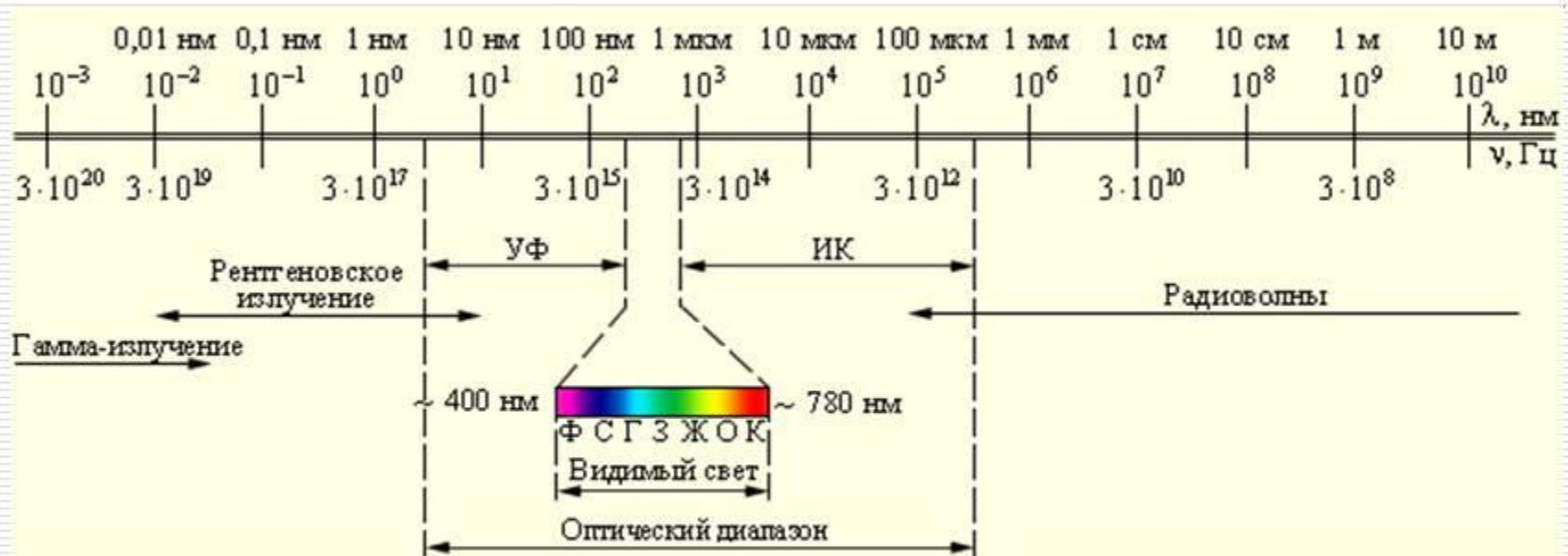


# Фотобиология

наука о биологических процессах,  
инициированных в биосистемах  
действием света, поглощённым одним  
или несколькими хромофорами этих  
систем

# 2. ОПТИЧЕСКИЙ ДИАПАЗОН (ОПТИКА)



Для физического анализа происходящих процессов выделение столь узкого диапазона видимого света не имеет особого смысла, поэтому вводят понятие «**оптический диапазон**», включая в него **видимый свет**, а также инфракрасное и ультрафиолетовое излучение.

Границы оптического диапазона достаточно условны. Они определяются способом получения и регистрации электромагнитных волн.

Для оптического диапазона основным механизмом является излучение электрона в атоме при переходе между энергетическими уровнями.

## II. Стадии фотобиологических процессов:

1. Поглощение фотона света ( $h\nu$ ) молекулой-акцептором
2. Внутримолекулярный перенос энергии
3. Меж-молекулярный перенос энергии
4. Первичный фотохимический акт (образование нестабильных фотопродуктов из возбужденных состояний  $S_1$  или  $T_1$  )
5. Темновые реакции, приводящие к образованию стабильных фотопродуктов
6. Биохимические реакции с участием стабильных фотопродуктов
7. Физиологический ответ организма на действие света

### ПРОЦЕССЫ

1-3 – физические

4-6 – химические

7 – физиологические

# Общая схема стадий фотобиологических процессов

Поглощение света  
возбуждение  
молекул

Миграция  
энергии

Переход в  
триплетное  
состояние

Фотохимические  
реакции

Люминес-  
ценция

Растрата  
энергии в  
тепло

Развитие фотобиологического процесса при поглощении света не является единственно возможным вариантом трансформации световой энергии.

Биохимические  
реакции

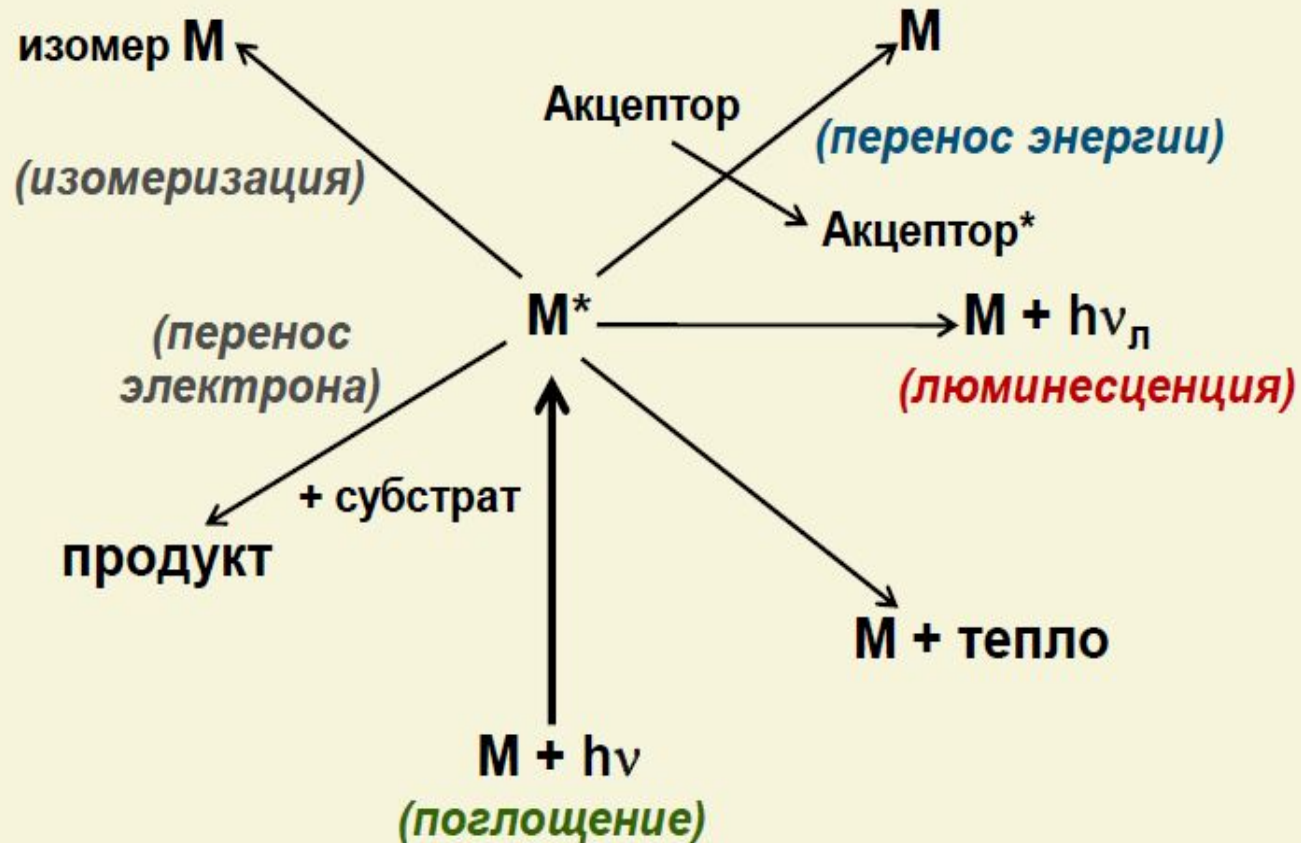
Физиологический  
акт

Возбужденные молекулы могут также расходовать свою энергию на тепло, высвечивание квантов люминесценции, на миграцию энергии между молекулами или переход в триплетное состояние.

# Первичные способы растраты энергии электронно-возбужденными молекулами

## Химические процессы

## Физические процессы



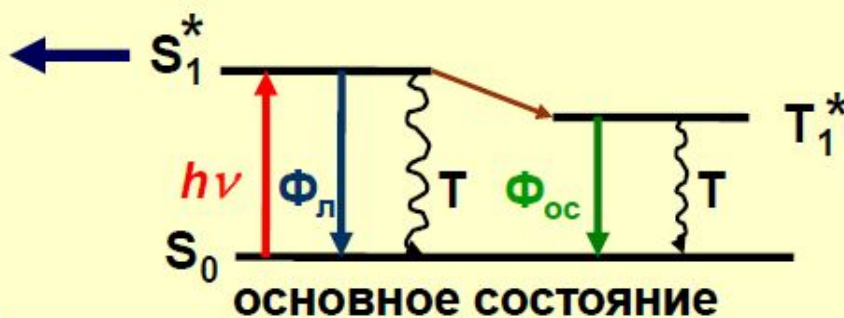
# III. Квантовый выход фотохимической реакции

Пути растраты энергии при поглощении фотона света ( $h\nu$ )

Фотохимическая реакция



стадии 3-6  
фотопроцесса



S= синглетное состояние  
T= триплетное состояние

$h\nu$  поглощение

$\Phi_l$  = флуоресценция

T = тепло

$\Phi_{oc}$  = фосфоресценция

Каждая возбужденная молекула растрчивает энергию путем только одного процесса (флуоресценции или фосфоресценции, или тепла, или фотохимической реакции)

Квантовый выход фотохимической реакции:

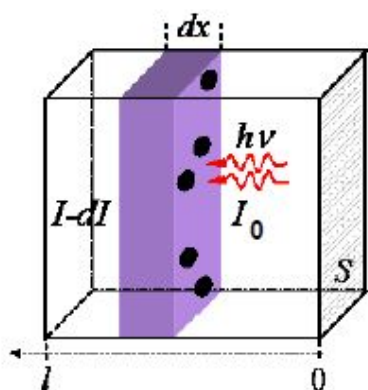
$$\varphi_x = \frac{\text{Число молекул, вступивших в фотохимическую реакцию}}{\text{Число молекул, поглотивших фотон}}$$

$\varphi_x$  не зависит от длины волны падающего света ( $\lambda$ )

$$0 \leq \varphi_x \leq 1$$

## IV. Эффективное сечение молекулы для фотохимического превращения

### Закон поглощения света Бугера-Ламберта-Бера



$$\ln(I_0 / I) = S n l$$

$n$  = концентрация молекул  
 $I_0$  = интенсивность падающего света  
 $I$  = интенсивность света после поглощения  
 $S$  = эффективное сечение поглощения  
 $l$  = толщина образца

