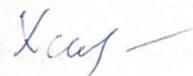


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт развития образования

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии



Хаматшина Лариса Айратовна

«Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи»

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии



К. С. Мочалов

Уфа – 2024

Оглавление

Список сокращений и условных обозначений.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	7
1.1. Акне и воспаление кожи	7
1.2. Механизмы действия средств для лечения акне и воспаления кожи	8
1.3. Оксидативные процессы и окислительный стресс.....	10
1.4. Регистрация хемилюминесценции как метод исследования оксидативных процессов и прооксидантной активности препаратов.....	18
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	23
2.1. Объекты исследования	23
2.2. Модельные системы для оценки антиоксидантной активности..	23
2.3. Методы исследования	25
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	27
3.1. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к генерации активных форм кислорода.....	27
3.2. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к реакциям перекисного окисления модельных липидов	29
3.3. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в сыворотке крови	31
3.4. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в цельной крови	32
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	34
ВЫВОДЫ.....	36
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	37

Список сокращений и условных обозначений

АОА - антиоксидантная активность

АТФ - аденозинтрифосфат

АФК - активные формы кислорода

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

НАДФН - никотинамидадениндинуклеотидфосфат

ПОЛ - перекисное окисление липидов

СРО – свободно-радикальное окисление

ХЛ - хемилюминесценция

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Акне является одной из актуальных проблем не только эстетического характера, но и медико-социальной проблемой. Интенсивное применение средств для лечения акне и воспаления кожи обуславливает проведение исследований, направленных на более глубокое понимание их механизма действия.

Средства для лечения акне и воспаления кожи оказывают свои эффекты, в том числе, через усиление выработки свободных радикалов – активных форм кислорода и пероксидных липидных радикалов, благодаря их прооксидантной активности [69,70]. Чрезмерное образование свободных радикалов лежит в основе феномена окислительного стресса [10,11]. Окислительный стресс - это неотъемлемая часть повреждения молекул и структур клеток. Он возникает в результате увеличения выработки свободных радикалов и снижения защитных ферментных систем, что ведет к развитию апоптоза и некроза. Но не только это – окислительный стресс может также активировать окислительные метаболиты. Реализация свободно-радикальных процессов может способствовать нейтрализации чужеродных агентов и лежать в основе действия средств для лечения акне и воспаления кожи. Свободнорадикальные реакции могут выступать в качестве средства деструкции и элиминации чужеродных антигенов, например вырабатываемые фагоцитами активные формы кислорода обеспечивают киллинг бактериальных клеток.

Среди многих методов для определения антиоксидантной активности веществ, наиболее эффективный - регистрация хемилюминесценции. Хемилюминесценция (ХЛ) - это сияние, возникающее при столкновении свободных радикалов, которое может быть улучшено при использовании определенных веществ, таких как люциноген и люминол [10, 57].

Разные средства для лечения акне и воспаления кожи характеризуются своими особенностями действия, и потенциально, могут обладать разной оксидативной активностью. Оценка этих свойств средств для лечения акне и воспаления кожи отражает одну из сторон их эффективности - относительно окислительного повреждения, связанного с активацией оксидативного стресса.

В прикладном плане, применение хемилюминесцентных методов позволит разработать экспресс-методы определения оксидативных эффектов Средства для лечения акне и воспаления кожи. Сказанным и предопределен выбор темы дипломной работы.

Цель исследования: оценка оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи.

Задачи исследования:

1. Исследовать оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в отношении выработки активных форм кислорода
2. Исследовать оксидативных эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к реакциям перекисного окисления модельных липидов
3. Исследовать оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в цельной крови
4. Исследовать оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в сыворотке крови

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые проведена оценка оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи, которые потенциально составляют важный компонент действия данных средств. Дана сравнительная оценка оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи.

Теоретическая значимость исследования заключается в выявлении и уточнении механизма действия средств для лечения акне и воспаления кожи относительно их способности вызывать оксидативные процессы.

Научно-практическое значение исследования заключается в разработке основанных на регистрации хемилюминесценции экспресс-методов определения оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Акне и воспаление кожи

Акне — это хроническое заболевание кожи, обусловленное избыточной продукцией кожного сала, патологическим увеличением количества кератина в клетках волосяных фолликулов, размножением пропионовых бактерий и воспалением.

В основном акне сопровождается локальными симптомами в виде полиморфных элементов на коже лица и туловища. Первичные элементы угревой сыпи могут быть представлены комедонами — чёрными точками на коже, которые возникают при закупорке выводящих протоков сальных желез, закрытыми комедонами белого цвета, пустулами, кистами, папулами, узелками и рубцовыми изменениями. Черный цвет комедонов обусловлен окислением пигмента меланина при контакте с воздухом. Клинически все перечисленные патологии кожи являются последовательными стадиями одного и того же процесса. Комедоны вызываются закупоркой сальных желез. При присоединении инфекции содержимое железы становится гнойным, что приводит к воспалению и образованию папул, кист и пустул, обычно возвышающихся над поверхностью кожи. Угревая сыпь в таких случаях сопровождается дерматитом, эритемой и болезненностью. Выраженное воспаление разрешается склеротическими изменениями, приводящими к появлению рубцов и узлов, состоящих из соединительной ткани.

