

ISSN 1561-8323 (Print)  
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 577.345.085.1:582.29  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-747-754>

Поступило в редакцию 05.11.2019  
Received 05.11.2019

С. В. Гончаров, А. Е. Козлов, М. В. Матвеевков, И. А. Чешик

*Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь*

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЗАЩИТЫ ОТ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ЭКСТРАКТАМИ ЛИШАЙНИКА *HYPOGYMNINGIA PHYSODES* В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ *IN VIVO*

(Представлено членом-корреспондентом Н. С. Сердюченко)

**Аннотация** Оценены *in vivo* реактивность биологических систем на воздействие УФ-А/Б и фотозащитный потенциал кожных аппликаций лишайниковых экстрактов *Hypogymnia physodes* по биохимическим показателям крови и морфометрическим параметрам кожи у лабораторных мышей. Этанольный, ацетоновый и гексан-ацетоновый экстракты (1 % в диметилсульфоксиде) эффективно поглощают диапазон УФ с наибольшей индукцией эритемы. На 4-е сутки после облучения УФ-А/Б наблюдаются выраженные бурые ожоги кожи спины, сильная эритема и отеки, образование струпа. В сыворотке крови значительно изменяются биохимические параметры – повышаются прооксидантная емкость, уровень нитрат- и нитрит-ионов  $\text{NO}_x$ , окислительно модифицированных протеинов АОРР, активность глутатионпероксидазы GPx, снижается уровень SH-групп. Растворы экстрактов (5 %) в диметилсульфоксиде в разной степени проявляют фотопротекторное действие: морфологически – в минимизации отеков, эритемы, струпа; биохимически – в регуляции указанных параметров на уровне контроля. По совокупности биохимических и морфометрических параметров наиболее перспективными фотопротекторами проявили себя ацетоновые экстракты. Прооксидантная емкость, GPx, АОРР (во всех случаях снижаются) и  $\text{NO}_x$  показали неспецифичность и довольно высокую чувствительность и больше пригодны для оценки воспалительных и окислительных процессов. Наибольшую эффективность и адекватность поставленным задачам показал уровень протеиновых SH-групп.

**Ключевые слова:** ультрафиолетовое излучение, фотопротекторы, *Hypogymnia physodes*, прооксидантная емкость, глутатион, окислительная модификация протеинов

**Для цитирования:** Оценка эффективности защиты от ультрафиолетового излучения экстрактами лишайника *Hypogymnia physodes* в биологических системах *in vivo* / С. В. Гончаров [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 6. – С. 747–754. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-747-754>

Sergey V. Goncharov, Alexander Ye. Kozlov, Matvey V. Matveyenkov, Igor A. Cheshik

*Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus*

## ESTIMATING THE EFFECTIVENESS OF PROTECTION AGAINST UV RADIATION WITH EXTRACTS OF LICHEN *HYPOGYMNINGIA PHYSODES* IN BIOLOGICAL SYSTEMS *IN VIVO*

(Communicated by Corresponding Member Nikolay S. Serduchenko)

**Abstract.** The reactivity of biological systems to UV-A/B and the photoprotective potential of skin applications of lichen extracts *Hypogymnia physodes* according to the biochemical parameters of blood and morphometric parameters of the skin were evaluated *in vivo* in laboratory mice. Ethanol, acetone and hexane-acetone extracts (1 % in dimethylsulfoxide) effectively absorb the UV range inducing the most erythema. On the 4th day after UV-A/B irradiation, severe brown burns of the back skin, severe erythema and edema, scab formation were observed. In serum, there were significantly changed biochemical parameters – the prooxidant capacity, the level of nitrate/nitrite-ions  $\text{NO}_x$ , advanced oxidation protein products AOPP, glutathione peroxidase activity GPx increased, the level of SH-groups reduced. Solutions of extracts (5 %) in dimethylsulfoxide at a different degree exhibited the photoprotective effect: morphologically – in minimizing the burn symptoms of the skin (edema, erythema, scab); biochemically – in the regulation of these parameters at the control level. According to the set of biochemical and morphometric parameters, the most promising photoprotectors were acetone extracts. The prooxidant capacity, GPx, AOPP (in all cases reduced) and  $\text{NO}_x$  showed a non-specificity and rather high sensitivity and are more suitable for estimating inflammatory and oxidative processes. The highest efficiency and the adequacy to the tasks and the specifications are shown by the level of protein SH-groups.

