубокой фотодеструкции БР [47, 48]. Однако против данного утверждения имеются серьезные доводы. Облучая диметиловый эфир биливердина в хлороформе (сам биливердин плохо растворим в хлороформе), автор работы [49] установил, что эфир биливердина не сенсибилизирует возбуждение кислорода. Сравнительными опытами с использованием облучения видимым светом показано, что фотодеструкция БР протекает существенно быстрее, чем фотодеструкция диметилового эфира биливердина [49, 50]. В то же время установлено, что диметиловый эфир биливердина, во-первых, так же, как и БР, является тушителем синглетного кислорода и, во-вторых, по сравнению с БР является значительно более плохим акцептором $^1\text{O}_2$ [49]. Вследствие этого биливердин, будучи тушителем $^1\text{O}_2$ и при этом очень медленно окисляясь, ингибирует фотоокисление БР, в то время как главное направление окисления БР не включает промежуточного образования биливердина.

Образование метилвинилмалеимида [47, 51] происходит в результате атаки синглетного кислорода по эндоциклической связи $\text{C}=\text{C}$ в положении 4 или 15 молекулы БР с промежуточным образованием перекисного четырехзвенного цикла:



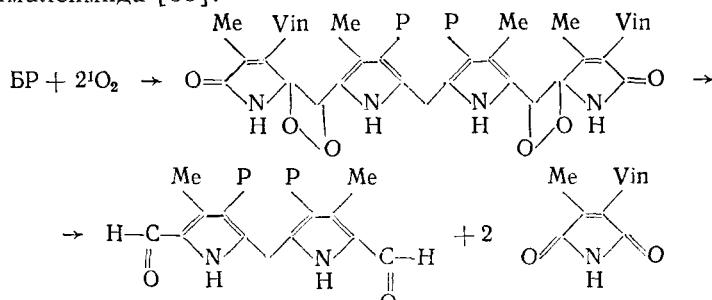
Если обнаружение в спиртовом растворе *in vitro* метилвинилмалеимида позволяло предполагать, что он может образовываться и в организме, то эти предположения стали более определенными после обнаружения метилвинилмалеимида в числе продуктов фоторазложения БР в водном буфере [52]. Под действием света метилвинилмалеимид подвергается дальнейшей деструкции, причем данный процесс происходит даже в отсутствие кислорода, хотя и более медленно. Продукты деструкции метилвинилмалеимида не установлены, но полагают, что он может окисляться до метилкарбоксималеимида, при декарбоксилировании которого в свою очередь может сбрасываться метилмалеимид [53]. Последний является модификатором белков и может мешать их нормальному функционированию в организме.

Образованию имида гематиновой кислоты, по-видимому, предшествует взаимодействие O_2 (диенофил) с сопряженной диеновой системой одного из двух средних пиррольных циклов в молекуле БР, в результате чего образуется перекисный аддукт следующего строения [54]:

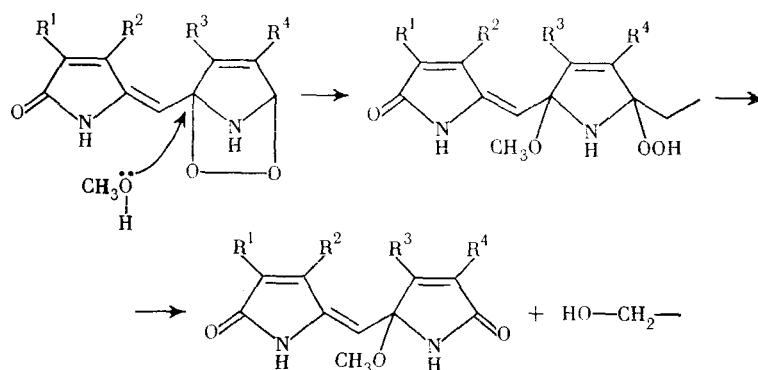


Появление в растворах метилвинилмалеиновой и гематиновой кислот — естественное следствие гидролиза соответствующих имидов либо в процессе фотохимической реакции, либо в процессе обработки реакционной смеси. Обнаруживаемый в реакционной смеси дипирролдиальдегид [50, 54] может образоваться в процессе реакции того же типа, что и реакция, приводящая к образованию метилвинилмалеимида:

взаимодействие молекулярного кислорода с двойными связями в положениях 4 и 15 молекулы БР. Теоретически образование одной молекулы дипирролдиальдегида сопровождается образованием двух молекул метилвинилмалеимида [55]:

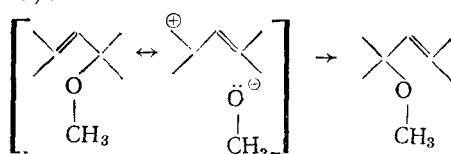


Значительную долю продуктов фотоокисления БР в протонных растворителях составляют аддукты пропентдиопентов с соответствующим растворителем. Предложенный в [56] механизм образования аддуктов пропентдиопентов в метанольно-аммиачном растворе включает предварительное образование эндоперекиси — продукта диеновой конденсации O₂ с диеновой системой второго или третьего пиррольного цикла, с последующим метанолизом эндоперекиси и разрушением промежуточно образующейся гидроперекиси:



Если принять во внимание, что при облучении светом БР IX α образуется равновесная смесь его с изомерами III α и XIII α , то, в соответствии с приведенной выше схемой каждый из изомеров БР при облучении в метаноле должен образовать следующие метанольные аддукты пропентдиопентов: IX α — пропентдиопенты (а и б), III α — пропентдиопент (б), XIII α — пропентдиопент (а).

Однако образование пропентдиопента (а) в более поздней работе [51] не подтвердилось. В реакционной смеси наряду с продуктом (б) были обнаружены и его изомеры (в) и (г), не образующиеся непосредственно из БР IX α и его двух изомеров по предложенной в [56] схеме. В модельных опытах из чистого изомера БР III α были получены пропентдиопенты (б) и (в), а из БР XIII α — (г). Таким образом, образование из облучаемого БР IX α смеси пропентдиопентов (б), (в) и (г) объясняется, с одной стороны, фотоизомеризацией БР IX α в III α и XIII α и, с другой стороны, изомеризацией уже образовавшихся метанольных аддуктов пропентдиопентов, состоящей в переносе метоксигруппы через один атом углерода к соседнему пиррольному циклу с одновременной миграцией двойной связи (аллильная перегруппировка):



Изомеризация выделенных аддуктов пропентдиопентов подтверждена экспериментально [51]. Отсутствие же пропентдиопента (а) в реакционной смеси обусловлено, по-видимому, сильным сдвигом вправо равновесия (а) \rightleftharpoons (г).