1.2. Механизмы действия средств для лечения акне и воспаления кожи

Существуют различные механизмы действия средств для лечения акне и воспаления кожи. Бензоилпероксид является первичным средством для лечения акне легкой и средней степени тяжести из-за его эффективности и минимальных побочных эффектов (главным образом, раздражение кожи). Бензоилпероксид (базирон АС, окси-5, окси-10) после нанесения на кожу приводит к освобождению активных форм кислорода, уменьшению синтеза свободных жирных кислот и образования микрокомедонов. В комбинированных продуктах бензоилпероксид используется с антибиотиком или ретиноидом для местного применения, такими как бензоилпероксид/клиндамицин и бензоилпероксид/адапален соответственно. Местное применение бензоилпероксида эффективно для лечения акне. Выпускается бензоилпероксид в виде 5–10% лосьона и геля 2,5–10%. Бензоилпероксид наносят на кожу 2–3 раза в день в течение 1–3 мес. Среди побочных эффектов могут быть сухость, повышенная светочувствительность кожи, покраснение и периодическое шелушение. Во время лечения часто рекомендуется использовать солнцезащитный крем для предотвращения солнечных ожогов. Более низкие концентрации бензоилпероксида так же эффективны при лечении акне, как и более высокие концентрации, но вызывают меньше побочных эффектов. В отличие от антибиотиков, бензоилпероксид не вызывает устойчивости бактерий к антибиотикам.

Азелаиновая кислота эффективна при легкой и средней степени акне при местном применении в концентрации 20%. Препарат выпускают в виде 20% крема и 15% геля. Наносят его на всю поверхность лица или другие пораженные участки кожи утром и вечером, лечение продолжают до достижения терапевтического эффекта. Специфических противопоказаний к препарату нет. Она также эффективна, как бензоилпероксид 5%,

изотретиноин 0,05% и эритромицин 2%. Азелаиновая кислота уменьшает накопление клеток кожи в фолликуле, обладает антибактериальными и противовоспалительными свойствами, а также осветляет кожу за счет подавления синтеза меланина. Она менее эффективна из-за риска раздражения кожи и более высокой цены, чем ретиноиды.

Салициловая кислота, бета-гидроксикислота для местного применения, также останавливает размножение бактерий и обладает кератолитическими свойствами. Она открывает закупоренные поры кожи и помогает удалить эпителиальные клетки кожи. Сухость кожи является наиболее распространенным побочным эффектом при использовании салициловой кислоты, хотя у людей с темным типом кожи может наблюдаться потемнение кожи. Она менее эффективна, чем ретиноиды.

Микробиом кожи представляет собой огромное количество микроорганизмов, живущих на ее поверхности, которые помогают регулировать внутренние процессы для поддержания баланса микрофлоры. На жирной проблемной коже, помимо увеличенной активности сальных желез, происходит дисбаланс микробиома, в частности увеличивается популяция бактерий *C. Acnes* - флотипа IA1. Средствоо Эффаclar (LA ROCHE-POSAY) содержит новый активный ингредиент для кожи, склонной к акне - направленно действует на флотип IA1, что способствует уменьшению количества несовершенств и избытка кожного сала, а также успокаивает кожу.

Одним из механизмов действия препаратов является окислительное повреждение и окислительный стресс. Так, бензоилпероксид уничтожает *C. acnes* в кожных фолликулах, окисляя их белки с помощью образования свободных радикалов кислорода и бензойной кислоты. Эти свободные радикалы, вероятно, нарушают метаболизм бактерий и их способность производить белки [69,70].

1.3. Оксидативные процессы и окислительный стресс

Внешние факторы, будь то физические, химические или биологические, а также внутренние процессы функционирования человеческого организма, могут спровоцировать накопление свободных радикалов в организме [17]. Свободные радикалы, образуемые в организме, нарушают структуру мембран клеток, что, в свою очередь, ведет к развитию различных патологических состояний [9]. Клеточная гибель возникает из-за причин, связанных либо с некрозом, либо с апоптозом. Несмотря на то, что механизмы некроза хорошо изучены, апоптоз остается менее изученным процессом, который сильно зависит от оксидативного стресса. Этот процесс характеризуется образованием избыточного количества свободных радикалов [35].

Радикалы считаются свободными, поскольку они являются короткоживущими и химически активными промежуточными соединениями, содержащими один или несколько неспаренных электронов [38]. Атомы многих двухвалентных молекул являются свободными радикалами, например, H, O, N. Свободные радикалы имеют повышенную химическую активность [44]. В связи с тем, что процессы образования активных форм кислорода и азота оказывают двойственное воздействие на организм, более точным будет использовать термин "окислительный стресс" для обозначения неравновесия между производством оксидантов, которые инициируют процессы свободнорадикального окисления, и активностью системы антиоксидантной защиты, которая нейтрализует эти процессы [62].