**Keywords:** ultraviolet radiation, photoprotectors, *Hypogymnia physodes*, prooxidant capacity, glutathione, oxidative modification of proteins

**For citation:** Goncharov S. V., Kozlov A. Ye., Matveyenkov M. V., Cheshik I. A. Estimating the effectiveness of protection against UV radiation with extracts of lichen *Hypogymnia physodes* in biological systems *in vivo*. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 6, pp. 747–754 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-747-754>

**Введение.** В настоящее время по-прежнему актуальна защита кожи от негативных последствий воздействия ультрафиолета (УФ). Наиболее существенная роль во вредном влиянии чрезмерного солнечного излучения на кожные покровы человека отводится УФ-излучению [1]. Избыток инсоляции в диапазоне 290–320 нм (УФ-Б) сильно повреждает кожу вплоть до изменений структуры и функции ДНК [2], фотоинактивации белков и повреждения биомембран [3].

УФ-А, ближний УФ (320–400 нм), имеет меньшую энергию, но способен глубоко проникать в кожу, что обуславливает значительный риск возникновения неопластической трансформации клеток кожи [4]. На фоне истощения звеньев антиокислительной системы развивается окислительный стресс и повышенная скорость окислительного повреждения липидов, протеинов и ДНК [5], приводящая к ускорению процессов клеточного старения и соматического мутагенеза [6]. В настоящее время УФ-А считается первостепенным фактором в фотостарении кожи.

Применение солнцезащитных средств позволяет предупредить значительную часть негативных последствий воздействия инсоляции на кожу. Интерес к фотопротекторам биологического происхождения, к которым относятся каротиноиды, флавоноиды и многие другие соединения, связан с их фотозащитными, антиоксидантными, противовоспалительными и иными свойствами. Кроме того, солнцезащитные препараты, содержащие фитоэкстракты, показывают эффективность при минимуме побочных эффектов (в сравнении с чистыми химическими фотосорбентами) [7]. Потенциальным источником фотопротекторов являются и лишайники по причине их биохимической уникальности. Адаптация к жестким условиям, в т. ч. излучению, способствовала синтезу уникальных вторичных метаболитов, большинство из которых имеет природу фенолов, дибензофуранов, депсидов, депсидонов, депсонов, лактонов, хинонов и защищает лишайник от свободных радикалов, генерируемых УФ-лучами. Некоторые вторичные метаболиты (включая атранорин, калицин, пинастральную, пульвининовую, ризокарпиновую, вульпиновую кислоты) сильно поглощают УФ-Б [8]. Лишайники являются идеальной моделью для изучения биологически активных метаболитов, демонстрирующих большой фармацевтический потенциал [9]. В литературе описаны высокие антиоксидантные свойства вторичных метаболитов лишайников, позволяющие прогнозировать их перспективу в качестве фотопротекторов [7–9].

Исследования вторичных метаболитов *in vitro* существенно раскрыли перспективы клинического применения лишайников. Несмотря на достигнутые успехи, функции этих соединений в жизни лишайников и возможности их применения в солнцезащитной косметике изучены недостаточно, что требует расширения исследований в этой области. В нашей работе мы использовали экстракты широко распространенного в Беларуси вида лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Целью работы являлось изучение его фотозащитных свойств на лабораторных мышах.

**Материалы и методы исследования.** Сбор лишайников *H. physodes* и приготовление из них сухих экстрактов были произведены на кафедре ботаники ГГУ им Ф. Скорины и предоставлены канд. биол. наук доцентом О. М. Храменковой для дальнейших исследований. Собранные талломы были высушены до воздушно-сухого состояния, измельчены и экстрагированы этанолом и ацетоном (в т. ч. при мацерации гексаном) с последующим удалением растворителя.

Измерение спектров поглощения экстрактов лишайников в виде 1 %-ных растворов в диметилсульфоксиде (ДМСО) проводилось в кварцевых кюветках ( $l_{\text{opt}} = 1$  см) на спектрофотометре Specord 205 в диапазоне волн 200–800 нм с шагом 1 нм.

Исследования *in vivo* выполнены на мышах линии Af (возраст 2,5–3 мес.), находившихся на стандартной диете. Испытуемые экстракты (5 %-ный раствор в ДМСО) наносили на участок кожи спины размером 2,5 × 1,5 см (на мышь – 1 × 150 мкл) спустя 3 суток после удаления шерсти кремом-депилятором. Аналогично наносили 150 мкл ДМСО на мышью интактного и облученного контроля.

**Условия УФ-облучения.** Мышей подвергали воздействию УФ через 30 мин после нанесения экстрактов (на расстоянии 15 см от кожи) источником, состоящим из 4 ламп. Энергетический максимум УФ-излучателя находился в диапазоне 280–450 нм, расчетная интегральная мощность потока 1446 мкВт/см<sup>2</sup>. Доля УФ-Б – 40 % от всего УФ-диапазона. Животных облучали в течение 30 мин и выводили из эксперимента на 4-е сутки.