Эффективное сечение для фотохимического превращения:

$$\sigma = S \varphi_x$$

$\varphi_x$  : квантовый выход фотореакции

$S$  : эффективное сечение поглощения

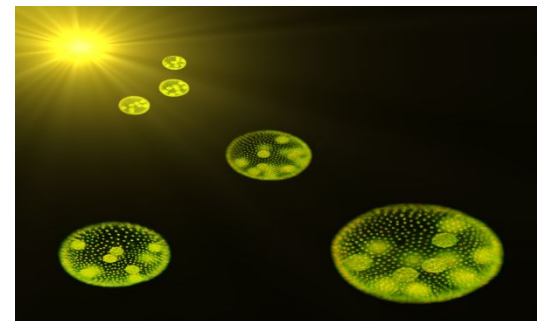
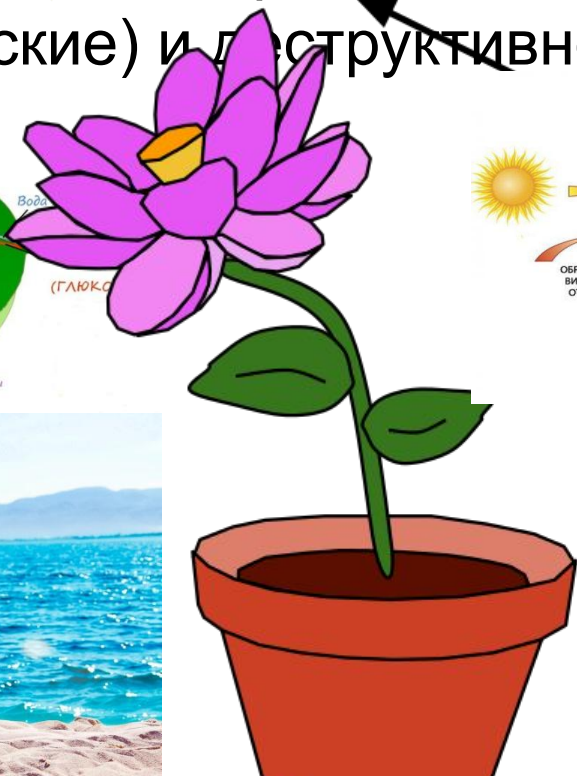
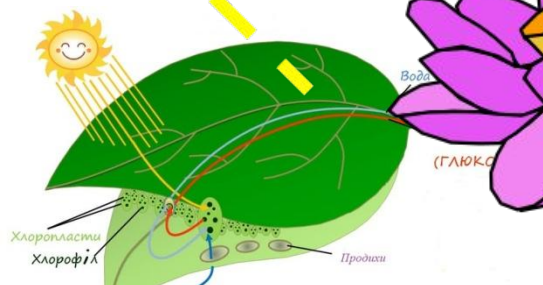
➔  $\sigma$  зависит от длины волны света ( $\lambda$ )

➔  $\sigma$  пропорционально вероятности такого взаимодействия фотона света с молекулой, в результате которого произойдет фотохимическая реакция

Фотобиологические процессы можно систематизировать как с энергетической, так и с биологической стороны.

В первом случае говорят об эндогенных и экзогенных фотобиологических реакциях.

С биологической, функциональной стороны фотобиологические реакции можно условно подразделить на собственно физиологические (информационные и синтетические) и деструктивно-модифицирующие.





**Свет обладает избирательным действием  
(в отличие от рентгеновского и гамма-излучения)**

**Это обусловлено тем, что кванты света  
поглощаются молекулами, тогда как кванты  
рентгеновского излучения и гамма излучения  
поглощаются атомами**

**Меняя длину волны, можно избирательно  
запускать те или иные фотобиологические  
процессы**

## V. Фотомедицина. Фототерапия

**Фотомедицина** – это раздел медицины, в котором световое излучение применяют для диагностики и лечения

- ➔ **Фототерапия** - применение излучения (УФ, красного, ИК) для лечения кожных, аутоиммунных, онкологических заболеваний
- ➔ Свет, который применяется при фототерапии, поглощается специфическими **хромофорами** в тканях
- ➔ **Эндогенные хромофоры:** ДНК, белки, гемоглобин  
**Экзогенные хромофоры:** фоточувствительные красители (фотосенсибилизаторы)

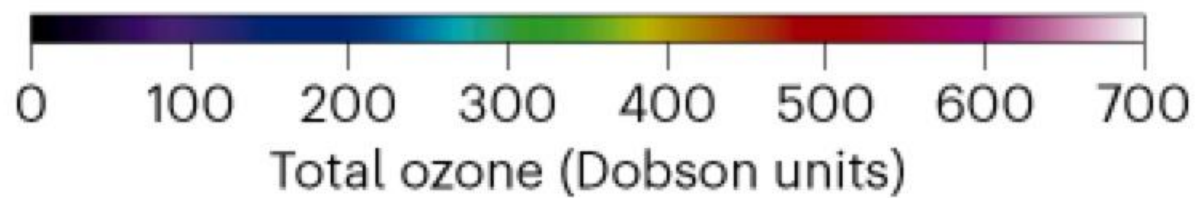
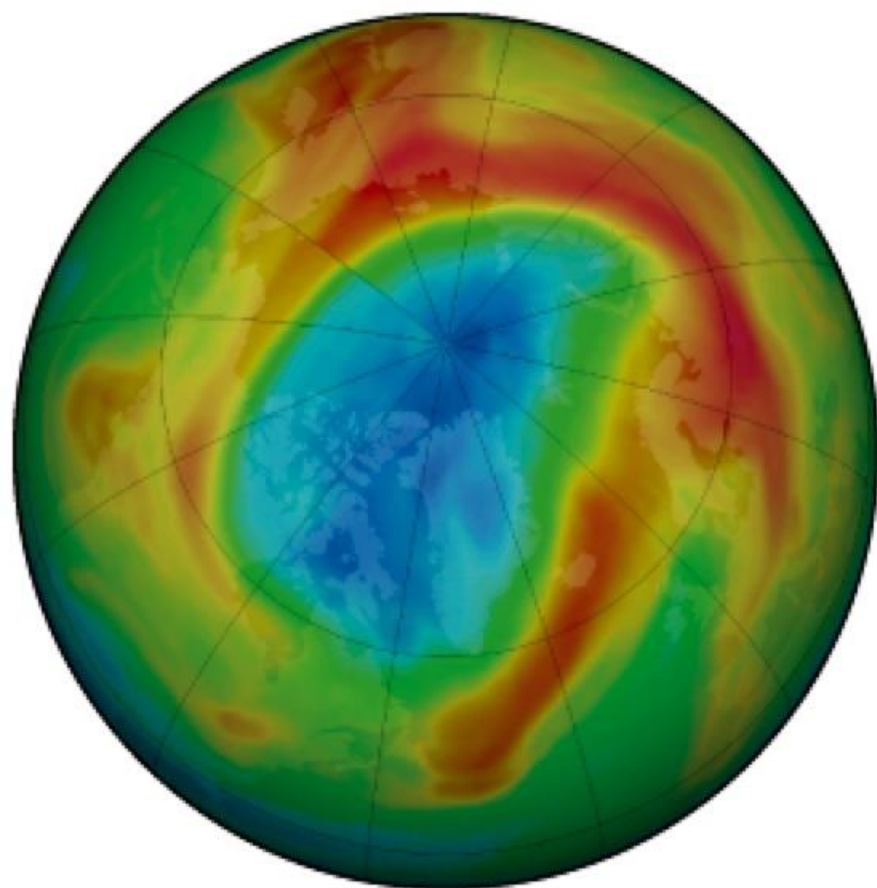
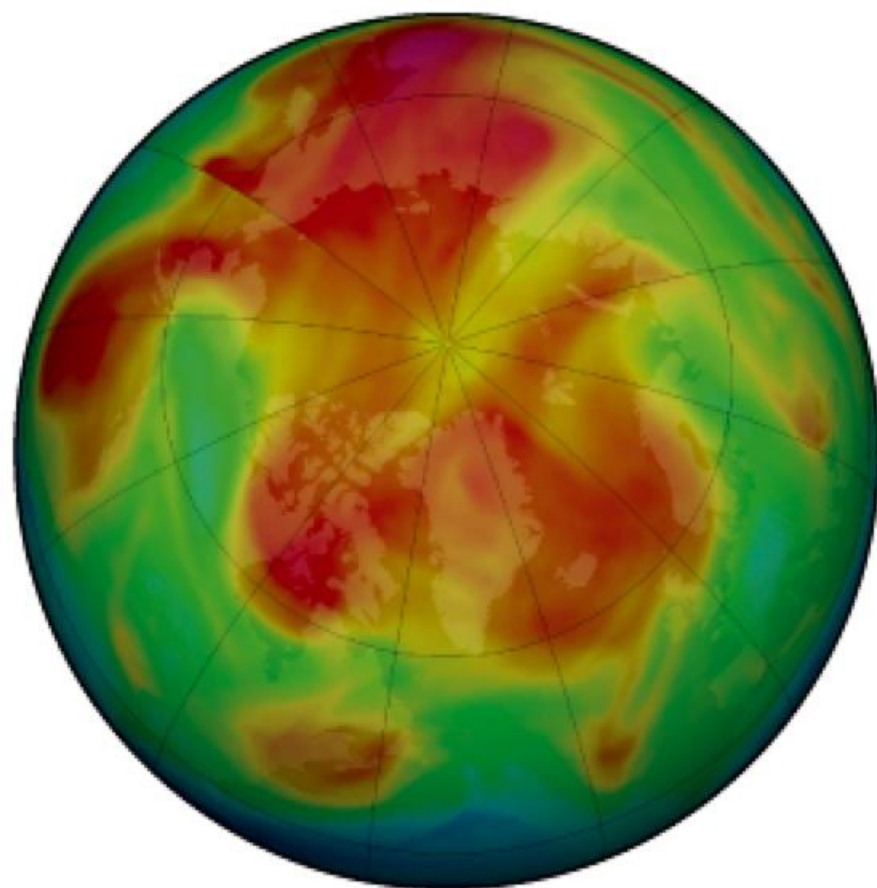
# Озоновые дыры

- Озоновая дыра - локальное падение концентрации озона в озоновом слое Земли. По общепринятой в научной среде теории, во второй половине XX века всё возрастающее воздействие антропогенного фактора в виде выделения хлор- и бромсодержащих фреонов привело к значительному утончению озонового слоя



**23 March 2019**

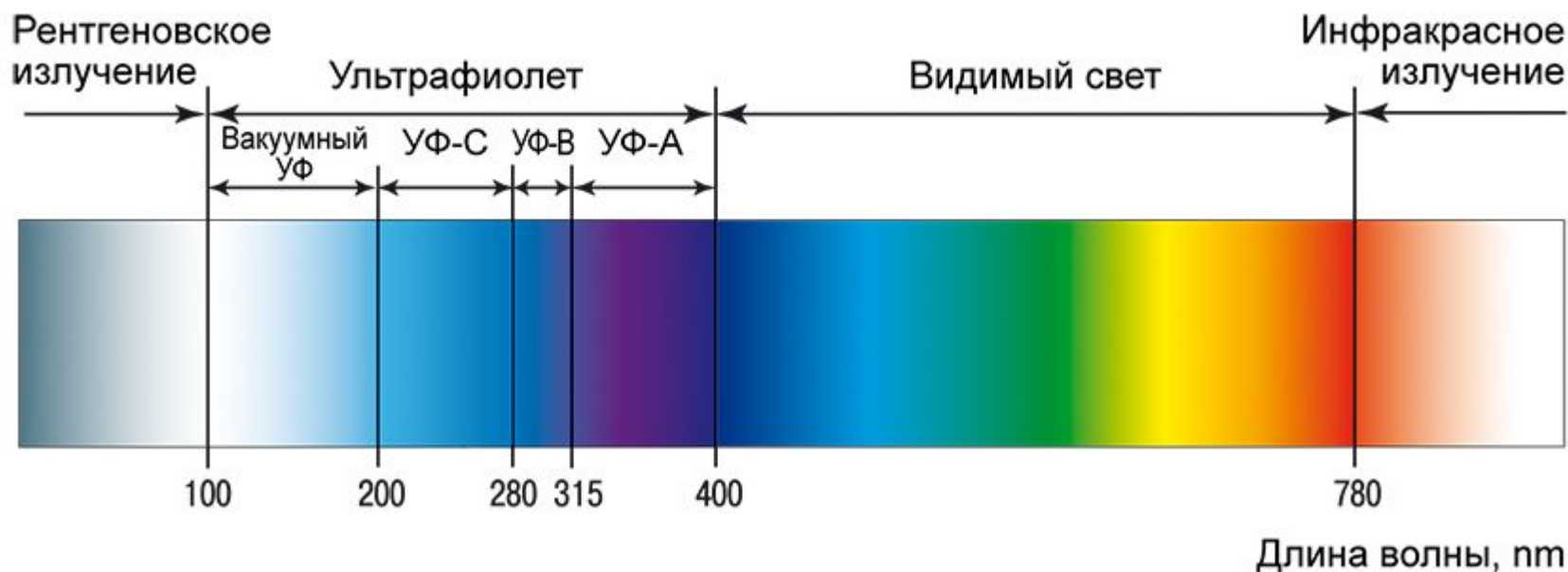
**23 March 2020**



УФ-излучение относится к группе излучений электромагнитной природы. В спектре электромагнитных колебаний УФ-область располагается между рентгеновскими лучами и видимым светом, занимая диапазон длин волн  $\sim 2-400$  нм с энергией кванта  $125 \div 3$  эВ ( $1 \text{ эВ} = 1,6 \cdot 10^{-12} \text{ Эрг} = 23 \text{ ккал/моль}$ ).