Окислительный стресс является важным патогенетическим фактором, вызывающим развитие сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний, воспалительных и инфекционных патологий, злокачественных новообразований [23]. Основным "инструментом" или движущей силой окислительного стресса служат активные формы кислорода [4]. В норме уровень АФК и антиоксидантная активность (оксидантно-антиоксидантный

статус) находятся в состоянии баланса, но при определенных условиях может возникнуть его нарушение в пользу активных форм [47]. Высокие концентрации АФК в клетке - признак оксидативного стресса и причина гибели клеток [26]. Свободнорадикальное окисление (СРО) липидов является необходимым метаболическим процессом, обеспечивающим гомеостаз для целостного организма, который зависит от состояния антиоксидантной системы [51]. Интенсивность свободно-радикального окисления (СРО) при патологических процессах обусловлена взаимодействием разнонаправленных групп факторов. Один - это прооксиданты, катализирующие ПОЛ; другой - антиоксидантный каскад, являющийся противовесом свободнорадикальных процессов и поддерживающий их на стабильном физиологическом уровне [27].

В биологических объектах различают природные и чужеродные радикалы. Известно, что чужеродные радикалы на основе кислорода образуются в результате физического или химического воздействия на клетки живых организмов. Радикалы повреждают аминокислоты и белки, дезорганизуют клеточные структуры и биологические мембраны. Доказана роль чужеродных свободных радикалов в развитии таких болезней, как рак, инсульт, атеросклероз, инфаркт миокарда, ишемия; заболеваний нервной и иммунной систем, крови, легких, почек, печени, кожи; также они вызывают преждевременное старение. Для снижения агрессивного влияния радикалов на организм человека и животных в биологических объектах имеются специализированные ферментные системы, а также природные биоорганические соединения и синтетические соединения антиоксидантной защиты для нейтрализации радикалов. Роль антиоксидантной защиты выполняют биокатализаторы: трансфераза, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионзависимая пероксидаза, которые понижают негативное воздействие радикалов путем удаления перекисных соединений.

Механизм антиоксидантной защиты сводится к их взаимодействию со свободными радикалами и превращению последних в неактивные молекулы,

обеспечивая таким образом обрыв цепи СРО. В отличие от чужеродных радикалов, в живых системах преобладают природные радикалы, которые образуются в результате ферментативных реакций и выполняют ключевую роль в процессах жизнедеятельности клеток: в реакциях биосинтеза, окислительного фосфорилирования, регуляции липидного обмена, процессах митоза, метаболизма и др. Ежедневно каждая клетка генерирует миллионы соединений, обладающих естественной радикальной природой, которые участвуют в жизненно важных одноэлектронных биохимических процессах, связанных с отдачей или приобретением электронов. Существенную роль в радикальных окислительно-восстановительных реакциях клетки выполняют коферменты NAD, NADP, FAD, FMN, CoQ и др., которые являются акцепторами электронов для одной группы ферментов в полиферментном комплексе и донорами для другой. Коферменты способны образовывать промежуточные радикальные структуры и комплексы с переносом заряда в биологических мембранах, обеспечивая перенос энергии и транспорт электронов. При этом восстановление и окисление метаболитов сопровождается циклической ферментативной регенерацией коферментов [63].

Известно, что свободные кислородные радикалы образуются во всех аэробных организмах во время как физиологических, так и патологических процессов [54]. В организме человека происходит, с одной стороны, постоянная генерация свободных радикалов, с другой - осуществляется действие антиоксидантов.

При нормальных, физиологических условиях в тканях медленно и непрерывно протекают процессы свободно-радикального окисления с образованием активных продуктов - свободных радикалов, реактивных альдегидов и кетонов. В физиологических концентрациях эти метаболиты обуславливают ряд приспособительных реакций, в числе которых:

1. Обновление липидов биологических мембран, модификация их функций.

2. Фагоцитоз: макрофаги содержат фермент НАДФН-оксидазу, который генерирует свободные радикалы, осуществляющие окислительную деградацию антигенов белковой природы.

3. Активация ферментных систем тканевого дыхания;

4. Повышение устойчивости организма к гипоксии.

5. Нейтрализация повреждающего действия избытка катехоламинов.

В ряде случаев процессы свободно-радикального окисления могут резко усиливаться и приобретать разрушающее действие, проявляющееся:

1. Флюидизацией (увеличение жидкости) гидрофобной области липидного бислоя мембран;

2. Появлением в гидрофобном хвосте жирной кислоты гидрофильной группы;

3. Распадом веществ с антиоксидантной активностью;

4. Образованием трансмембранных перекисных кластеров;

5. Изменением функциональных свойств мембранных белков;

6. Трансформацией активности ряда мембрано-связанных ферментов и рецепторов.

Для поддержания нормального уровня свободно-радикального окисления существуют антиокислительные механизмы. Биохимическую антиоксидантную систему можно разделить на неспецифическую и специфическую. Действие первой связано с предотвращением условий и возможностей утечки электронов из дыхательной цепи митохондрий и генерации активных форм кислорода (АФК). Специфическая же направлена на разрушение АФК и продуктов их превращений и представлена ферментными (супероксиддисмутаза [СОД], каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза) и неферментными (аскорбатная окислительно-восстановительная система, тиолсульфидная система на основе глутатиона, ароматические соединения, витамины Е, Р, флавоноиды, полифенолы, в том числе убихинон) специализированными системами.

При патологических состояниях баланс между процессами свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты нарушается: увеличивается концентрация прооксидантов, к которым, в первую очередь, относят АФК (супероксиданион, синглетный кислород, гидроксильный и алкоксильный радикалы). Возникает состояние «окислительного, или оксидативного стресса» [37].