В крови определяли параметры про- и антиоксидантной способности сыворотки.

Прооксидантную емкость сыворотки крови определяли на основе окисления N,N-диметил-*p*-фенилендиамина (DMPD) при pH 5,25 с образованием окрашенного радикала DMPP<sup>+</sup>. [10].

Активность глутатионпероксидазы GPx определяли методом ферментативного восстановления пероксида водорода до воды по остаточному количеству глутатиона (GSH), введенного в реакционную среду. Остаточное количество GSH определяли реактивом Элмана [11]. Глутатионовые и протеиновые (-SH) группы определяли по реакции с 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислотой (реактивом Элмана) при pH 8,0 с образованием тионитрофенил-аниона [11]. GSH определяли после осаждения белков трихлоруксусной кислотой.

Концентрацию нитрат- и нитрит-ионов NO<sub>x</sub> определяли по калибровочной кривой с использованием модифицированного реагента Грисса [12]. Концентрацию AOPP (advanced oxidation protein product) определяли методом окисления Г-ионов конечными продуктами окисления белков до I<sub>2</sub> в кислой среде [13].

Карбонильные группы – наиболее распространенный неспецифический тип протеиновых модификаций (окисление аминокислотных остатков), считается надежным маркером их свободнорадикальной модификации. Уровень карбониллов измеряли по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием окрашенных растворов дифенилгидразонов, измеряли на 365 нм и устанавливали по калибровочной кривой на основе бычьего альбумина в 6М гуанидин-хлориде [14].

Собственная флуоресценция белков позволяет использовать ее как индикатор их окисленности и обусловлена в основном аминокислотными остатками триптофана, которые легко окисляются под действием УФ, активных форм азота и кислородных радикалов. Триптофановую флуоресценцию сыворотки крови измеряли по I. Sadowska-Bartosz et al. [15] в микропланшетах при λ<sub>возб</sub> 296 нм и λ<sub>эмис</sub> 340 нм.

Измерение всех параметров производили на микропланшетном ридере Tecan Infinite M200, обработку данных осуществляли с использованием специализированного программного обеспечения Tecan Magellan 6.6.

**Результаты и их обсуждение.** Одним из механизмов защитного действия вторичных метаболитов лишайников является поглощение квантов в УФ спектре за счет физического блока, являющегося способностью вторичных метаболитов абсорбировать излучение определенной длины волны. Для определения спектров поглощения экстрактов лишайника использовались 1 %-ные растворы в ДМСО (рис. 1).

Все проанализированные экстракты имеют максимум поглощения в области 250–400 нм, что соответствует УФ-Б и УФ-А диапазону. Это позволяет предположить способность полученных экстрактов эффективно поглощать наиболее активный биологический диапазон УФ-излучения – область индукции эритемы (260–300 нм).

В результате серии экспериментов получены данные о профилактическом действии растворов лишайниковых экстрактов в ДМСО на кожу при однократном облучении УФ-А/Б в течение 30 мин. Ниже представлены оценка внешнего вида кожи (рис. 2), толщина кожной складки и масса кожных дисков (табл. 1).

Практически во всех опытах на 4-е сутки после облучения установлено статистически значимое превышение данных параметров по сравнению с контролем в 1,4–1,6 раза, бурый цвет кожи, образование струпа, выраженные ожоги кожи спины. Во всех облученных группах в разной степени отмечался отек.

При аппликации этанольного экстракта *H. physodes* (5 %) внешний вид кожи мышей существен-

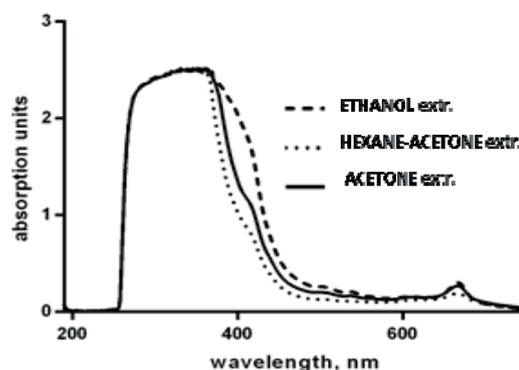


Рис. 1. Спектральные характеристики этанольного и ацетонового (в т. ч. при мацерации гексаном) экстрактов *H. physodes* (1 %-ный раствор в ДМСО)

Fig. 1. Spectral characteristics of ethanol and acetone (incl. maceration with hexane) extracts of *H. physodes* (1 % solution in DMSO)