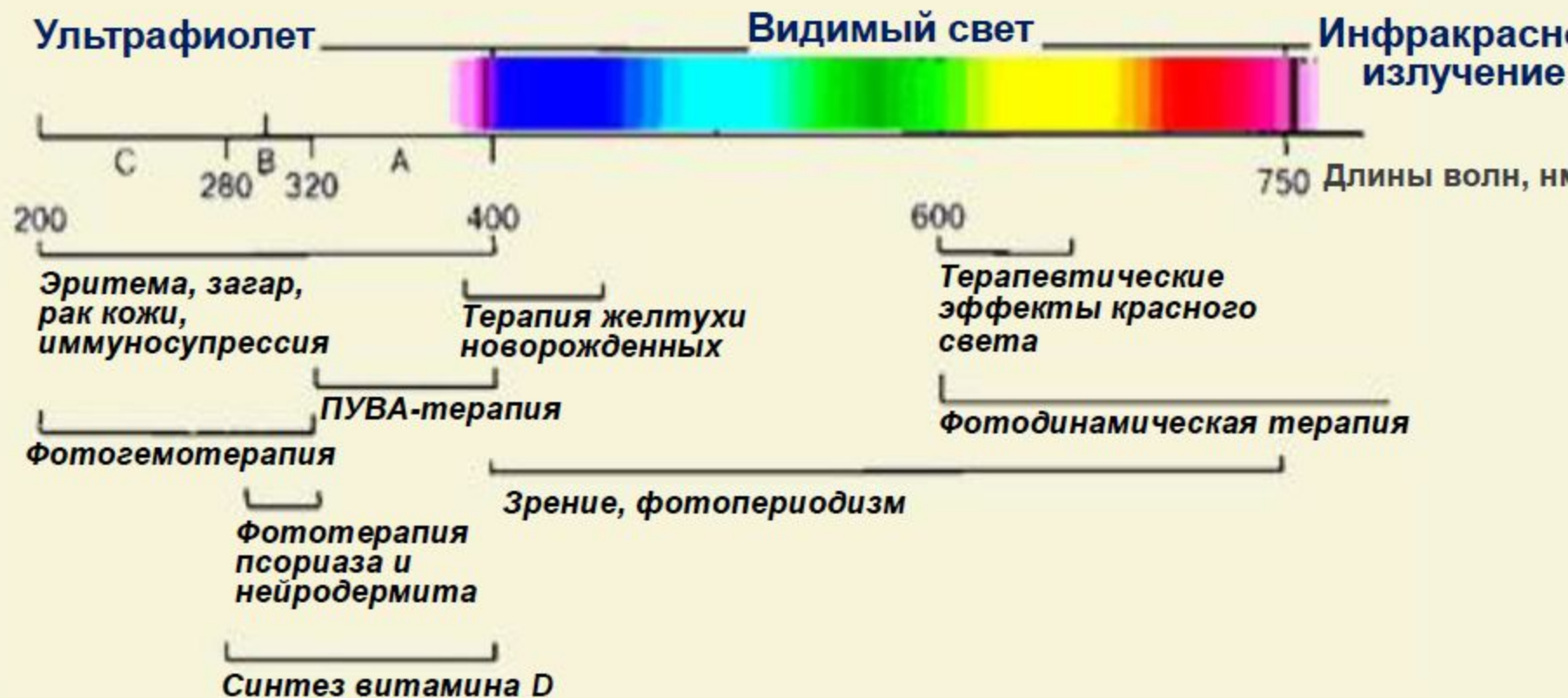
Поверхности Земли УФ-свет достигает в диапазоне 287-400 нм с энергией квантов  $\sim 3-4$  эВ. Коротковолновая часть спектра УФ-излучения Солнца, как отмечалось выше, полностью поглощается озоновым слоем атмосферы. В биологических исследованиях в настоящее время изучается преимущественно УФ-излучение в диапазоне 190 - 400 нм.

В области длин волн ниже 200 нм УФ-свет сильно поглощается всеми телами, в том числе и тонкими слоями воздуха, поэтому мало исследуется в биологии и медицине. Это вакуумный УФ-свет. Остальную часть УФ-спектра условно делят на области: УФ-С (коротковолновый свет, 200 – 280 нм), УФ-В (средневолновый, 280 – 315 нм) и УФ-А (длинноволновый, 315 – 400 нм).



# Избирательность действия света:

Воздействие света разных длин волн вызывает разные фотобиологические эффекты



## Спектральная характеристика основных биологических эффектов УФ-излучения

| Биологический эффект                              | Диапазон длин волн,<br>нм |
|---|---------------------------|
| Загар   | 280-400                   |
| Эритема   | 250-320                   |
| Антирахитическое действие                         | 260-310                   |
| Канцерогенное действие                            | 260-320                   |
| Летальное, антимитотическое действие<br>на клетки | 200-320                   |
| Мутагенное действие на клетки и<br>вирусы         | 200-320                   |



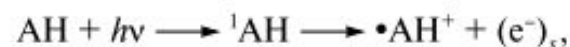
# Действие УФ-излучения на белковые системы

Фоточувствительность аминокислот при 254 нм

| Соединение                           | Фотохимические свойства  |        |  |
|--------------------------------------|--------------------------|--------|--|
|                                      | $\epsilon$ , л/моль · см | $\phi$ | $\sigma \cdot 10^{20}$ , см <sup>2</sup> |
| Цистин (S-S-связь)                   | 270                      | 0,13   | 13,4                                     |
| Триптофан                            | 2870                     | 0,004  | 4,4                                      |
| Тирозин                              | 140                      | 0,013  | 0,69                                     |
| Фенил аланин                         | 320                      | 0,002  | 0,23                                     |
| Ацетилаланин<br>(пептидные<br>связи) | 0,2                      | 0,05   | 0,004                                    |
| Гистидин                             | 0,24                     | <0,03  | <0,0027                                  |

## ПЕРВИЧНЫЕ СТАДИИ ФОТОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Электронно-возбужденные молекулы, обладая избытком энергии, охотно вступают в химическое взаимодействие с другими молекулами (фотохимические реакции), при этом вероятность вступить в реакцию с синглетного и триплетного уровней различна по двум причинам. С одной стороны, энергия молекулы в синглетном состоянии выше. Но, с другой стороны, в синглетном состоянии молекула живет  $10^{-8}$ – $10^{-9}$  с, а в триплетном –  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  с (при комнатной температуре), то есть в тысячи раз дольше. Таким образом, в триплетном состоянии энергии меньше, но выше вероятность столкнуться с подходящей молекулой и вступить с ней в реакцию. В итоге в различных ситуациях преобладают реакции с участием либо синглетного, либо триплетного возбужденного состояния возбужденных молекул. Так, например, ароматические аминокислоты белков тирозин и триптофан под действием ультрафиолетового облучения отдают электрон молекулам окружающей их воды, который некоторое время может существовать в окружении диполей молекул  $H_2O$ :



где  $AH$  – молекула аминокислоты в основном состоянии,  ${}^1AH$  – молекула в синглетном возбужденном состоянии,  $\bullet AH^+$  – катион-радикал,  $(e^-)_s$  – сольватированный (захваченный средой) электрон. Эта реакция идет через синглетное возбужденное состояние аминокислоты. По другому механизму идут, например, реакции с участием фотосенсибилизаторов, к которым относятся, в частности, производные гематопорфирина, используемые при так называемой фотодинамической терапии [1] раковых заболеваний:

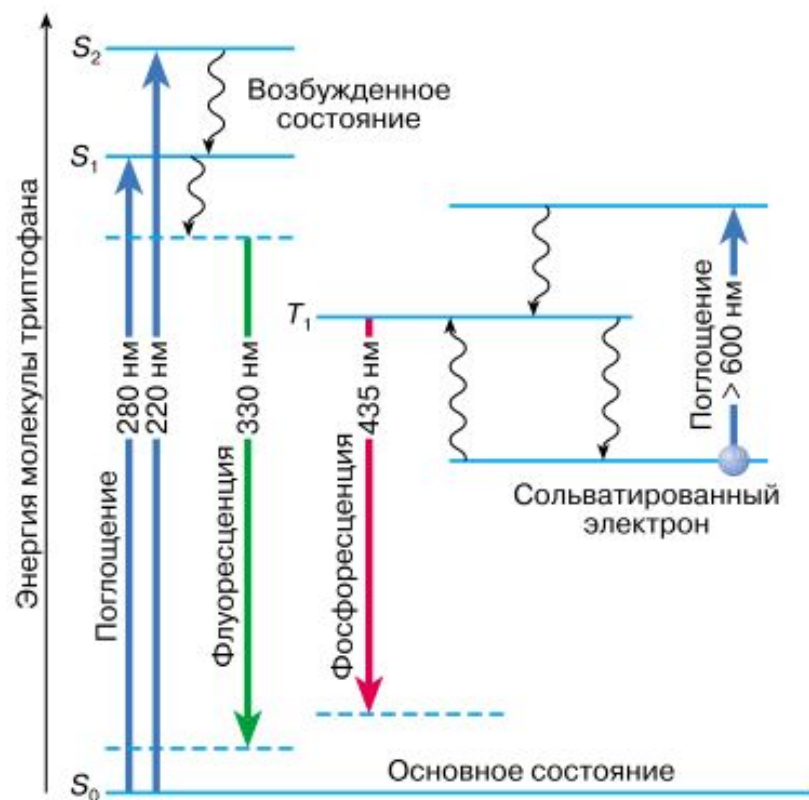
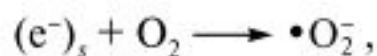


Рис. 2. Электронные переходы в аминокислоте триптофане

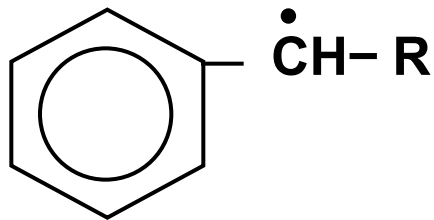
Судьба продуктов первичных фотохимических реакций в основном определяется их ближайшим окружением. Так, например, в растворах аминокислот тирозина, триптофана и фенилаланина, содержащих кислород, происходят реакции обоих продуктов фотохимического процесса: сольватированного электрона и свободных радикалов с молекулярным кислородом. В результате образуются супероксид-радикал ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) и диоксид-радикалы аминокислот ( $\text{A}\text{O}\text{O}\bullet$ ):



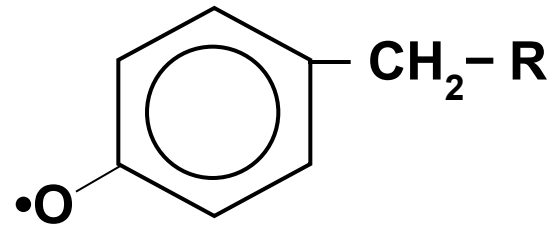
Появление диоксид-радикалов, по-видимому, служит началом цепного окисления, которое заканчивается образованием устойчивых продуктов окисления аминокислоты. Ниже приведены формулы радикалов тирозина и триптофана, а также устойчивых продуктов фотоокисления этих аминокислот.