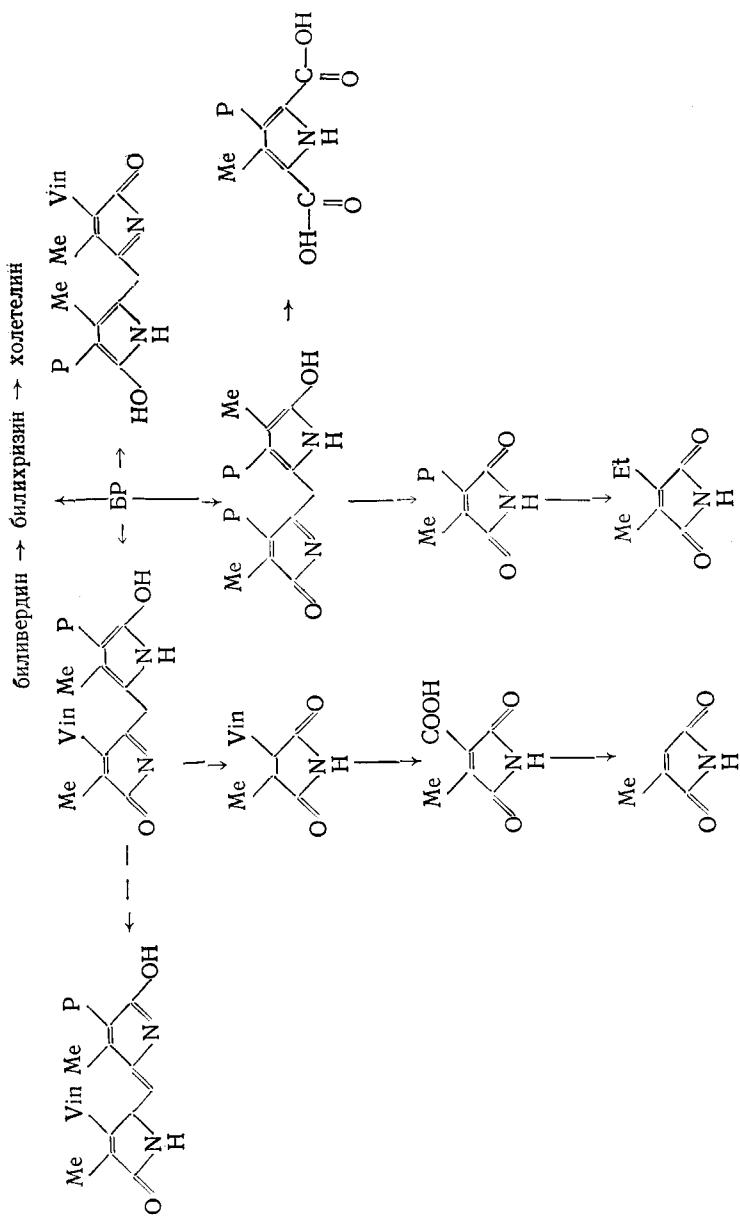
Значительное количество работ по фотохимическому окислению БР проведено с использованием растворов БР в хлороформе [28, 42, 53, 57]. В этом растворителе отмечалось появление наряду с биливердином вицинальных диолов, формально представляющих собой продукты гидроксилирования биливердина по невинильным экзоциклическим связям $C=C$ [57, 58]. Предполагают, что указанные соединения образуются в результате взаимодействия возбужденного БР с триплетным кислородом. Отмечался также меньший по сравнению с наблюдаемым в реакциях в протонных растворителях выход ди- и монопиррольных продуктов окисления [59, 60]. Принципиальных отличий между характером протекания фотоокисления БР в растворах хлороформа и четыреххлористого углерода, несмотря на различие полярностей этих растворителей, не наблюдалось. Дифференциальные спектры, характеризующие изменения в этих растворах при облучении светом с максимумом полосы при 410—440 нм, в общих чертах одинаковы [37].

Авторы работы [53], изучая фотоокисление БР в хлороформе при действии рассеянного солнечного света в течение длительного времени (500 сут), выделяли на разных стадиях процесса различные продукты, что позволило им составить схему вероятных превращений БР (см. стр. 87).

С помощью хроматографии на бумаге авторы работы [53] установили, что БР полностью исчезает из реакционной смеси через 12—25 сут (в зависимости от интенсивности освещения). Биливердин, концентрация которого в смеси никогда не превышала 13% от исходной концентрации БР, исчезал через 40—50 сут. На сотые сутки раствор становился почти бесцветным. Обнаруженная устойчивость БР в хлороформе в атмосфере азота привела к выводу о том, что большая часть БР разлагается путем окисления молекулярным кислородом.

В работе [53] проводится также сравнение между направлением фотодеструкции БР в различных растворителях. В частности, отмечается, что в смеси метанол — хлороформ, слабо щелочном метаноле и водных растворах, так же как и в хлороформном растворе, БР разлагается с быстро наступающим разрушением тетрапиррольной структуры. В кислых средах, напротив, разрушение тетрапиррольной структуры происходит с большим затруднением: пропентдиопенты, имиды и дипирримиды обнаружены только в слабо кислых растворах. Кроме того, общая скорость разложения БР в кислых растворах ниже, чем в щелочных.

Ряд работ посвящен фотоокислению БР в присутствии сывороточно-го альбумина [48, 36, 61]. С одной стороны, комплекс БР с СА образуется в живом организме и представляет специальный интерес. С другой стороны, этот комплекс растворим в воде, что позволяет изучать поведение БР при фотооблучении в нейтральных водных средах. Авторы работы [48], варьируя pH среды в пределах 7,4—13,0, установили, что в нейтральной среде СА ускоряет фотораспад БР, а в щелочной — наоборот. Отмечалось также [61], что в процессе облучения БР становится более полярным и его связь с белком вследствие этого ослабевает. Фотоокисление СА на данной стадии обнаружено не было. Однако авторы работы [62], облучая комплекс БР с СА человека и быка в водном растворе при pH 7,4, обнаружили происходящие в результате фотодинамического эффекта изменения, по-видимому, двух остатков гистидина у обоих альбуминов. Это изменение, как полагают авторы, не приводит к изменению третичной структуры белков, но уменьшает их связывающую способность по отношению к БР. Отмечено также, что третичная структура бычьего СА более лабильна по сравнению с третичной структурой СА человека.