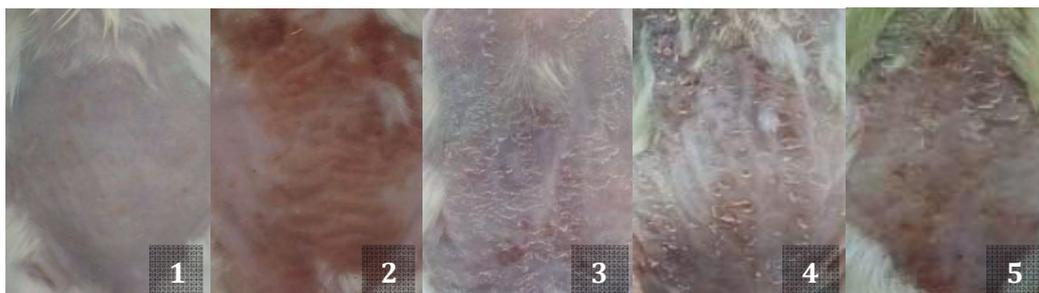


Рис. 2. Состояние кожи спины после однократного нанесения 5 %-ных растворов экстрактов *Hypogymnia physodes* (в ДМСО) и УФ-облучения: 1 – контроль; 2 – УФ + ДМСО; 3 – этанольный экстр. + УФ; 4 – ацетоновый экстр. + УФ; 5 – гексан-ацетоновый экстр. + УФ

Fig. 2. State of the back skin after a single application of extracts of *Hypogymnia physodes* (5 % solutions in DMSO) and UV-irradiation: 1 – control; 2 – UV + DMSO; 3 – ethanol ext. + UV; 4 – acetone ext. + UV; 5 – hexane-acetone ext. + UV

Т а б л и ц а 1. Толщина кожной складки и масса кожных дисков на 4-е сутки после однократного нанесения экстрактов *H. physodes* и УФ-облучения

Table 1. Thickness of skin foldon and weight of skin disks the day 4 after a single application of extracts of *H. physodes* and UV-irradiation UV-A/B

Контроль Control	ДМСО + УФ DMSO + UV	Экстракт <i>Hypogymnia</i> + УФ Extracts of <i>Hypogymnia</i> + UV
<i>Толщина, мм</i>		
0,60 ± 0,06	0,94* ± 0,07	Этанол. экс. 0,95 ± 0,21
0,89 ± 0,04	1,56* ± 0,36	Ацетон. экс. 1,17 ± 0,24
0,74 ± 0,18	1,61* ± 0,25	Гексан-ацет. экс. 0,96** ± 0,15
<i>Масса, мг</i>		
148,67 ± 68,15	220,31 ± 42,76	Этанол. экс. 246,70 ± 46,17
143,17 ± 27,45	233,60* ± 35,71	Ацетон. экс. 196,00 ± 27,32
145,34 ± 8,06	214,64* ± 51,38	Гекс.-ацет. экс. 182,89 ± 31,46

Примечания: \* – статистически значимые различия с интактным контролем (при  $p \leq 0,05$ ); \*\* – статистически значимые различия с УФ-контролем (при  $p \leq 0,05$ ).

Note: \* – the statistically significant differences with intact control (at  $p \leq 0.05$ ); \*\* – the statistically significant differences with UV control (at  $p \leq 0.05$ ).

но отличался от таковых при облучении без экстрактов (табл. 1). По массе кожных дисков статистической достоверности между группами не наблюдалось. На коже наблюдали шелушение и отечность, ожоговый струп и эритема отсутствовали.

В отличие от этанольного экстракта, ацетоновый экстракт *H. physodes* уже при 5 % показал более заметную фотопротекторную эффективность. После нанесения экстракта и УФ-облучения кожа имела признаки легкого воспаления и отека, но выглядела значительно лучше облученной кожи без аппликации, наблюдались следы шелушения; по массе кожных дисков и толщине кожной складки экстракт оказывал умеренное фотозащитное действие, снижая данные параметры (соответственно на 25 и 16 %). Применение гексан-ацетонового экстракта (5 %) показало наиболее заметное фотозащитное действие, при котором отсутствовал ожоговый струп, значимо снижалась отечность и воспаленность кожи, сохранялись лишь следы шелушения и эритемы. В ряде случаев по внешнему виду кожи и степени воспаленности эффект экстракта был схож с таковым для ацетонового экстракта.