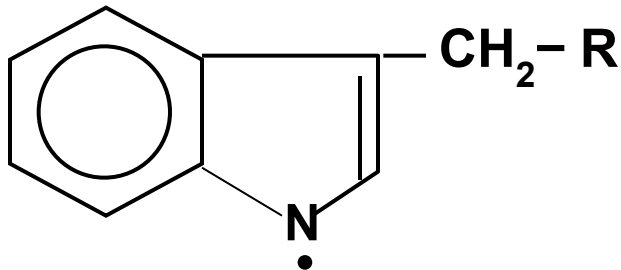
# Нейтральные радикалы, образующиеся при фотоионизации фенилаланина и триптофана



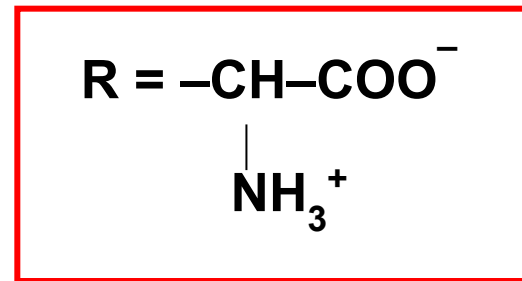
Радикал фенилаланина



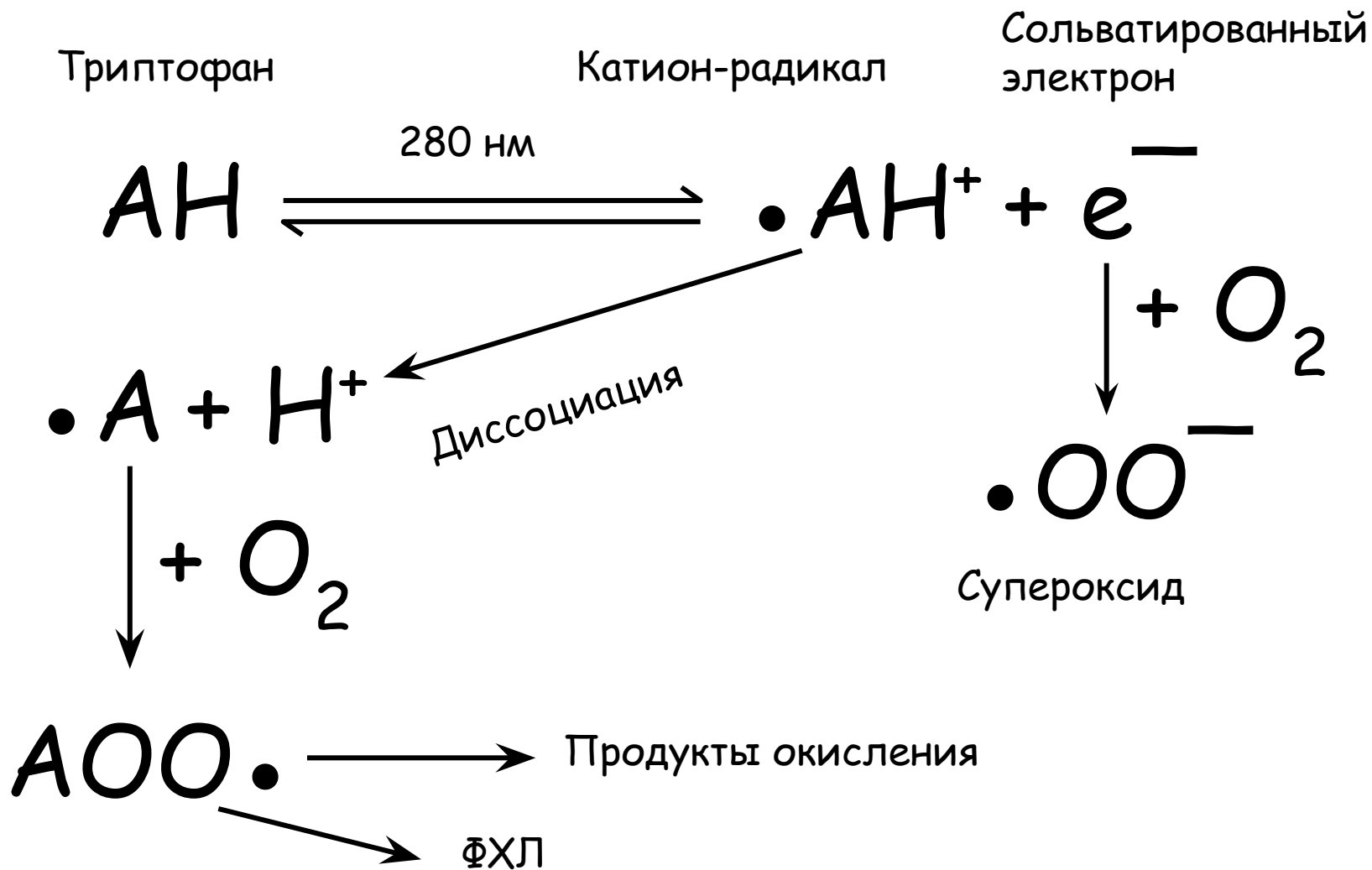
Радикал тирозина



Радикал триптофана



# Первичные фотопродукты триптофана



# Схема фотохимических реакций в белках

Нативный белок

Ароматические группы (АН)

SH и -SS- группы

$h\nu$  (280 нм)

$h\nu$  (254 нм)

АОО•

$A\bullet + H^+$

$\bullet AN^+ + e_s$

S-S СВЯЗИ

-SH

Радикалы цистина

Фотолиз S-S или C-S связей

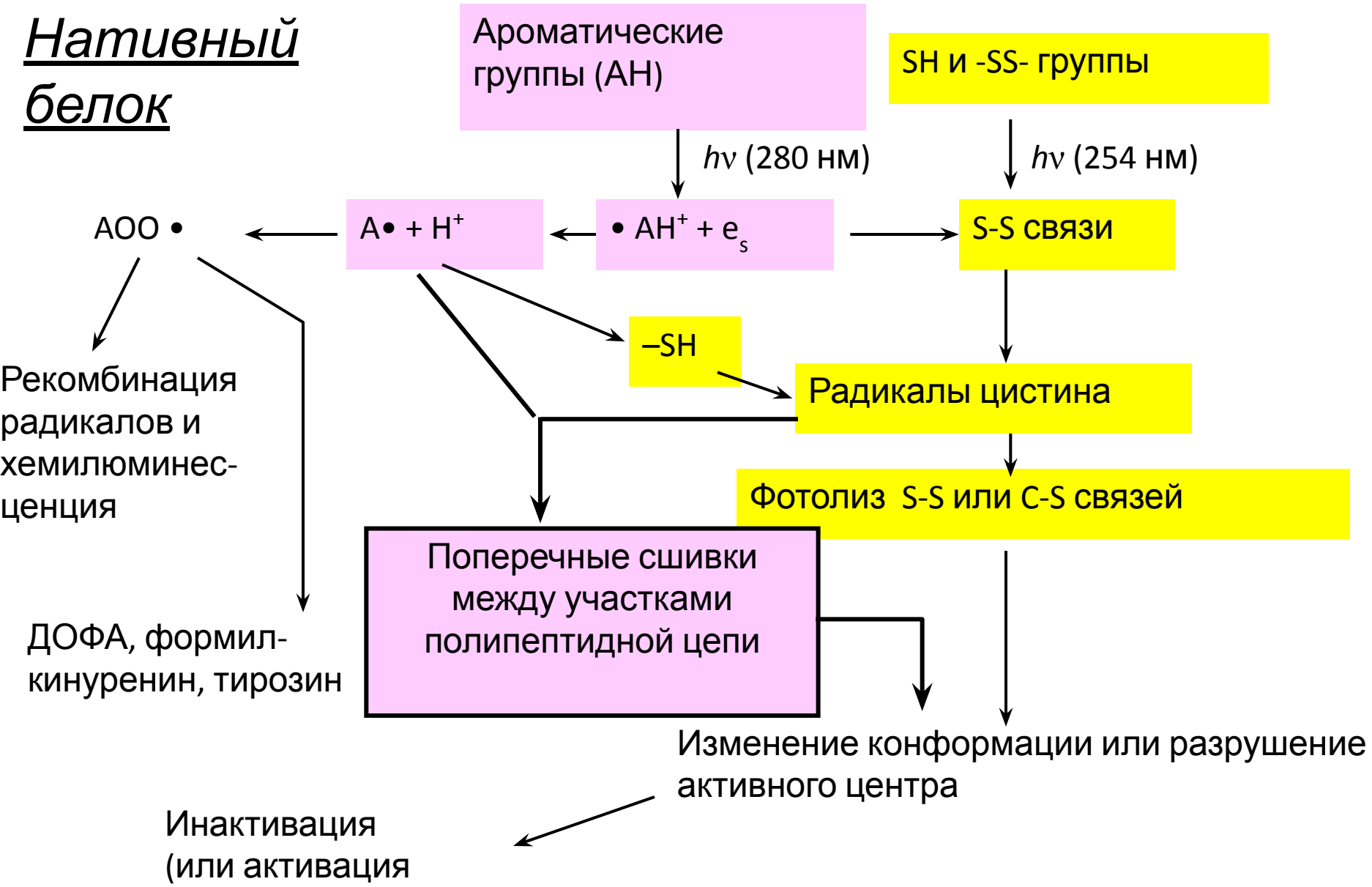
Поперечные сшивки между участками полипептидной цепи

Изменение конформации или разрушение активного центра

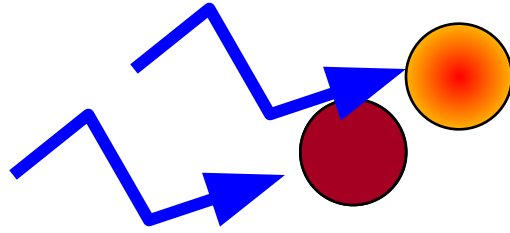
Инактивация (или активация)

Рекомбинация радикалов и хемилюминесценция

ДОФА, формил-кинуренин, тирозин



# Одноударная фотохимическая реакция



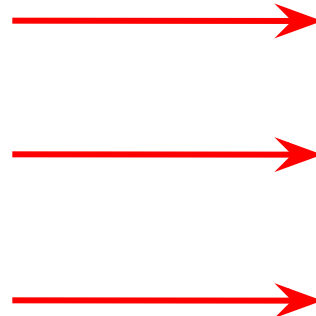
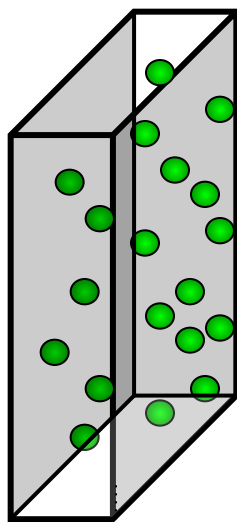
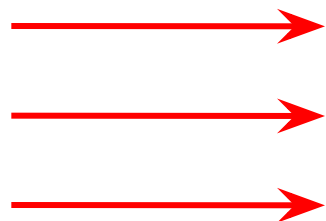
Инактивация ферментов происходит по **одноударному механизму**. Это означает следующее:

1. Каждая молекула повреждается независимо от других.
2. Поглотив свет, молекула может быть либо полностью выведена из строя, либо останется совершенно целой. Частичного повреждения не происходит.