Свободные радикалы причиняют вред всем биологическим молекулам, которые пересекают их путь, в том числе белкам.

Это может привести к повреждению белков и, в результате, к быстрому старению клеток. Визуально это проявляется в сухости и дряблости кожи, ослаблении мышц и потере их тонуса. Эффект охватывает все клетки, в которых свободные радикалы атакуют белки и в итоге приводит к старению всего организма.

Повреждение ДНК является нарушением генетического кода клетки, что может привести к изменению его структуры, свойств и в некоторых случаях к мутациям. Такие изменения со временем могут приводить к образованию раковых опухолей.

Болезни кровообращения имеют значительное влияние на процесс заболевания. Научные исследования подтвердили связь между развитием атеросклероза, инфаркта, инсульта, ишемии, заболеваний нервной и иммунной системы и заболеваний кожи и нарушениями функционирования сердечно-сосудистой системы.

Происхождение свободных радикалов - это результат различных факторов, но самый известный из них - радиационное излучение.

Широко обсуждается и влияние курения: никотин и смолы поражают клетки организма, запуская целый ряд свободно радикальных реакций.

Самыми распространенными на сегодня причинами образования свободных радикалов считаются плохая экология, выбросы автомобильных выхлопных газов.

Излучение ультрафиолетового диапазона. В результате окисления молекулы превращаются в радикалы, что вызывает фотостарение.

Доказано и мощное влияние стресса на активацию свободно радикальных процессов. Гормоны стресса, адреналин и кортизол, при неблагоприятных жизненных ситуациях вырабатываются в повышенных количествах, нарушая питание и нормальное дыхание клетки, что моментально приводит к накоплению и распространению радикалов во всем организме. Старение и физиологическое изнашивание организма – это главные последствия свободно радикальных реакций [49].

Активные формы кислорода (АФК) - это молекулы органического или неорганического происхождения, которые имеют неспаренный электрон на внешнем электронном уровне. К ним относятся ионы кислорода, свободные радикалы и различные перекисные соединения. Образование АФК в клетках бактерий происходит в аэробных условиях на клеточной мембране и связано это с деятельностью цепи дыхательных ферментов. Утечка электронов из электронно-транспортной цепи в процессе окислительного фосфорилирования и непосредственное их взаимодействие с кислородом - основной путь образования активных форм кислорода в большинстве клеток. Тем не менее, образование продуктов неполного восстановления кислорода считается нормальным процессом. АФК и радикалы, синтезируемые в организме, выполняют как вредные, так и полезные для клетки функции. Высокая концентрация свободных радикалов в клетке может привести к окислительному стрессу, который вызывает повреждение различных структур: ДНК, липидов и белков. У бактерий могут образовываться гидроксильные радикалы, которые в дальнейшем окажут повреждающее действие. Воздействуя на гистидиновые группы и аминокислотные составляющие белков, гидроксильные радикалы вызывают их разрушение, и повреждают ферменты. Мутацией и гибелью бактерий может произойти из-за разрыва нуклеиновых кислот и углеводных мостиков. Негативное воздействие АФК на клетку может привести к клеточной смерти. Вследствие

высокой токсичности АФК произошло существенное сокращение биоразнообразия первичной анаэробной микробиоты. Однако большинство видов бактерий выработало средство защиты от губительного действия активных форм кислорода - антиоксидантные системы [36].

В нормально функционирующей дыхательной цепи митохондрий генерируются активные формы кислорода (АФК), их источником являются ферментативные реакции, представляющие собой хорошо регулируемый процесс [60]. В норме в ходе клеточного метаболизма образуются активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота (АФА), которые являются не только побочными продуктами химических реакций, но и участвуют в различных клеточных процессах: защита от патогенных микроорганизмов (H_2O_2 , $HOCl$, $ONOO^-$, OH^-), оплодотворение (H_2O_2), деление клеток апоптоз (H_2O_2), регенерация (H_2O_2), координация направления клеточного движения (H_2O_2), регуляция тонуса сосудов (NO^-) и т.д. Однако чрезмерно продуцируемые АФК и АФА - молекулы с высокой реакционной способностью, которые могут приводить к различным повреждениям клеток [65].

В биологических системах существует два основных способа использования кислорода клетками - оксигеназный и оксидазный путь. Оксидазный путь включает в себя последовательные ферментативные реакции дегидрирования углеводов и жиров, а также транспорт электронов в митохондриях, где на конечном этапе транспорта происходит 4-электронное восстановление кислорода в ферменте цитохромоксидазе, в результате чего образуется вода. Таким образом, внутри клетки вырабатывается АТФ, а также выделяется вода и углекислый газ. В отличие от оксидативного пути, окисление субстрата в оксигенативном пути происходит за счет прямого воздействия кислорода на органические вещества в клетке. В реакциях, которые происходят при участии оксигеназ, кислород не подвергается полному 4-электронному восстановлению, а в основном происходит неполное одноэлектронное восстановление. В результате этого процесса в

молекуле кислорода появляется неспаренный электрон, делая ее активным свободным радикалом.