Ввиду тесной взаимосвязи система крови и кожа способны отражать функциональное состояние друг друга. В результате УФ-облучения в коже происходит накопление активных повреждающих агентов (свободных радикалов, прооксидантов и т. п.), инициирующих развитие окислительного стресса с окислительной модификацией нуклеиновых кислот, белков, липидов и ведущих

к развитию различных патологических состояний. Помимо дерматологических показателей, оценка уровня развития данных процессов в крови на биохимическом уровне способна более детально оценить фотозащитный потенциал для экстрактов тех или иных видов лишайников. Главной задачей при этом является проверка информативности используемых параметров и их адекватности поставленным задачам.

Так, при УФ-облучении (с ДМСО) на 4-е сутки после воздействия в сыворотке крови наблюдали статистически значимые изменения: повышение прооксидантной емкости, активности GPx, снижение уровней как GSH, так и протеиновых SH-групп (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Антиоксидантные параметры сыворотки крови после нанесения экстрактов *H. physodes* и УФ-облучения (в % от «ДМСО + УФ»)

T a b l e 2. Antioxidant parameters of blood serum after a single application of extracts of *H. physodes* and UV-irradiation (% to «DMSO + UV»)

Параметр Parameter	GSH	Протеиновые SH-группы Protein SH groups	GPx	Прооксидантная емкость Prooxidant capacity
Контроль	120,28 ± 7,22	174,56 ± 16,23	66,59 ± 6,96	55,5 ± 4,70
ДМСО + УФ	100,00* ± 3,64	100,00* ± 13,41	100,00* ± 10,77	100,00* ± 8,71
Нурогумния physodes этанол. + УФ	120,10** ± 3,47	162,51** ± 27,06	85,89 ± 8,21	60,63** ± 10,65
Нурогумния physodes ацетон. + УФ	84,42** ± 11,68	177,45** ± 27,64	67,20** ± 15,97	75,59** ± 6,68
Нурогумния physodes гексан-ацет. + УФ	109,08 ± 5,67	198,98** ± 12,23	81,65 ± 10,71	76,75** ± 6,92

П р и м е ч а н и я: \* – статистически значимые различия с контролем (при  $p \leq 0,05$ ); \*\* – статистически значимые различия с «ДМСО + УФ» (при  $p \leq 0,05$ ).

N o t e s: \* – the statistically significant differences with control (at  $p \leq 0.05$ ); \*\* – the statistically significant differences with DMSO + UV (at  $p \leq 0.05$ ).

Прооксидантная емкость – неспецифический маркер количества прооксидантов (продукты ПОЛ, свободные радикалы, активные формы кислорода и азота), способных деструктивно воздействовать на протеины, липиды, нуклеиновые кислоты и продукты их окислительной дегградации [10; 13].

Среди антиоксидантных систем (АОС) организма важная роль принадлежит системе (R-SH) ↔ (R-S-S-R), широко представленной свободными SH-группами белков и, в первую очередь, глутатионом [16]. Последний неразрывно связан с работой GPx, одним из важнейших компонентов ферментативной АОС, активность которой в живых клетках увеличивается при действии  $\gamma$ -излучения, интоксикации этанолом, E-авитаминозе. Особо важна роль GPx в условиях окислительного стресса [11].

При защите кожи экстрактами *H. physodes* фотопротекция сопровождалась близкими к контролю уровнями и протеиновых SH-групп и прооксидантной емкости (табл. 2). Последняя статистически значимо снижалась для всех трех экстрактов (на 25–40 %). Активность GPx (при ее значительном подъеме без экстрактов) относительно группы «УФ-А/Б» была значительно снижена, наиболее выражено (и значимо) это происходило для ацетонового экстракта (на 32 %). Несмотря на тесную физиологическую связь с GPx, параметр GSH демонстрировал менее выраженную связь с морфометрической картиной и рассмотренными биохимическими показателями.

При использовании для фотозащиты этанольного экстракта уровень GSH восстанавливался до контроля, на 40 % снижалась прооксидантная емкость (табл. 2). Активность GPx при этом имела тенденцию к снижению относительно группы «УФ-А/Б», но недостаточно эффективно. Фотозащитное действие экстракта в целом считаем удовлетворительным.

Несмотря на сниженный уровень GSH в крови в случае применения ацетонового экстракта, его защитные свойства были видны по снижению прооксидантной емкости на 25 %, а активности GPx на 32 %. По совокупности рассматриваемых параметров АОС эффекты ацетонового и гексан-ацетонового экстрактов (5 %) были практически сопоставимы.

Количество протеиновых SH-групп определяет степень неповрежденности молекулы белка или пептида и, следовательно, их функциональной полноценности, в частности антиоксидантной способности. SH-группы белков наиболее подвержены окислительным модификациям. Из табл. 2 хорошо заметно, что применяемые экстракты восстанавливают концентрации протеиновых SH-групп до уровня контроля. Количество SH-групп значительно повышалось относительно УФ-контроля всеми экстрактами на 62–98 %, было максимальным в случае гексан-ацетонового экстракта и имело более выраженную связь с изученными морфометрическими параметрами кожи.