# Одноударная фотохимическая реакция

Плотность потока  
(Интенсивность света)

$J_0$



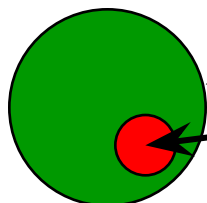
$J$



$S$

Поперечное сечение поглощения

$l$  - длина оптического пути



$S$

Поперечное сечение поглощения

$\sigma$

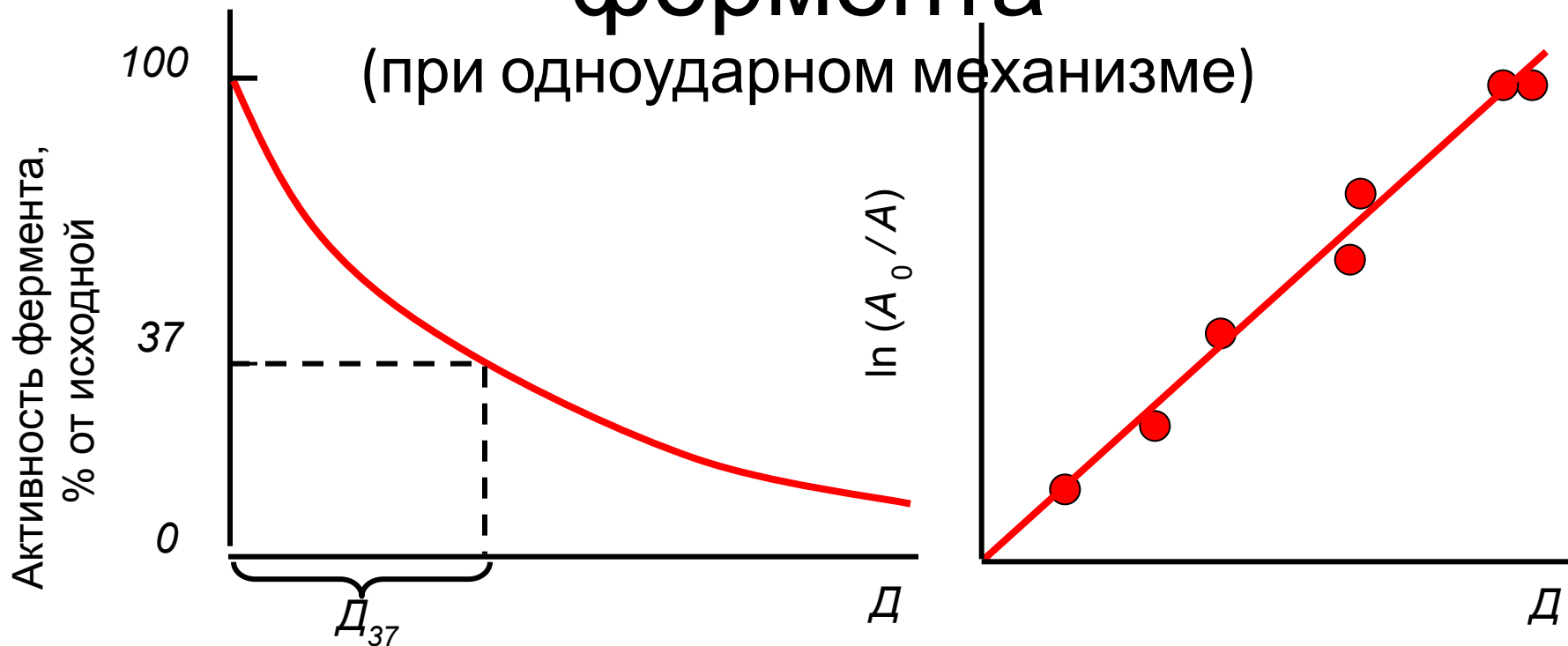
Поперечное сечение инактивации

$$Q - \text{Квантовый выход инактивации} = \sigma / S$$



# Кинетика инактивации фермента

(при одноударном механизме)



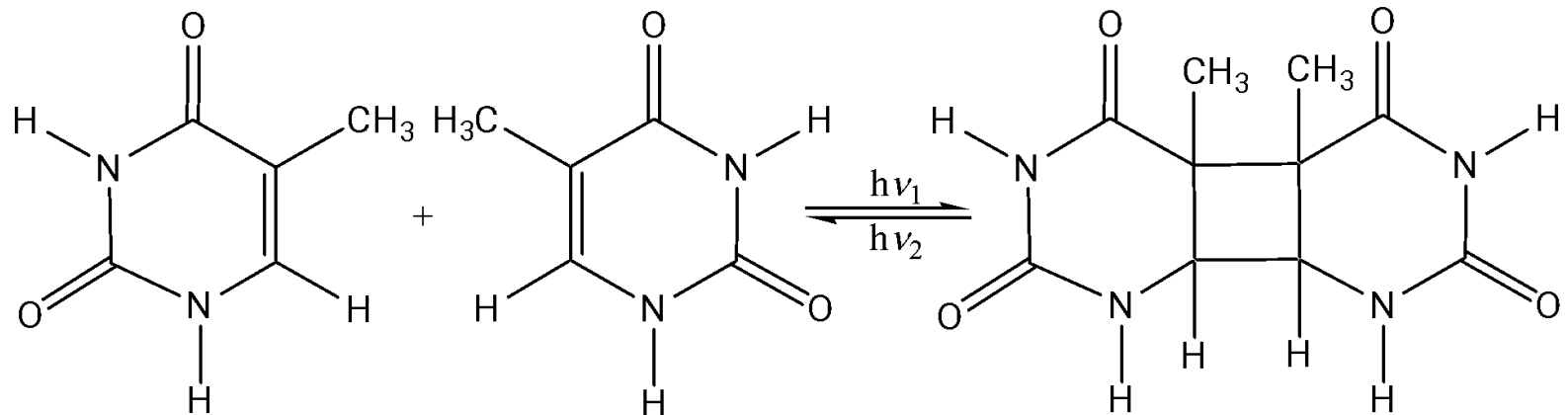
Определение поперечного сечения инактивации фермента:

$A_0$  и  $A$  - активности фермента перед облучением и после облучения дозой  $D$ .

# Действие УФ-излучения на нуклеиновые кислоты

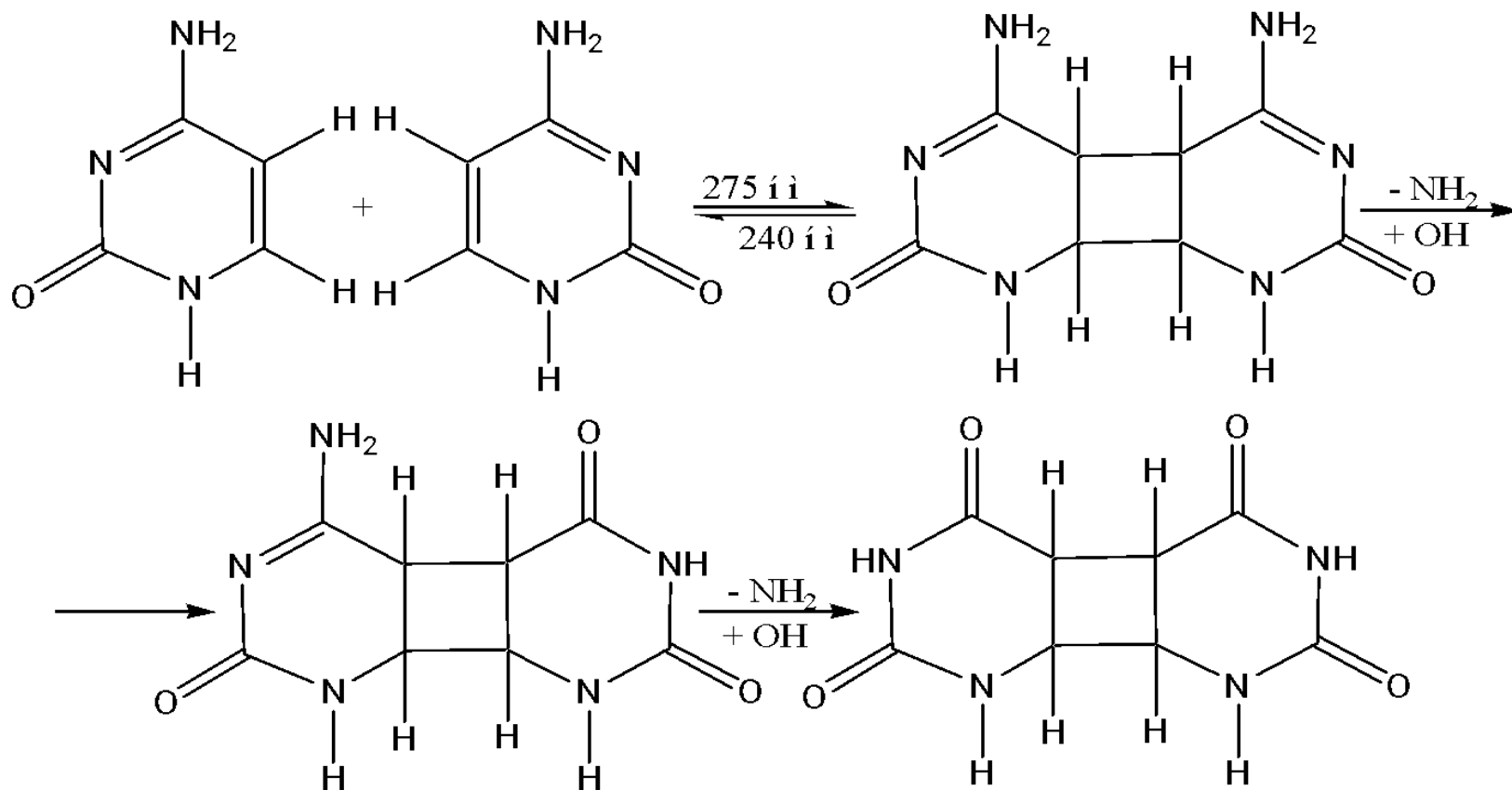
Фотохимические реакции нуклеиновых кислот – совокупность типов фотохимических реакций, приводящих к различным повреждениям нуклеиновых кислот и прежде всего ДНК. Это - образование фотодимеров тимина, урацила, цитозина, смешанных димеров; гидратация цитозина и урацила; внутримолекулярные и межмолекулярные сшивки ДНК; сшивки ДНК-белок; разрывы сахарофосфатного остова нуклеиновых кислот.

Пуриновые азотистые основания более фоторезистентны, чем пиримидиновые, поэтому нуклеиновые кислоты повреждаются преимущественно в результате протекания фотохимических реакций с участием пиримидиновых оснований.