Окислительному стрессу подвержены все организмы с аэробным дыханием, поскольку активные формы кислорода (АФК) образуются вследствие нормального метаболизма. Большинство АФК, такие как пероксид водорода, супер-оксидный и гидроксильный радикалы, являются побочными продуктами в электронно-транспортной цепи в процессе окислительного фосфолирования. *E. coli* обладает двумя путями метаболизма. Первый путь связан с расщеплением перекиси водорода на кислород и воду. Второй путь заключается в окислении L-аскорбата до L-дегидроаскорбата. Перекись водорода принимает участие не только в метаболических путях, но и в реакциях окисления и реакциях Фентона, которые происходят в клетках *E. coli*. Прогрессивное содействие окислительному давлению в микробах активирует два передовых контролирующих регулятора, которые подконтрольны транскрипционным активаторам - *oxyR* и *soxR*. Белки, экспрессия которых индуцируется системой *SoxRS*, действуют совместно и устраняют возможный ущерб от окислительного стресса, используя механизмы удаления оксидантов (супероксид дисмутаза), репарацию ДНК (эндонуклеаза IV), восстановление окисленных металлов в простетических группах (флаводоксин и ферредоксин редуктаза) и системы НАДФН (глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа), снижение проницаемости (*micF*) и экскрецию токсинов (порины). Активация генов регулона *SoxRS* увеличивает устойчивость клетки не только к супероксид генерирующим агентам, но и к органическим растворителям, а также оксиду азота (NO), который может генерироваться антибиотиками [30].

Скорость продукции активных форм кислорода (АФК) не является постоянной, определяется количеством редокс-активных сайтов и зависит от условий культивирования.

АФК способны повреждать все виды макромолекул в клетке, включая ДНК, липиды и белки, и нарушать метаболизм клетки путем инактивации ферментов, содержащих железо.

Для борьбы с этими окислительными повреждениями клетки *E. coli* используют ряд ферментативных защитных систем, включая супероксиддисмутазы (FeSOD, MnSOD и CuZnSOD), каталазы (HPI и HPII) и алкилгидропероксидредуктазу (AhpFC). Активность антиоксидантных систем регулируется таким образом, чтобы снизить концентрацию АФК до безопасного уровня. Различные стрессы у бактерий часто сопровождаются торможением дыхания, что может приводить к повышению скорости образования АФК. При этом степень индукции антиоксидантных ферментов может играть важную роль для процесса адаптации к новым условиям окружающей среды [42].

1.4. Регистрация хемилюминесценции как метод исследования окислительных процессов и прооксидантной активности препаратов

Методы определения концентрации свободных радикалов можно разделить на прямые и косвенные. Прямые методы - электронный парамагнитный резонанс (ЭПР) и, с некоторыми оговорками, хемилюминесценция (ХЛ). Косвенные методы - определение продуктов реакций, протекавших с участием свободных радикалов, и ингибиторный анализ. Прямое определение концентрации свободных радикалов в клетках и тканях, в растворах и суспензиях клеточных органелл осложняется их высокой реакционной способностью и малым временем жизни, в результате их концентрация в исследуемых объектах очень низка и отличается от концентрации в живом организме. Решить часть проблемы, связанную с коротким временем жизни свободных радикалов, позволило использование спиновых ловушек - молекул, которые при взаимодействии с нестабильными

радикалами образуют стабильные нитроксильные радикалы (спиновые аддукты), сигналы ЭПР которых затем измеряют с целью качественного и количественного определения концентрации соответствующих радикалов. Аналогичная ситуация сложилась и с применением ХЛ. Реакции рекомбинации супероксид-, гидроксил- и липидных радикалов и оксида азота сопровождаются очень слабой собственной или неактивированной ХЛ. Изучение этой ХЛ внесло большой вклад в исследование процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах, однако существенным недостатком этого метода является низкая интенсивность сигнала. В связи с этим получили широкое применение так называемые активаторы хемилюминесценции: - химические, вступающие с определенными радикалами в реакции, сопровождающиеся свечением: люцигенин, дающий свечение с супероксид-радикалами, и люминол, дающий мощное свечение в присутствии гидроксил-радикалов; - физические (сенсibilизаторы), не вступающие в реакцию с радикалами [61].

На сегодняшний день изучение ХЛ является значимым научным направлением, которое пересекает химию, физику и биологию. Хемилюминесценция - это явление свечения тел, возникающее в результате химических воздействий или химических реакций. При этом происходит возбуждение продуктов реакции, которые выделяют излишек энергии в форме электромагнитного излучения. Фактически, химическая энергия превращается в световую энергию. За долгое время хемилюминесценция привлекла много внимания у исследователей. Этот интерес вызван и чисто теоретическими аспектами, а также потенциальными практическими применениями. Непременно стоит отметить, что био- и хемилюминесценция активно используются для различных аналитических задач в различных областях, включая промышленность, биологию, медицину и другие. Опираясь на явление хемилюминесценции, можно установить механизм и ход проводимой реакции, а также определить условия, необходимые для эффективного и эффективного выполнения технологических процессов. Если

в процессе получения какого-либо химического продукта используется хемилюминесценция, то ее свечение может служить индикатором скорости реакции: чем быстрее протекает процесс, тем сильнее и заметнее свечение [3]. При небольшом количестве анализируемого образца данный метод демонстрирует невероятную избирательность. С его помощью можно выявить наличие неприятных патологий, связанных с высоким содержанием свободных радикалов, оценить интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и эффективность применяемых антиоксидантов. При этом важно отметить, что измерение показателей хемилюминесценции (ХЛ) не требует особой подготовки проб, что исключает возможность искажения результатов в связи с изменением количества свободных радикалов [6].