Как уже упоминалось выше, первичные фотопродукты комплексов БР с СА человека и быка различны: СА быка не оказывает на характер фотопревращения БР специфического действия, в то время как в комплексе с СА человека БР претерпевает весьма специфическое фотопревращение. Не проявили специфики также комплексы БР, растворенного в сыворотке крыс, обладающих врожденной и стимулированной желтухой.

IV. ФОТОТЕРАПИЯ ЖЕЛТУХИ НОВОРОЖДЕННЫХ И ЕЕ ПРОБЛЕМЫ

Использование света для лечения желтухи новорожденных стало практиковаться после того, как в 1958 г. авторы работы [63] обнаружили, что на свету происходит разрушение БР в сыворотке желтушного ребенка. Основанием для практической возможности использования фототерапии при желтухе новорожденных послужили клинические эксперименты, доказавшие отсутствие нейротоксического действия со стороны продуктов фотодеструкции БР [64, 65]. Установлено также [66], что снижение уровня БР в организме при фототерапии обусловлено не только фотодеструкцией БР, но также и изменением характера выведения неразрушенного БР: если в обычных условиях БР выводится из организма в основном в связанном состоянии, то при фототерапии резко возрастает количество несвязанного БР в желчи, в то время как выделение БР в связанной форме уменьшается. Как уже отмечалось ранее, это может быть следствием *цис-транс*-изомеризации БР с образованием его водорастворимых геометрических изомеров [38].

Наиболее сильное действие при фототерапии оказывает, как и следовало ожидать, свет в области длин волн 450–460 нм, соответствующих максимуму поглощения БР [67]. Однако небольшой эффект обнаружен и при облучении светом длиной волны ~ 550 нм, а также для УФ-излучения [67].

Несмотря на некоторое противоречие результатов, сообщаемых разными авторами, в большинстве случаев наиболее успешно процесс фототерапии осуществляется при облучении пациентов люминесцентными источниками синего и белого света мощностью 20–40 Вт, расположеными в количестве 3–12 штук на расстоянии 50–100 см. Более подробные рекомендации по применению фототерапии желтухи новорожденных приведены в обзоре [68].

Место фотодеструкции молекулы БР при облучении больного желтухой ребенка однозначно не установлено. Определенную ясность в данный вопрос внесла работа [59], где изучен эффект затенения отдельных небольших (до ~ 4 см²) участков кожи при фототерапии. Эти участки во всех случаях оказывались более пигментированными по сравнению с открытыми участками кожи. Отсюда следует, что БР прочно удерживается в межсосудистом пространстве и эффект «отбеливания» при светолечении обусловлен в основном разрушением БР не в сосудах, а в поверхностных слоях кожи. На основании степени размытости пограничной линии между затененными и открытыми участками кожи было сделано предположение о том, что эффект действия света распространяется по коже на расстояние ~ 2 мм. Автор работы [69] утверждает также, что БР легче выходит из сосудов, чем возвращается в них. Сообщалось также [70] об исчезновении желтизны кожи в процессе фототерапии при неизменном уровне БР в организме. Следовательно, можно считать, что разрушение БР в коже при облучении происходит быстрее, чем поступление БР из кровеносных сосудов в кожу.

Группа индийских исследователей [71] в опытах *in vitro* обнаружила, что эпидермис и кожа человека поглощают свободный и связанный с сывороткой БР из водного буфера. Связанный БР после этого легко удалялся при перенесении кожи в среду, не содержащую БР, в то время как свободный БР оставался в коже, придавая ей желтую окраску. Если после этого кожу облучали светом ртутной лампы, то в среде накапливались продукты разложения БР. Используя БР, меченный ³H,

авторы работы [71] установили весьма существенный факт: продукты окисления БР, поглощенного кожей, отличаются от продуктов окисления БР, находящегося в буферном растворе. Сделано предположение о том, что по выходе из сосудов БР связывается липидами кожи и коллагеном, в котором концентрация БР может превышать концентрацию БР в плазме.