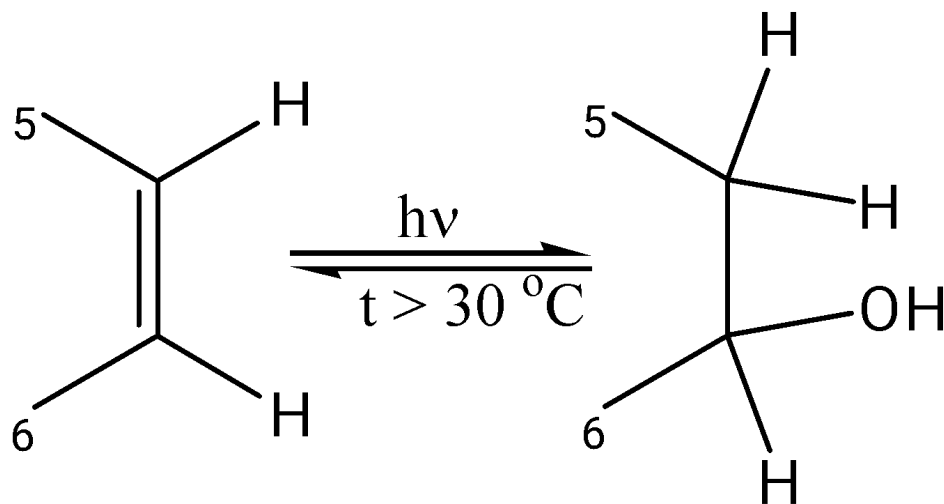


Фотодимеры тимина характеризуются максимумом поглощения около 240 нм. Под влиянием коротковолнового УФ-излучения (235-240 нм) димеры тимина мономеризуются: расщепляются на исходные мономеры

Фотодимеры цитозина обнаружены после УФ-облучения цитозина, цитидил-цитидина, ДНК. Фотодимеры цитозина неустойчивы и в темноте могут мономеризоваться или дезаминироваться с превращением в димеры урацила через стадию образования смешанного димера Ц-У



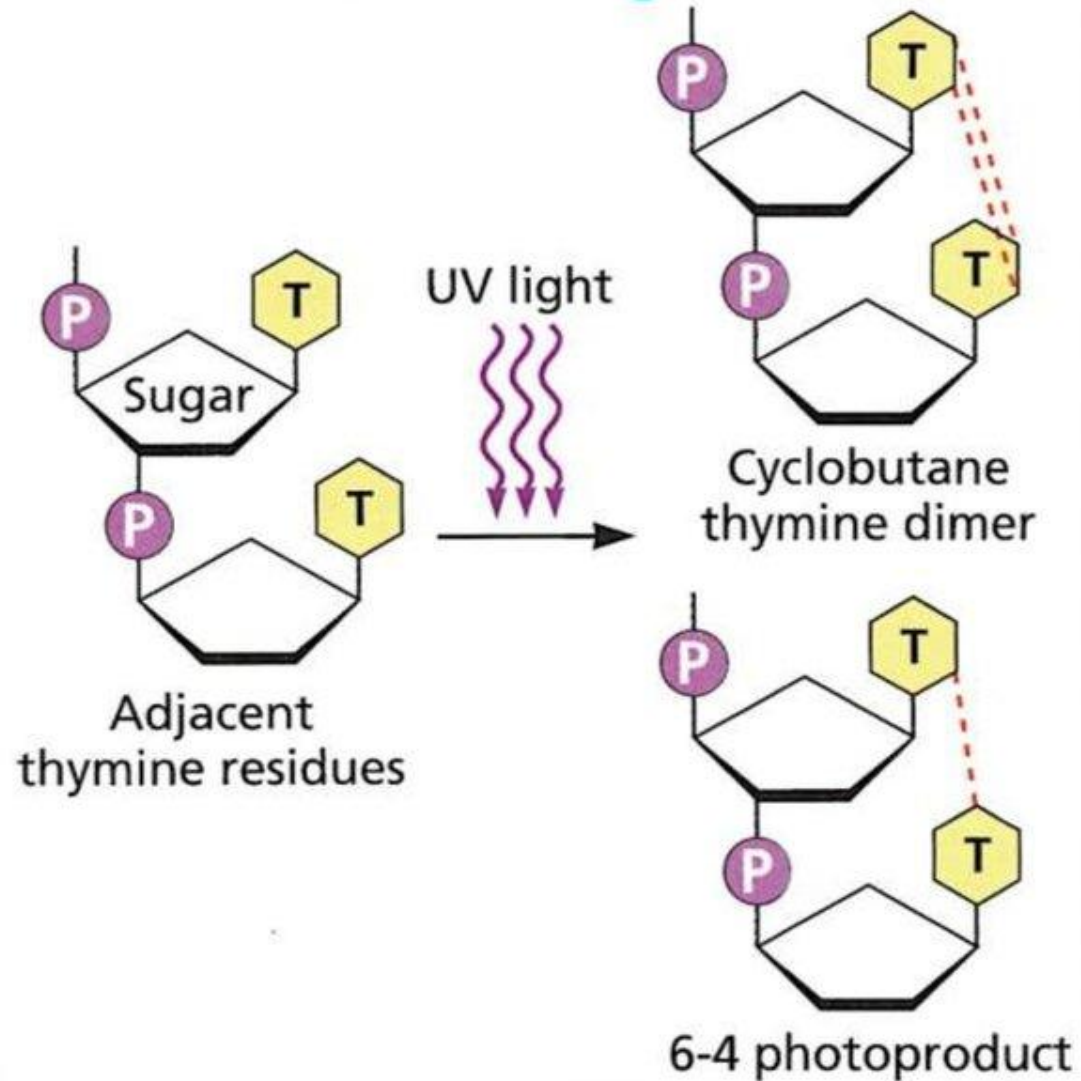
Реакция гидратации урацила и цитозина протекает под действием УФ-света в области 260-270 нм. Фотогидраты образуются в растворах урацила и цитозина, их ди- и полинуклеотидах (нуклеозидах), РНК и ДНК. Сущность реакции фотогидратации заключается в присоединении молекулы воды к пиримидиновому кольцу у 5,6-двойной связи с ее разрывом:



# Типы повреждений ДНК

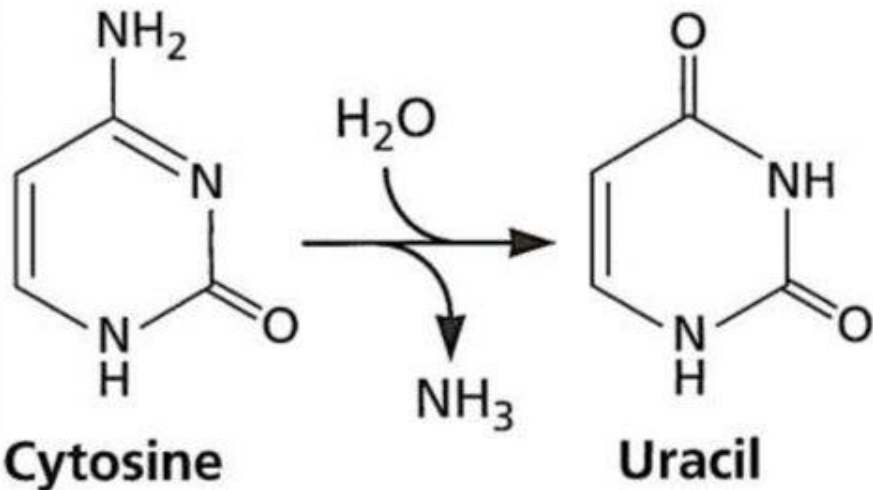
- Образование **ковалентных сшивок** между цепями ДНК под действием бифункциональных агентов;
- Образование **циклобутановых димеров**, возникающих при поглощении УФ, между соседними пиримидинами в цепи

## Cross-linking

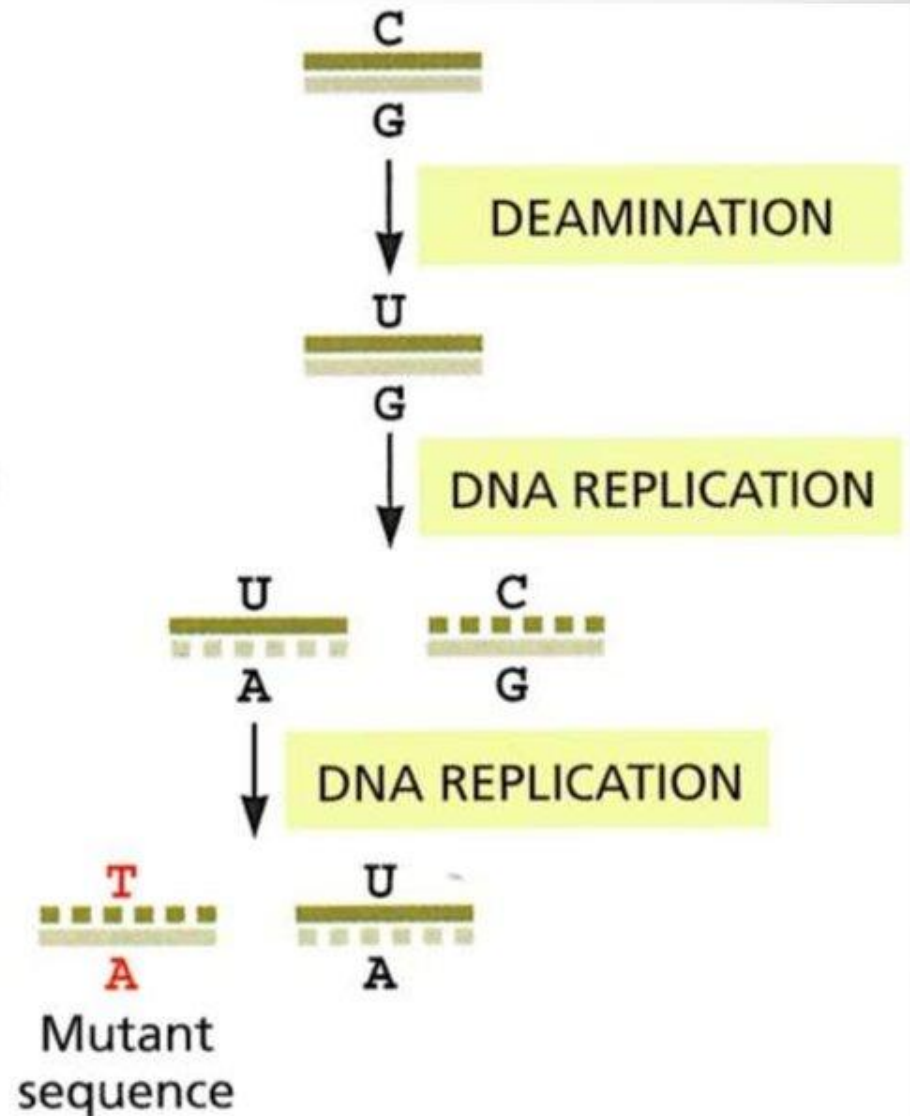


# Типы повреждений ДНК

## Deamination



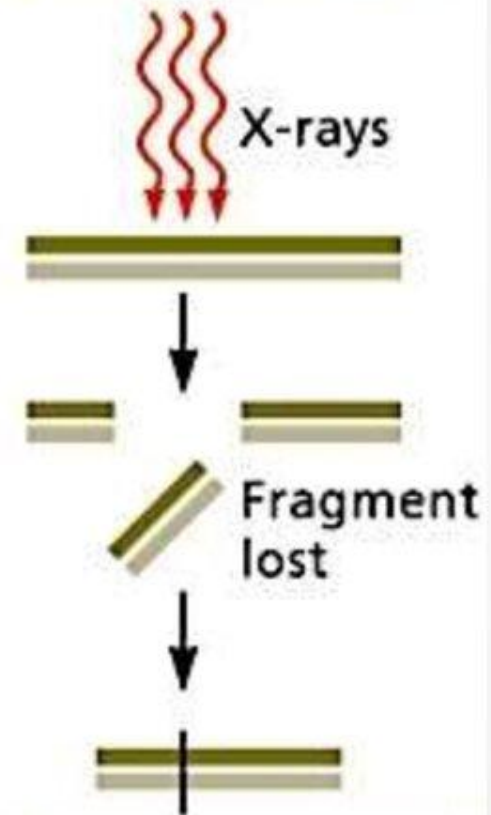
Спонтанное **дезаминирование** остатков цитозина и аденина с образованием, соответственно, остатков урацила и гипоксантина (примерно 100 событий на геном в сутки)