Хемилюминесценция - излучение света, сопровождающее реакции с участием свободных радикалов [28]. ХЛ, считается одной из самых известных и широко изучаемых систем ХЛ благодаря её основному компоненту - окислению люминола (LH2) (5-амино-2,3-дигидро-1,4фталазиндиона). Обычно этот процесс проводится в щелочном растворе при помощи различных окислителей, таких как пероксид водорода, гипохлорит или перманганат йода является одной из наиболее эффективных систем ХЛ. Люминол-ХЛ широко используется для аналитических целей в водной среде, в частности, в судебной медицине для выявления даже минимальных следов крови [25].

Люминесценция биологических объектов возникает благодаря излучению света, что происходит в результате химических реакций свободно-радикального окисления, вызывающих электронно-возбуждённые состояния (ЭВС). ЭВС - это специальное состояние атома, при котором электрон вынужден находиться на более высоком энергетическом уровне, отличном от обычной орбиты. При возвращении электрона на свой «родной» энергетический уровень после «падения» с более высоких уровней происходит выделение кванта света. Энергия данного кванта определяется

разностью между энергетическими уровнями, которая в свою очередь влияет на его частоту и длину волны [22].

В современных исследованиях в области медицины и биологии очень часто используют методики, которые позволяют оценить активность свободных радикалов в разных материалах. Для этого часто применяются тесты, которые основаны на использовании живых организмов. Самый распространенный метод - это измерение свойств самостоятельного свечения, т.е. хемилюминесценции, различных биологических субстратов. Для анализа проб может использоваться другой метод, который основан на применении люминесцентного бактериального теста. В ходе эксперимента проводится наблюдение за изменением интенсивности билюминесценции генно-инженерного штамма при действии токсичных веществ, присутствующих в пробе, и сравнивается с контрольной группой [55].

Физический процесс, за счет которого происходит излучение света, называется люминесценцией. Существует несколько видов люминесценции, каждый из которых описывает конкретный механизм возникновения излучения:

1. Фотолюминесценция – процесс свечения под действием света. Различают два типа фотолюминесценции: фосфоресценцию и флуоресценцию. Фосфоресценция – это свечение, которое продолжается после прекращения облучения на протяжении значительного периода времени. Флуоресценция – это свечение, которое возникает только в процессе облучения.

2. Электронная люминесценция – возникает при переходе электронов на более низкий энергетический уровень. Этот процесс наблюдается при газовом разряде, в полупроводниках и в редкоземельных элементах.

3. Ионная люминесценция – возникает при переходе ионов на более низкий энергетический уровень. Этот процесс наблюдается при облучении кристаллов веществ, содержащих ионы.

Кроме того, в зависимости от спектрального состава излучения, люминесценция может быть разделена на ультрафиолетовую, видимую и инфракрасную.

Свечение ХЛ происходит благодаря химическим процессам. Например, светящиеся палочки являются примером такого явления. Они состоят из прозрачного корпуса, внутри которого находится ампула. При разрушении ампулы различные химические вещества смешиваются, что позволяет им светиться на несколько часов.

Биолюминесценция - это интересное явление, которое позволяет живым организмам излучать свет. Этот вид люминесценции считается особым, хотя он является подвидом хемилюминесценции, в основе которой лежат химические процессы. Одним из примеров животных, использующих биолюминесценцию, являются светлячки и медузы [29].

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

В работе объектами исследования были использованы Себиум гель актив (Biodermd) состав: вода, кокоамфоацетат натрия, лауретсульфат натрия, метилпропандиол, динатрий-ЭДТА, маннит, ксилит, рамноза, фруктоолигосахариды, сульфат цинка, сульфат меди, экстракт листьев гинкго билоба, глицерилизостеарат пег-90, молочная кислота, лаурет-2, сорбат калия, хлорид натрия, пропиленгликоль, гидроксид натрия, ароматизатор (парфюм) и Эффаclar (LA ROCHE-POSAY). Состав: Ниацинамид: уменьшает темные пятна, успокаивает кожу и уменьшает покраснения; Прокерад: предотвращает появление следов после акне; Салициловая кислота и Липо-гидрокси кислота: очищают поры и выравнивают микрорельеф кожи; Цинк. Кроме того, Эффаclar направлен на поддержание и восстановление микробиома против *S. Acnes* - фило типа IA1. Также исследовалось средство Базирон (Галдерма), содержащий 2,5 % бензоил пероксид.

2.2. Модельные системы для оценки антиоксидантной активности

В нашем исследовании мы использовали модельную систему для генерации активных форм кислорода

Как модельный объект мы выбрали фосфатный буфер (в составе 20 мМ KH_2PO_4 и 105 мМ KCl , рН 7,45), дополненный цитратом натрия (50 мМ). Чтобы инициировать цепные реакции образования свободных радикалов, мы ввели раствор сернокислого железа. Оценка антиоксидантной активности культуральных сред была проведена при помощи этой модельной системы ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 50 мМ).