Вопрос о возможных осложнениях фототерапии дискутировался с самого начала ее применения. При обследовании детей, подвергшихся светолечению, не было обнаружено задержки в росте и аномалий психического и физического развития [72, 73]. Тем не менее в связи с важностью вопроса на ряде обнаруженных клинических и потенциально возможных осложнениях следует остановиться особо.

Сообщалось об осложнениях фототерапии, при которых наблюдалось серовато-коричневое окрашивание кожи, сыворотки и мочи. Это явление может осложняться анемией. Известны случаи, когда при гиперпигментации кожи облученных недоношенных новорожденных обнаруживаются задержки роста [74, 75]. Описан случай острого гемолиза, сопровождающего гиперпигментацию кожи при облучении недоношенного ребенка лампами дневного света [76].

Возможность гемолиза эритроцитов при облучении в присутствии БР нельзя исключить. Еще в 1932 г. было показано [77], что эритроциты, сuspendedированные в растворах БР, гемолизуются при облучении солнечным светом. Позднее [78] было высказано мнение о том, что БР связывается с эритроцитами и при облучении может оказывать на них фотодинамическое действие. Гемолитический эффект БР, однако, может быть частично ингибиран белками [79].

При высоких дозах облучения люминесцентной лампой супензии эритроцитов, содержащих БР в концентрациях, характерных для неонатального периода, было обнаружено [80], что гемолизу предшествует повреждение мембран эритроцитов, приводящее к потере эритроцитами калия и снижению активности АТФазы. При введении БР внутрь пустых эритроцитов при рН 8 и 10°С он сенсибилизировал перекисное окисление ненасыщенных липидов при облучении синим светом, о чем судили по положительной цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [81]. Перекисное окисление липидов сопровождалось исчезновением большей части структурных белков мембран и появлением полипептидных фотопродуктов с молекулярной массой более 25 000. Было высказано предположение, что фотодинамический эффект БР *in vivo* может затрагивать не только эритроциты, но и другие контактирующие с БР клетки. О фотодинамическом повреждении СА [62] уже упоминалось выше.

Другим серьезным осложнением фототерапии может быть повреждение ДНК, что относится, однако, к пока еще мало изученным вопросам. В работе [83] обнаружено изменение физико-химических свойств одноцепочечной ДНК *in vitro* после облучения ее в присутствии БР светом длиной волны 450 нм. Принимая во внимание возможную связь между способностью модифицировать клеточную ДНК и мутагенным и/или карциногенным потенциалом, авторы работы [82] сделали заключение, что при фототерапии нельзя совершенно исключить возможность опасных последствий.

При фототерапии отмечалось также появление у некоторых детей небольшой сыпи, раздражения кожи, повышение температуры [77], возрастание потери воды через кожные покровы [83]. Описаны случаи дубления кожи у детей негритянского происхождения [84].

В 1974 г. Национальный комитет по фототерапии в США в своем предварительном докладе [84] предложил рассматривать светолечение желтухи новорожденных как весьма эффективный, хотя и экспериментальный метод. В настоящее время во многих странах большая часть крупных родильных учреждений уже оснащена светотерапевтическими установками, и светотерапия является одним из основных методов предотвращения тяжелых и необратимых последствий желтухи новорожденных. Некоторые авторы [85] рекомендуют даже применять