# Типы повреждений ДНК

**Двухцепочечные разрывы** индуцируются внеклеточными агентами, такими, как ионизирующая радиация и генотоксичные химические продукты, и спонтанно возникают в процессе репликации ДНК и образуются на непродолжительное время в процессе мейоза или рекомбинации в иммунной системе

dsDNA breaks



**DNA DELETION  
UPON LIGATION**

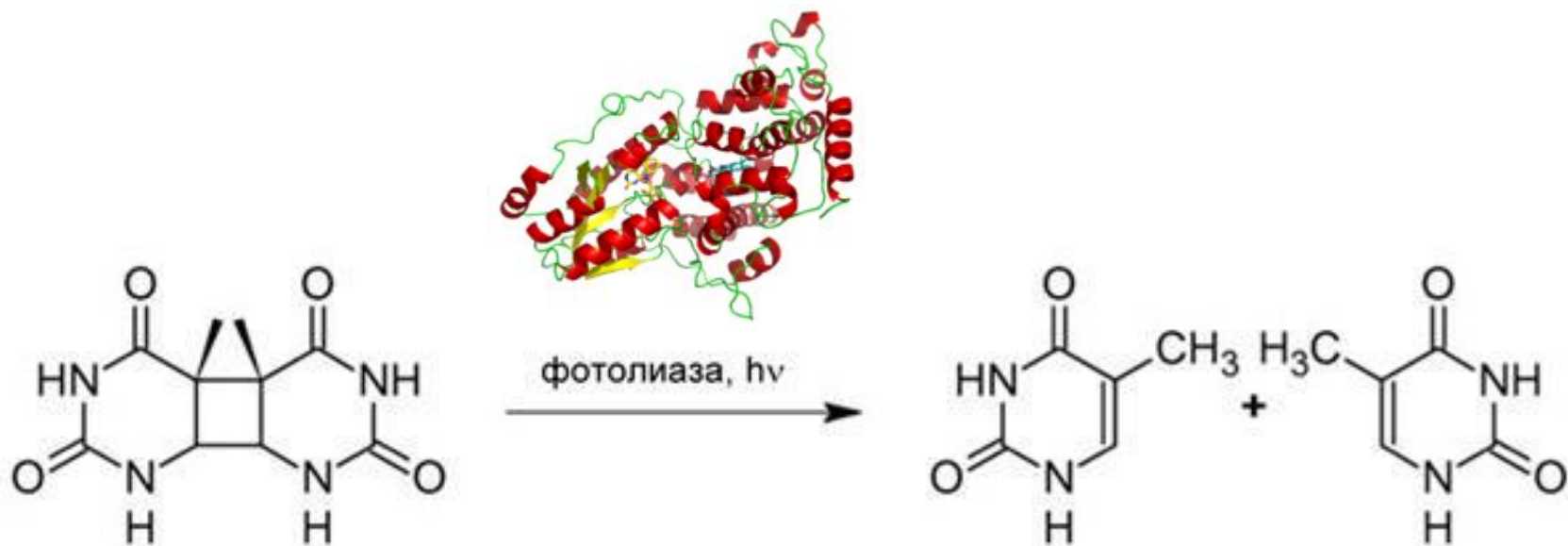


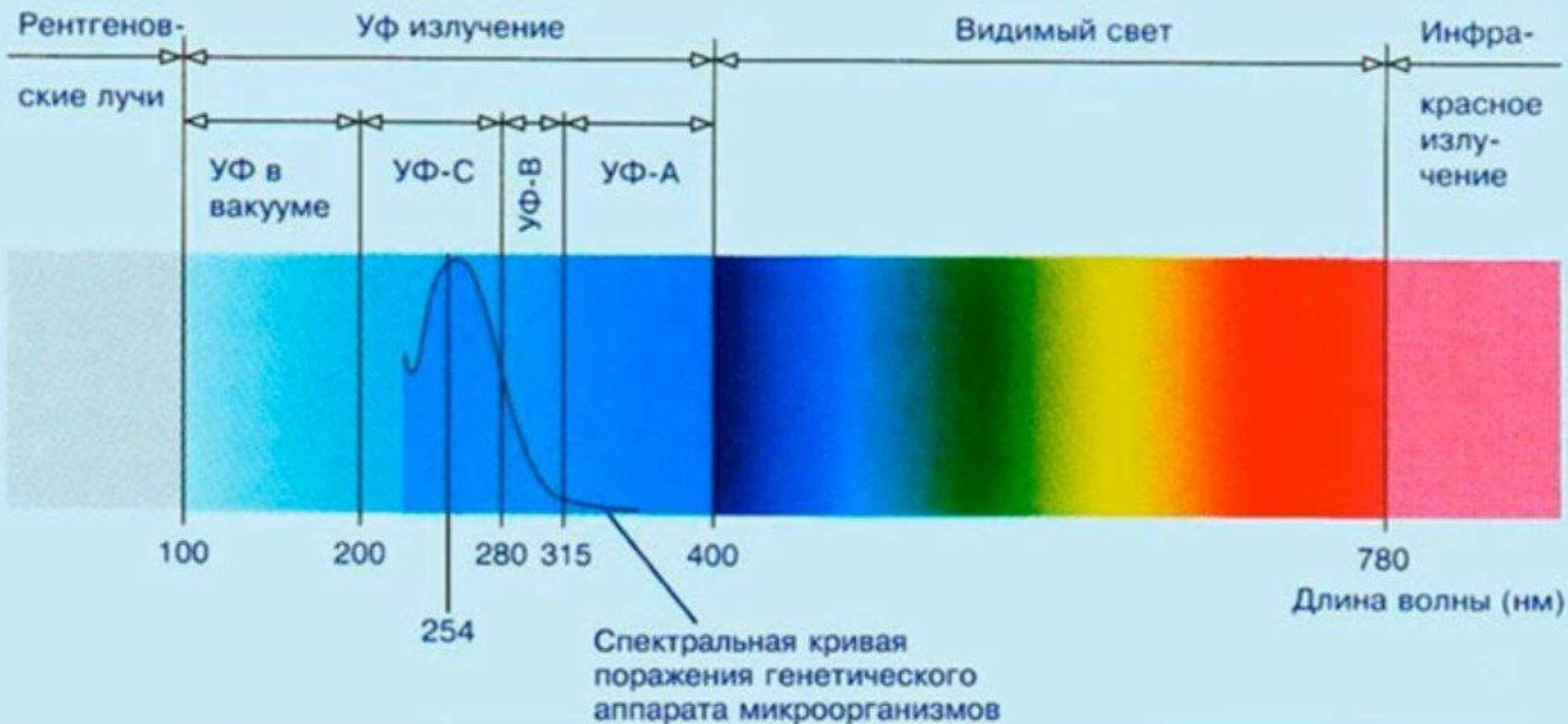
Рис. 1. Реакция, катализируемая фотолиазой. Фотон с длиной волны, соответствующей синему цвету, поглощается ферментом, и его энергия ( $h\nu$ ) используется для расщепления тиминового димера на отдельные тимины



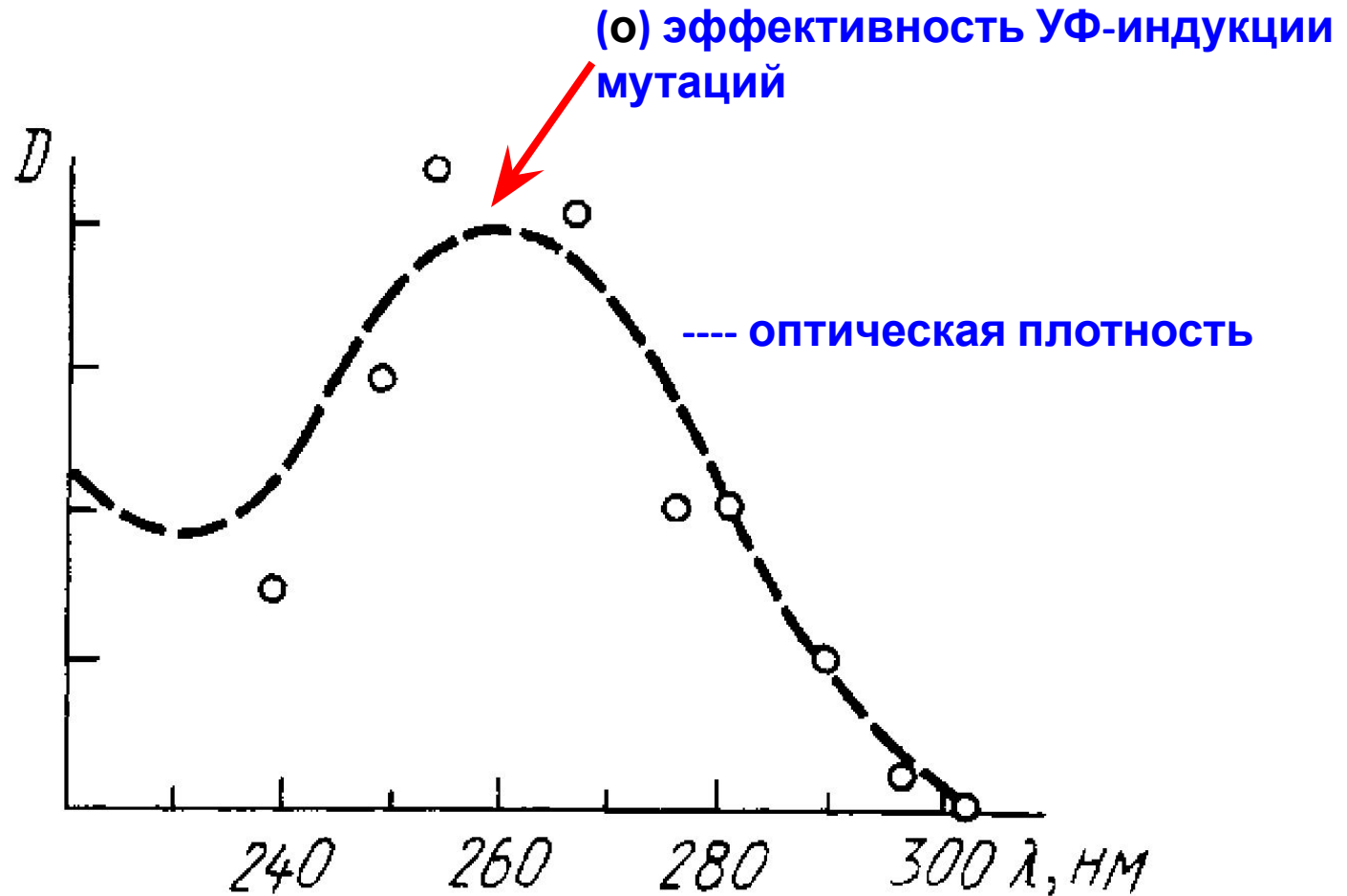
Ксеродерма пигментная (ретикулярный прогрессирующий меланоз) – наследственное заболевание кожи, проявляющееся повышенной чувствительностью к УФ-облучению, проявляется в возрасте двух-трех лет и постоянно прогрессирует. Является предраковым состоянием кожи. Встречается редко.