Модельная система липидных радикалов

Были выделены из липидов куриного желтка и затем использованы для изучения эффекта различных препаратов на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Липиды, полученные из куриного желтка, были смешаны с фосфатным буфером в соотношении 1:5, после чего содержание белка было доведено до 1 мг на мл путем разведения гомогената в 25 мл буфера на литр. Затем из гомогената было отобрано 20 мл и инициирована хемилюминесценция путем добавления 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа при постоянном перемешивании. Ненасыщенные жирные кислоты, содержащиеся в липидах, окислялись и происходила развитие хемилюминесценции, интенсивность которой оценивалась как процесс перекисного окисления липидов.

Модельная система цельной крови

Перед началом проведения исследования определяется необходимое количество рабочего раствора в соответствии с пропорцией 2 мл на каждую пробу. Затем полученный рабочий раствор подвергается нагреванию в термостате до 37 градусов Цельсия. Для измерения содержания ХЛ заранее измеренный объем раствора (2 мл) разливают в стаканчики, которые также помещаются в термостат. Следующим шагом производится гепаринизация 0,1 мл крови, после чего данное количество добавляется в 2 мл горячего рабочего раствора люминола и тщательно перемешивается. Полученная смесь помещается в камеру специализированного прибора, настроенного на изучение свойств крови по соответствующей программе. Термостат должен быть включен, мешалка - выключена. Запись ХЛ проводится в течение 5 минут. Целесообразно отметить, что светящиеся явления в крови, зависящие от люминола, основным образом связаны с выработкой активных форм кислорода клетками путем фагоцитоза. Таким образом, данное исследование позволяет оценить состояние гуморально-клеточного иммунитета.

Модельная система сыворотки крови

Выполняется процедура отбора крови, после чего полученную кровь выдерживают в течение 30 минут. Далее производится центрифугирование

при 1500 оборотах в минуту в течение 15 минут, что позволяет получить сыворотку. Для продолжения исследования необходимо взять 0,5 мл готовой сыворотки и разбавить её в 20 мл фосфатного буфера. Состав буфера включает в себя следующие компоненты: 2,72 г KH_2PO_4 , 7,82 г KCl и 1,5 г цитрата натрия $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$ на 1 л дистиллированной воды. Раствор необходимо довести до pH 7,45 ед. с помощью титрования насыщенным раствором KOH (фосфатный буфер + цитрат натрия). После этого полученный раствор помещают в кюветную камеру прибора и запускают программу, которая зависит от исследуемого материала - сыворотки или плазмы. В данной программе предусмотрено быстрое перемешивание, а время измерения составляет 5 минут. Чтобы индуцировать свечение, к раствору добавляют 1 мл 50 мМ раствора $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, который ускоряет процессы перекисного окисления липидов.

2.3. Методы исследования

Хемилюминесценция – высокочувствительный метод оценки окислительных процессов в различных материалах, включая среды культивирования. Измерение осуществляется на основе обнаружения квантов света, которые выделяются при взаимодействии свободных радикалов – экстремально активных агентов. Добавление люминофоров позволяет усилить выделяемые кванты света. В качестве люминофора был использован люминол - люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион).

Регистрация ХЛ проводилась на приборе Хемилюминомер-003.

Измерение образцов описывалось в параметрах кинетики ХЛ. Измерение проводилось 5 минут (рисунок 1).

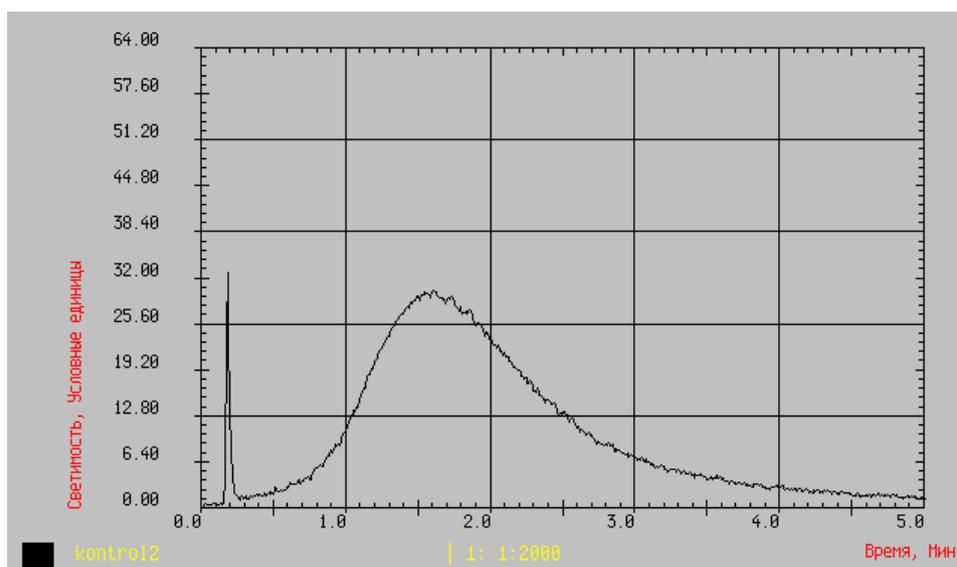


Рисунок 1 – Типичная запись ХЛ модельной системой активных форм кислорода

При оценке результатов анализировался основной параметр ХЛ: светосумма свечения (S)