В настоящее время несомненной представляется взаимосвязь между широким рядом функциональных состояний организма и уровнем продуктов окислительной модификации протеинов, в т. ч. при участии активных форм азота (АФА). При этом у белков появляется прооксидантная активность. Свойство окисленных протеинов находиться в организме более длительное время в отличие от первичных интермедиатов (свободные радикалы, продукты ПОЛ) позволяет рассматривать этот феномен в качестве относительно ранних, стабильных и надежных диагностических параметров структурно-функционального состояния организма.

При воздействии УФ на 4-е сутки в сыворотке крови наблюдали статистически значимые биохимические изменения: повышение уровня  $\text{NO}_x$ , карбониллов белков и АОРР, снижение триптофановой флуоресценции (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Антиоксидантные параметры и маркеры окислительной модификации протеинов в сыворотке крови после нанесения экстрактов *H. physodes* и УФ-облучения (в % от «ДМСО + УФ»)

Table 3. Antioxidant parameters and markers of oxidative protein modification in blood serum after a single application of extracts of *H. physodes* and UV-irradiation (% to «DMSO + UV»)

Параметр Parameter	$\text{NO}_x$	Карбонилы белков Protein carbonyls	АОРР	Триптофановая флуоресценция Tryptophan fluorescence
Контроль	59,34 ± 10,45	65,1 ± 8,28	78,27 ± 2,47	128,45 ± 2,65
ДМСО + УФ	100,00* ± 10,22	100,00* ± 13,70	100,00* ± 4,32	100,00* ± 4,51
Нурогумния <i>physodes</i> этанол. + УФ	103,98 ± 6,73	85,29 ± 6,59	85,78** ± 3,29	119,73** ± 4,32
Нурогумния <i>physodes</i> ацетон. + УФ	57,70** ± 15,16	102,00 ± 76,51	79,86** ± 3,77	125,13** ± 2,31
Нурогумния <i>physodes</i> гексан-ацет. + УФ	72,58** ± 13,66	73,71 ± 27,87	90,26 ± 6,48	103,89 ± 1,85

Пр и м е ч а н и я: \* – статистически значимые различия с контролем (при  $p \leq 0,05$ ); \*\* – статистически значимые различия с «ДМСО + УФ» (при  $p \leq 0,05$ ).

Notes: \* – the statistically significant differences with control (at  $p \leq 0.05$ ); \*\* – the statistically significant differences with DMSO + UV (at  $p \leq 0.05$ ).

Нитрат- и нитрит-ионы ( $\text{NO}_x$ ) являются основными стабильными продуктами метаболизма NO в организме, который наряду с его производными относят к АФА. Они высокореакционны, образуют с белками нитрозопроизводные (в основном SH-производные). Концентрация  $\text{NO}_x$  в организме является маркером нитрозативного стресса [12].

Несмотря на хорошую абсорбцию УФ 250–400 нм самими экстрактами, уровень  $\text{NO}_x$  (в отличие от прооксидантной емкости и GPx) был значительно снижен только при аппликации ацетонового и гексан-ацетонового экстрактов (5 %), соответственно на 42 и 27 %. При этом нельзя не отметить, что этанольный экстракт был эффективнее по уровню GSH, GPx и прооксидантной емкости (табл. 2).

В то же время все экстракты эффективно и значимо снижали АОРР в среднем на 9–20 %. Это неспецифический маркер оценки прооксидантной способности окислительно модифицированных протеинов, главным образом, альбумина и фибриногена, и продуктов их последующей деградации – получает все большее распространение в клинической диагностике [13].

Отмечено, что в отличие от значимого подъема протеиновых SH-групп уровень GSH слабее коррелирует с другими упомянутыми параметрами того или иного экстракта. Такая же неопре-

деленная тенденция наблюдалась по карбонильным белковым группам и интенсивности триптофановой флуоресценции.

**Заключение.** Применяемая экспериментальная модель УФ-повреждения кожи показала, что оценка действия УФ на кожу по состоянию про- и антиоксидантных свойств крови облученных животных адекватна происходящим постлучевым процессам и достаточно информативна. Различные экстракты *H. physodes*, хорошо поглощая УФ (в концентрации 1 %) на физическом уровне, не всегда способны в концентрации 5 % оказывать эффективную фотозащиту. Однократные аппликации ацетоновых экстрактов *H. physodes* проникают в глубь кожи и смягчают последствия ожога, ингибируют либо предотвращают перекисные процессы в сыворотке крови. Для каждого экстракта отдельные параметры сыворотки хотя и имеют взаимосвязь с состоянием кожного покрова, но в целом показывают свою неоднозначность в системе «экстракт–кожа–кровь», поэтому оценка фотозащитных свойств каждого экстракта требует анализа системы всех параметров. Проксидантная емкость, GРх, АОРР (во всех случаях снижаются) и NO<sub>x</sub> показали неспецифичность и довольно высокую чувствительность, но вопрос оценки фотопротекции при помощи этих маркеров пока спорный. Наибольшую эффективность и адекватность поставленным задачам показал уровень протеиновых SH-групп.