# Бактерицидное действие УФ-света



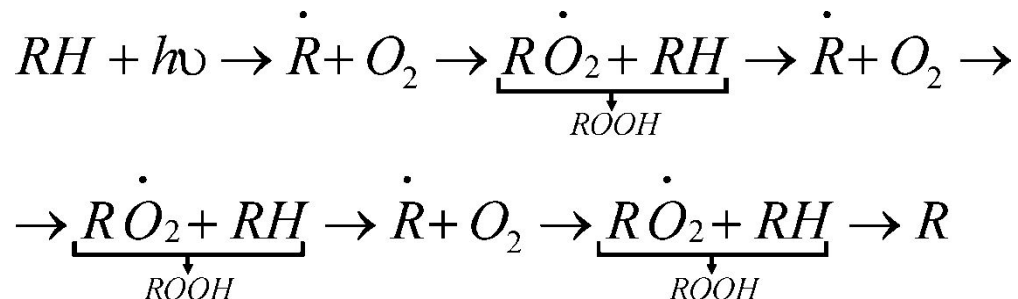
# Спектр действия возникновения мутаций у кукурузы



# Действие УФ-излучения на липиды и биологические мембраны

Пероксидное фотоокисление липидов - основная реакция превращения молекул липидов под влиянием УФ-излучения. Оно имеет важнейшее значение в процессах фотоповреждения биологических мембран

Квантовый выход реакции образования пероксидов значительно превышает 1 (например, 90 для окисления этиллинолеата). Это означает, что УФ-окисление липидов происходит по цепному, свободнорадикальному механизму в соответствии с такой последовательностью реакций



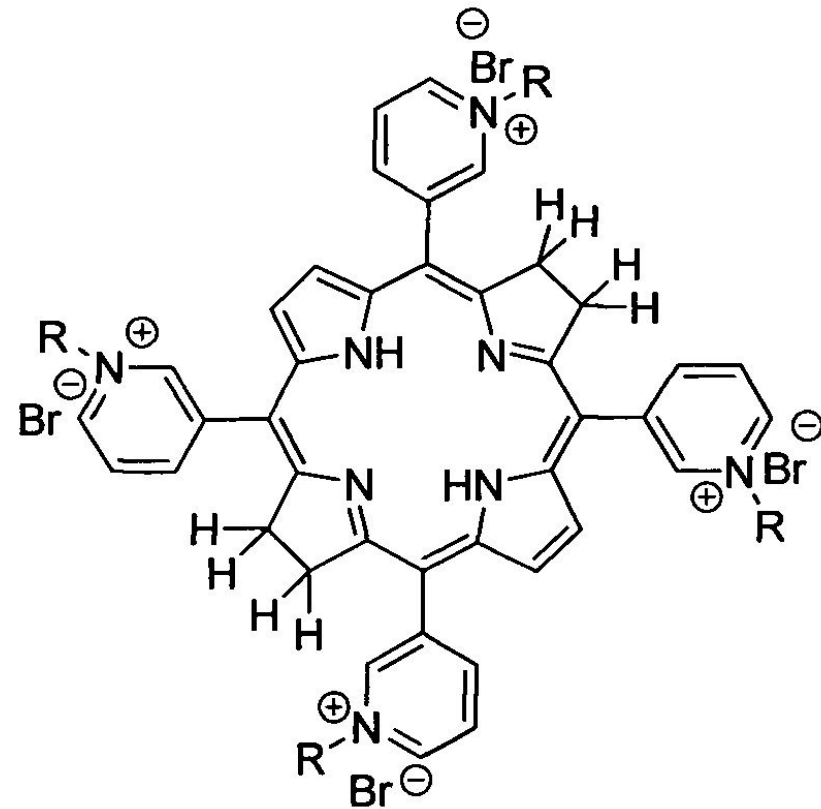
где  $R^\bullet$  – первичный свободный радикал;  $RO_2^\bullet$  – пероксидный радикал.

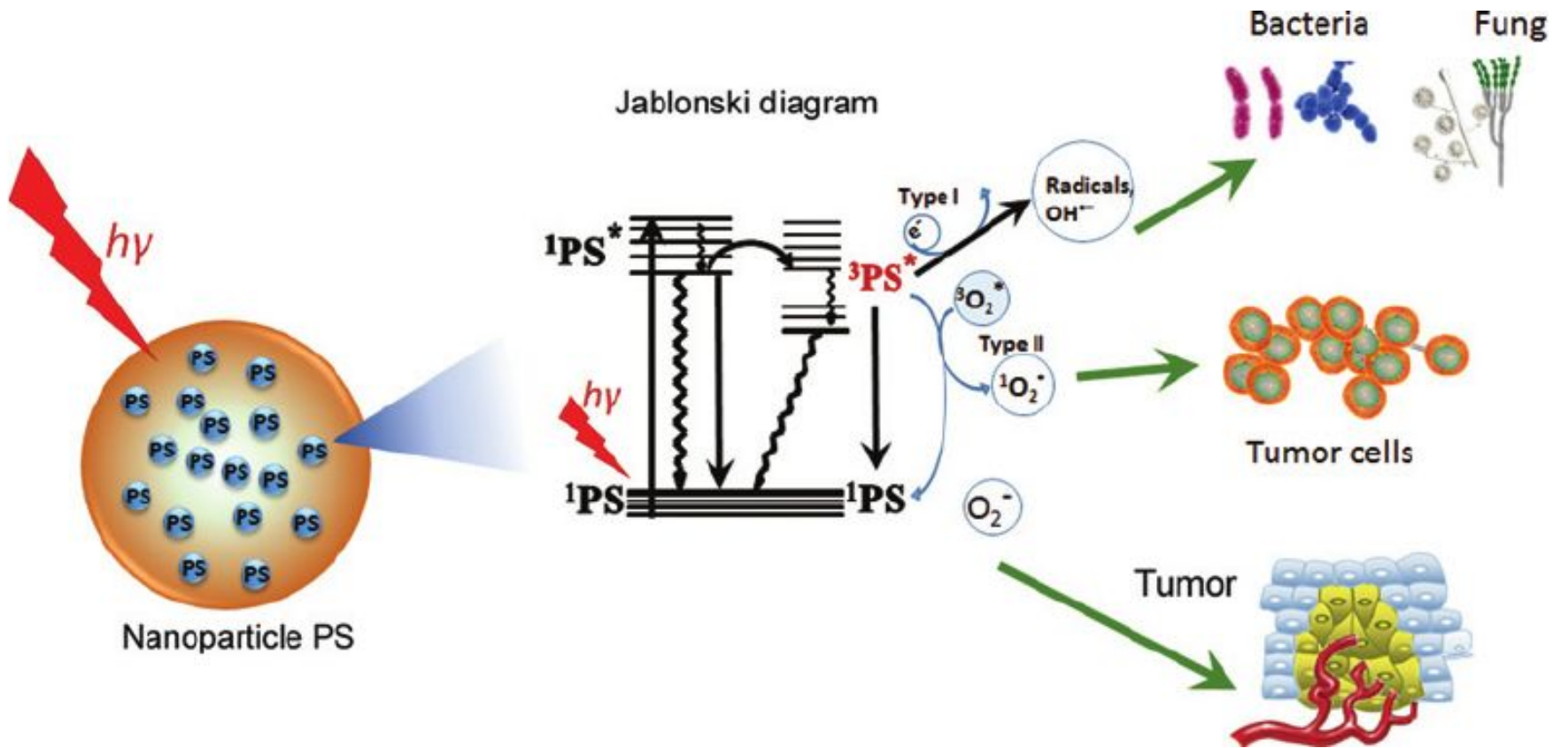
Первичной фотохимической реакцией, приводящей к образованию радикала  $R^\bullet$ , является отрыв электрона или атома водорода от одного из атомов углерода жирной кислоты (RH).

Процесс образования конечных (стабильных) продуктов фотоокисления липидов осуществляется в две стадии

|   |   |            |
|---|---|------------|
| Ненасыщенная жирная кислота (поглощение при $\lambda < 220$ нм) |   |            |
| сенсibilизатор,<br>УФ-облучение,<br>кислород                    | ↓ | (Стадия 1) |
| Гидропероксиды (поглощение при $\lambda = 233$ нм)              |   |            |
| УФ-облучение<br>в вакууме                                       | ↓ | (Стадия 2) |
| Альдегиды и кетоны (поглощение при 260-280 нм)                  |   |            |

**Фотосенсибилизатор** при действии на него кванта света проявляет определенные свойства за счет своей электронной структуры. Он может либо флуоресцировать, либо выделять тепло, либо осуществлять какие-либо реакции, например, с переносом электронов на молекулярный кислород. Сегодня фотосенсибилизаторы — это целая группа веществ, которая используется для лечения раковых заболеваний, дерматологических патологий, а также применяется для антимикробной терапии резистентных к антибиотикам бактерий. Фотосенсибилизаторы могут быть химически синтезированными препаратами, например, производными *хлорина Е6* или *гематопорфирина*; различными фототоксическими белками, например, *miniSOG*. В последнее время все больше внимания уделяется наночастицам, к которым можно «прицепить» фотосенсибилизатор и доставить их с грузом в любое место нашего организма





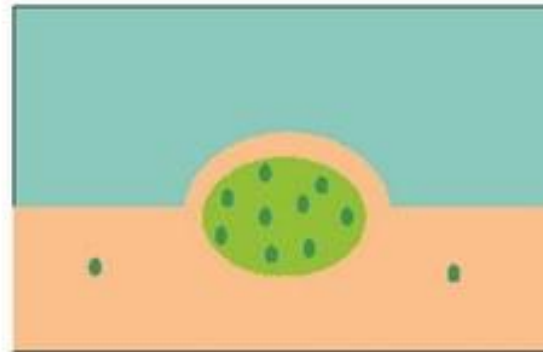
# Процедура ФДТ

фотодинамическая терапия (ФДТ) основана на работе специальных фотохимических веществ, которые под действием светового излучения образуют биологически активные молекулы, разрушающие злокачественные клетки. Такие фотохимические вещества называют фотосенсибилизаторами

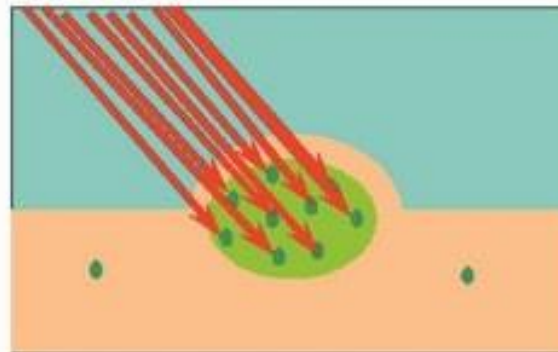
1. Вводится фотосенсибилизатор



2. Препарат накапливается в опухоли



3. Опухоль облучается лазером



4. В результате фотохимической реакции клетки опухоли погибают с образованием рубца





Фотопротекция — широкое понятие, подразумевающее комплекс мероприятий, направленных на уменьшение экспозиции УФО. Фотопротекцию подразделяют на экзогенную и эндогенную. Эндогенные фотопротекторы — это вещества для приема внутрь, оказывающие вспомогательный эффект в результате противовоспалительного и антиоксидантного действия, уменьшения количества свободных радикалов,

Экзогенные фотопротекторы, или солнцезащитные средства, предназначены для непосредственного нанесения на поверхность кожи. Традиционно принято выделять солнцезащитные средства с преимущественной защитой от UVB, с преимущественной защитой от UVA и комбинированные [ 2,4,9,10].

Для оценки эффективности защиты от UVB используют такой показатель, как солнцезащитный фактор (Sun protective factor, или SPF), Метод оценки SPF стандартизирован и осуществляется в соответствии со строго установленными правилами международной организации COLIPA, EC (The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association). SPF представляет собой отношение минимальной эритемной дозы, возникшей при облучении кожи с фотопротектором, к минимальной эритемной дозе без фотопротектора. Выражается в виде простых чисел и демонстрирует степень защиты от соответствующих лучей, где высокая степень защиты составляет 20—30, повышенная — 30—50 и ультразащита — 50+.

По механизму действия современные фотопротекторы подразделяются также на химические (Фильтры) и минеральные (экраны). Химические фильтры обеспечивают фотохимическую защиту путем поглощения определенных видов энергии, а экраны отражают ее. К группе химических фильтров относят парааминобензойную кислоту, салицилаты, циннаматы, бензофеноны,