светотерапию в качестве профилактической процедуры для всех новорожденных. Однако большинство рекомендует все же прибегать к фототерапии выборочно — лишь в тех случаях, когда необходимость в светолечении твердо установлена на основе данных анализов крови на билирубин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Janser F. H., Devriendt A. Arch. int. physiol. et biochim., 1972, v. 80, p. 969.
2. Brodersen R., Theilgaard J. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1969, v. 24, p. 395.
3. Küenze C. C., Weibel M. N., Pelloni R. R., Hemmerich P. Biochem. J., 1973, v. 133, p. 364.
4. Mannitto P., Ricca G. S., Monti D. Gaz. chim. Ital., 1974, v. 104, p. 633.
5. Brodersen R., Flodgaard H., Krøgh H. J. Acta Chim. Scand., 1967, v. 21, p. 2284.
6. Trivin F. Probl. actuel. biochim. appl., 10-ème sér., Paris, 1978, p. 55.
7. Bonnett R., Davies J. E., Hursthouse M. V., Sheldrich G. M. Proc. Roy. Soc., 1978, B, v. 212, p. 249.
8. Carey M. C., Koretsky A. P. Biochem. J., 1979, v. 179, p. 675.
9. Mannitto P., Monti D. Chem. Commun., 1976, p. 122.
10. Geddes A. J., Potterton E., Willis G. Photochem. Photobiol., 1980, v. 31, p. 337.
11. Brodersen R. J. Biol. Chem., 1979, v. 254, p. 2364.
12. Wosilait W. D. A. Life sci., 1974, v. 14, p. 2189.
13. Шаповаленко Е. М., Колесов И. В. Биоорган. химия, 1978, т. 4, с. 514.
14. Haefliger S., Magnenat P. Biomedicine, 1978, v. 28, p. 109.
15. Odell G. B., Cukier J. O., Ostrea E. M., Maglalang A. C., Poland R. L. J. Lab. Clin. Med., 1977, v. 89, p. 295.
16. Berde C. B., Hudson R. S., Simon R. D., Sklar L. A. J. Biol. Chem., 1979, v. 254, p. 391.
17. Rudiger W. Forschr. chem. org. Naturst., 1971, B, 29, S. 60.
18. Nicol A. W. Biochim. Biophys. Acta, 1971, v. 244, p. 595.
19. Trivin F. Thèse Pharmacie (Elat), Université Paris, XI serie, v. 28.
20. Petryka Z. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1973, v. 206, p. 701.
21. Stoll N. S., Crag C. H. Biochem. J., 1970, v. 117, p. 271.
22. O'Carra P., Collier E. J. Chromatogr., 1970, v. 18, p. 458.
23. McDonagh A. F., Assist F. Chem. Commun., 1972, p. 117.
24. Thompson R. P. M., Hofman A. F. Biochim. Biophys. Acta, 1976, v. 451, p. 266.
25. O'Carra P. Nature, 1962, v. 195, p. 899.
26. van Norman J. D., Yatska E. T. Bioinorg. Chem., 1978, v. 9, p. 349.
27. van Norman J. D., Szentirmag R. Anal. Chem., 1974, v. 46, p. 1456.
28. Ostrow J. D., Hammaker L., Schmid R. S. J. Clin. Invest., 1961, v. 40, p. 1442.
29. Fog S., Jellum E. Nature, 1963, v. 198, p. 88.
30. Bonnett R., Dalton J., Hamilton D. E. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1975, p. 224.
31. Matheson J. B. C., Faini G. J., Lee J. Photochem. Photobiol., 1975, v. 21, p. 135.
32. Bonnett R., Dalton J., Hamilton D. E. Chem. Commun., 1975, p. 639.
33. Chen R. F. Fluorescence Techniques in Cell Biology. Berlin — Heidelberg — New York, Springer, 1973, p. 273.
34. Cu A., Bellah G. G., Lightner D. A. J. Amer. Chem. Soc., 1975, v. 97, p. 2579.
35. Matheson J. B. C., Carry N. U., Lee J. Photochem. Photobiol., 1980, v. 31, p. 115.
36. Davies R. E., Keohan S. J. Boll. Chim. Farm., 1970, v. 109, p. 589.
37. Davies R. E., Keohan S. J. Photochem. Photobiol., 1973, v. 17, p. 303.
38. Lightner D. A., Wooldridge T. A., McDonagh A. F. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, v. 76, p. 29.
39. Zenone E. A., Stoll M. S., Ostrow J. D. Gastroenterology, 1977, v. 72, A—157/1180.
40. Stoll M. S., Zenone E. A., Ostrow S. D., Zaremba J. E. Abstracts of V Annual Meeting of the American Society for Photobiology, 1977, p. 97.
41. McDonagh A. F. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, v. 244, p. 553.
42. McDonagh A. F. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1971, v. 44, p. 1306.
43. Land E. J. Photochem. Photobiol., 1976, v. 24, p. 475.
44. Sloper R. W., Truscott T. G. Ibid., 1980, v. 31, p. 445.
45. Matheson J. B. S., Carry N. U., Lee J. J. Am. Chem. Soc., 1974, v. 96, p. 3348.
46. Lightner D. A., Cu A. Life Sci., 1977, v. 15, p. 723.
47. Lightner D. A., Quistad G. B. Science, 1972, v. 175, p. 324.
48. Ostrow J. D., Branham R. V. Gastroenterology, 1970, v. 58, p. 15.
49. McDonagh A. F. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, v. 48, p. 408.
50. Lightner D. A., Crandall D. C. FEBS Letters, 1972, v. 20, p. 53.
51. Bonnett R., Stewart J. C. M. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1975, p. 324.
52. Kurtin W. E. Photochem. Photobiol., 1978, v. 27, p. 503.
53. Gray C. H., Kulczycka A., Nicholson D. C. J. Chern. Soc., Perkin Trans. I, 1972, p. 288.
54. Lightner D. A., Quistad G. B. FEBS Letters, 1976, v. 25, p. 94.
55. Bonnett R. Biochem. Soc. Trans., 1976, v. 4, p. 222.
56. Bonnett R. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1973, v. 206, p. 722.
57. Velapoldi R. A., Menis O. Clin. Chem., 1971, v. 17, p. 1165.
58. Ostrow J. D. Metabolism and Chemistry of Bilirubin and Related Tetrapyrrolics. Oslo, 1975, p. 199.
59. Berry C. S., Zaremba S. E., Ostrow J. D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, v. 49, p. 1366.
60. Lightner D. A. Fogarty Int. Proc., 1976, № 35.