В целом по совокупности биохимических параметров крови и морфометрических параметров кожи среди испытуемых экстрактов *H. physodes* перспективными фотопротекторами можно считать ацетоновые (в т. ч. при мацерации гексаном).

#### Список использованных источников

1. Хлебникова, А. Н. Дерматологические аспекты действия инсоляции / А. Н. Хлебникова // *Дерматология*. – 2009. – № 2. – С. 38–42.
2. Акимов, В. Г. Биологические эффекты ультрафиолетового облучения кожи / В. Г. Акимов // *Вестн. дерматологии и венерологии*. – 2008. – № 3. – С. 81–84.
3. Epstein, J. H. Photocarcinogenesis, skin cancer, and aging / J. H. Epstein // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1983. – Vol. 9, N 4. – P. 487–502. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(83\)70160-x](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(83)70160-x)
4. Cellular effects of long wavelength UV light (UVA) in mammalian cells / T. J. McMillan [et al.] // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 60, N 8. – P. 969–976. <https://doi.org/10.1211/jpp.60.8.0004>
5. Pentland, A. P. Active oxygen mechanisms of UV inflammation / A. P. Pentland // *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. – 1994. – Vol. 366. – P. 87–97. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1833-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1833-4_7)
6. Intrinsic aging vs photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin / M. El-Domyati [et al.] // *Exp. Dermatol.* – 2002. – Vol. 11, N 5. – P. 398–405. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2002.110502.x>
7. Galun, M. Secondary metabolic products / M. Galun, A. Shomer-Ilan // *CRC handbook of lichenology*. – FL, 1988. – Vol. 3: CRC. – P. 3–8.
8. Ramya, K. Lichens: A myriad hue of Bioresources with medicinal properties / K. Ramya, T. Thiagarajan // *International Journal of Life Sciences*. – 2017. – Vol. 5, N 3. – P. 387–393.
9. Rankovic, B. Lichen secondary metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential / B. Rankovic. – Switzerland, 2015. – 206 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-13374-4>
10. Mehdi, M. M. N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride-based method for the measurement of plasma oxidative capacity during human aging / M. M. Mehdi, S. I. Rizvi // *Anal. Biochem.* – 2013. – Vol. 436, N 2. – P. 165–167. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.01.032>
11. Современные проблемы биохимии. Методы исследований / Е. В. Барковский [и др.]. – Минск, 2013. – С. 187–190.
12. Nitric Oxide and Interleukin-6 Production in Patients with Transient Cerebral Microcirculatory Disturbances / M. N. Starodubtseva [et al.] // *American Journal of Clinical Neurology and Neurosurgery*. – 2015. – Vol. 1, N 2. – P. 86–91.
13. Optimisation of an advanced oxidation protein products assay: Its application to studies of oxidative stress in diabetes mellitus / E. L. Taylor [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2015. – Vol. 2015, art. 496271. – 10 p. <https://doi.org/10.1155/2015/496271>
14. Oxidative damage to plasma proteins in patients with chronic alcohol dependence: the effect of smoking / E. Kapaki [et al.] // *In Vivo*. – 2007. – Vol. 21, N 3. – P. 523–528.
15. Oxidative modification of serum proteins in multiple sclerosis / I. Sadowska-Bartosz [et al.] // *Neurochemistry International*. – 2013. – Vol. 63, N 5. – P. 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.08.009>
16. Subcellular compartmentalization of glutathione: Correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity / R. M. Green [et al.] // *Mutagenesis*. – 2006. – Vol. 21, N 6. – P. 383–390. <https://doi.org/10.1093/mutage/gel043>

#### References

1. Khlebnikova A. N. Dermatological aspects of the action of insolation. *Dermatologiya [Dermatology]*, 2009, no. 2, pp. 38–42 (in Russian).
2. Akimov V. G. Biological effects of ultraviolet irradiation of skin. *Vestnik Dermatologii i Venerologii [Bulletin of Dermatology and Venereology]*, 2008, no. 3, pp. 81–84 (in Russian).

3. Epstein J. H. Photocarcinogenesis, skin cancer, and aging. *Journal of American Academy of Dermatology*, 1983, vol. 9, no. 4, pp. 487–502. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(83\)70160-x](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(83)70160-x)
4. McMillan T. J., Leatherman E., Ridley A., Shorrocks J., Tobi S. E., Whiteside J. R. Cellular effects of long wavelength UV light (UVA) in mammalian cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2008, vol. 60, no. 8, pp. 969–976. <https://doi.org/10.1211/jpp.60.8.0004>
5. Pentland A. P. Active oxygen mechanisms of UV inflammation. *Free Radicals in Diagnostic Medicine*, 1994, vol. 366, pp. 87–97. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1833-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1833-4_7)
6. El-Domyati M., Attia S., Saleh F., Brown D., Birk D. E., Gasparro F., Ahmad H., Uitto J. Intrinsic aging vs photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study of skin. *Experimental Dermatology*, 2002, vol. 11, no. 5, pp. 398–405. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2002.110502.x>
7. Galun M., Shomer-Ilan A. Secondary metabolic products. *CRC handbook of lichenology*, Vol. 3. FL, 1988, pp. 3–8. <https://doi.org/10.1201/9780429291869>
8. Ramya K., Thiyagarajan T. Lichens: A myriad hue of Bioresources with medicinal properties. *International Journal of Life Sciences*, 2017, vol. 5, no. 3, pp. 387–393.
9. Rankovic B. *Lichen secondary metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*. Switzerland, 2015. 206 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-13374-4>
10. Mehdi M. M., Rizvi S. I. N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride-based method for the measurement of plasma oxidative capacity during human aging. *Analytical Biochemistry*, 2013, vol. 436, no. 2, pp. 165–167. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.01.032>
11. Barkovskii E. V., Bokut' S. B., Borodinskii A. N., Buko V. U., Valentyukevich O. I., Gritsuk A. I. [et al.]. *Modern problems of biochemistry. Research methods*. Minsk, 2013, pp. 187–190 (in Russian).
12. Starodubtseva M. N., Halinouskaya N. V., Halubykh N. M., Voropaev E. V., Smychek V. B. Nitric Oxide and Interleukin-6 Production in Patients with Transient Cerebral Microcirculatory Disturbances. *American Journal of Clinical Neurology and Neurosurgery*, 2015, vol. 1, no. 2, pp. 86–91.
13. Taylor E. L., Armstrong K. R., Perrett D., Hattersley A. T., Winyard P. G. Optimisation of an advanced oxidation protein products assay: Its application to studies of oxidative stress in diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, vol. 2015, art. 496271. 10 p. <https://doi.org/10.1155/2015/496271>
14. Kapaki E., Liappas I., Lyras L., Paraskevas G. P., Mamali I., Theotoka I., Bourboulis N., Liosis I., Petropoulou O., Soldatos K. Oxidative damage to plasma proteins in patients with chronic alcohol dependence: the effect of smoking. *In Vivo*, 2007, vol. 21, no. 3, pp. 523–528.
15. Sadowska-Bartosz I., Adamczyk-Sowa M., Galiniak S., Mucha S., Pierzchała K., Bartosz G. Oxidative modification of serum proteins in multiple sclerosis. *Neurochemistry International*, 2013, vol. 63, no. 5, pp. 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.08.009>
16. Green R. M., Graham M., O'Donovan M. R., Chipman K. J., Hodges N. J. Subcellular compartmentalization of glutathione: Correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. *Mutagenesis*, 2006, vol. 21, no. 6, pp. 383–390. <https://doi.org/10.1093/mutage/gel043>

### Информация об авторах

Гончаров Сергей Васильевич – науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: combinexpo@gmail.com.

Козлов Александр Евгеньевич – науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: cozlov.aleksander@yandex.ru.

Матвеенков Матвей Владимирович – мл. науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: matvey.matveenkov@mail.ru.

Чешик Игорь Анатольевич – канд. мед. наук, директор. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, Гомель, Республика Беларусь). E-mail: igor.cheshik@gmail.com.

### Information about the authors

Goncharov Sergey Vasilyevich – Researcher. Institute of radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninsky Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: combinexpo@gmail.com.

Kozlov Alexander Eugenyevich – Researcher. Institute of radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninsky Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: cozlov.aleksander@yandex.ru.

Matveyenkov Matvey Vladimirovich – Junior researcher. Institute of radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninsky Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: matvey.matveenkov@mail.ru.

Cheshik Igor Anatolyevich – Ph. D. (Medicine), Director. Institute of radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninsky Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: igor.cheshik@gmail.com.