61. Pedersen A. O., Schonheyder F., Brodersen R. *Europ. J. Chem.*, 1977, v. 72, p. 213.
62. Rubatelli F. F., Jori G. *Photochem. Photobiol.*, 1979, v. 29, p. 991.
63. Cremer R. J., Perryman P. W., Richards D. H. *Lancet*, 1958, v. 1, p. 1094.
64. Broughton P. M. J., Rossiter E. J. R., Warren C. B. M., Joulis J., Lord R. S. *Arch. Dis. Childhood*, 1965, v. 40, p. 666.
65. Maisels M. J. *Pediat. Clin. North. Amer.*, 1972, v. 19, p. 447.
66. Lund A. F., Jacobsen J. J. *Pediat.*, 1974, v. 85, p. 262.
67. Raethell H. A. *Ibid.* 1975, v. 87, p. 110.
68. Сахаров В. Н., Фаерман А. И. *Вопр. охр. матер. и дет.*, 1979, т. 24, с. 40.
69. Vogl T. P. *J. Pediat.*, 1974, v. 85, p. 707.
70. Lund H. S., Jacobsen J. J. *Acta Pediat. Scand.*, 1972, v. 61, p. 1.
71. Kapoor C. L., Krishna Murti C. R., Bajpai P. S. *Biochem. J.*, 1975, v. 142, p. 567.
72. Peterman H. D. *Kinderärztl. Prax.*, 1971, v. 39, p. 271.
73. Wu P. J. *Pediat.*, 1974, v. 85, p. 563.
74. Hodgman J. E., Teberg A. *Bilirubin Metabolism in the Newborn*. New York: Elsevier, 1970, p. 75.
75. Teberg A., Hodgman J. E. *Clin. Res.*, 1971, v. 19, p. 224.
76. Kopelman A. E., Brown R. S., Odell G. B. *J. Pediat.*, 1972, v. 81, p. 466.
77. Saeki K. *Japan. J. Gastroenterology*, 1932, v. 4, p. 153.
78. Blum H. F., Pacci N., Garrett R. L. *J. Cell Comp. Physiol.*, 1937, v. 9, p. 217.
79. Cheung W. H., Sawitsky A., Isenberg H. D. *Transfusion*, 1966, v. 6, p. 473.
80. Odell G. B., Brown R. S., Kopelman A. E. *J. Pediat.*, 1972, v. 81, p. 473.
81. Girotti A. W. *Biochemistry*, 1975, v. 14, p. 3377.
82. Speck W. T., Rosenkranz H. S. *Pediat. Res.*, 1975, v. 9, p. 703.
83. Oh W., Karcic H. *Amer. J. Childr.*, 1972, v. 124, p. 230.
84. Behrman R. E. *J. Pediat.*, 1974, v. 84, p. 135.
85. Lucey J. F. *J. Perinat. Med.*, 1973, v. 1, p. 147.

Институт химической физики АН СССР,
Москва