Методы обработки данных

Для статистической обработки результатов был использован пакет программ «StatisticaforWindows». Значения параметров ХЛ были выражены в условных единицах (одна условная единица - $5,1 \times 10^5$ квант/с), а затем переводили в % от контроля. Для сравнения образцов сред с образцами контроля и между собой применяли критерий Манна-Уитни.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к генерации активных форм кислорода

Для проведения сравнительной оценки средств для лечения акне и воспаления кожи были использованы различные модельные системы. В первую очередь была использована система моделирования, в которой произошло появление активных форм кислорода (АФК). Активные формы кислорода - это молекулы кислорода, содержащие более одного электрона в валентной оболочке. Такие молекулы, например, как перекись водорода (H_2O_2), супероксидный радикал ($O_2^{\bullet-}$), гидроксильный радикал (OH^{\bullet}) и другие, обладают высокой реакционной способностью и могут вызывать окислительный стресс в организме, повреждая клетки и ткани. Некоторые активные формы кислорода участвуют в регуляции клеточных процессов и имеют важную роль в метаболизме.

Добавление средств для лечения акне и воспаления кожи препаратов в модельную систему, генерирующую АФК выявило их способность усиливать значения ХЛ. Следовательно, соединения обладали прооксидантной активностью (Таблица 1).

Таблица 1. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к генерации активных форм кислорода

	Светосумма (Me (IQR))	
	Концентрация 0,1	Концентрация 0,5
Контроль	5,8(4,1-7,4)	
Базирон	7,9 (5,2-10,3)*,**	14,3 (11,1-18,5)*,**
Эффаclar	19,5 (14,1-25,5)*,**	32,3 (25,5-39,5) *,**
Себиум	10,4 (7,3-17,5) *,**	24,4 (19,7-30,4) *,**

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем,

** Различия статистически значимы между средствами

Из таблицы хорошо отображаются различия оксидативных процессов генерации АФК в модельных системах. Причем отмечался дозозависимый эффект: с ростом дозы средства, происходило усиление прооксидантного эффекта. Наибольшей прооксидантной активностью обладал Эффаclar, далее Себиум и Базирон.

Таким образом, средства для лечения акне и воспаления кожи проявляют прооксидантную активность, что означает, что они могут запускать повреждение клеточных структур, вызванное активными формами кислорода. Они оказывают воздействие на ряд биологических процессов, происходящих внутри клеток грибов, в том числе на их клеточную стенку, митохондрии и рибосомы.

Как было установлено, средства для лечения акне и воспаления кожи, способны стимулировать выработку АФК. Этот эффект может быть полезным для устранения инфекции вызванной *S. Acnes*, поскольку окислительный стресс повреждает бактериальные клетки.

В целом, прооксидантная активность, связанная с выработкой активных форм кислорода, является одним из множества механизмов, которые используются для устранения инфекций.

3.2. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к реакциям перекисного окисления модельных липидов

Активные формы кислорода являются инициаторами последующих свободнорадикальных реакций, в том числе молекул липидов, липидных радикалов. Липидные радикалы являются результатом окисления липидов, в том числе входящих в структуру мембран. Поэтому важным компонентом прооксидантной активности является способность инициировать образование перекисных радикалов липидов. Для этого была использована модельная система, в которой инициировали перекисное окисление липидов. В данную модельную систему добавляли средства для лечения акне и воспаления кожи в двух концентрациях. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2. Прооксидантная активность средств для лечения акне и воспаления кожи относительно перекисного окисления липидов по данным регистрации хемилюминесценции

	Светосумма (Me (IQR))	
	Концентрация 0,1	Концентрация 0,5
Контроль	30,3 (25,4-38,1)	
Базирон	37,3 (31,4-46,1)*,**	45,4 (35,1-50,4)*,**
Эффаклар	56,7 (45,1-67,7)*,**	78,2 (63,5-89,1) *,**
Себиум	47,4 (37,2-54,6) *,**	59,4 (48,8-65,3) *,**

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем,

** Различия статистически значимы между средствами

Из данных таблицы следует, что все исследуемые средства, обладали способностью усиливать процессы образования липидных радикалов. ХЛ усиливалась во всех образцах. А с ростом концентрации это увеличение усиливалось. То есть, как и для модельной системы генерации АФК отмечался дозозависимый эффект.

Наибольшей прооксидантной активностью обладал, Эффаclar, далее Себиум, затем Базирон. Активность средств для лечения акне и воспаления кожи в отношении окисления липидов может явиться одним из механизмов их действия. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) - это процесс, который происходит в клетках под воздействием свободных радикалов и приводит к повреждению мембран и других клеточных структур.

Средства для лечения акне и воспаления кожи могут воздействовать на бактериальные клетки, усиливая процесс ПОЛ, что приводит к повреждению мембран и гибели микроорганизмов.

3.3. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в сыворотке крови

Рассмотренная выше модельная система позволяет оценивать прооксидантную активность по отношению к липидным радикалам. Для более интегральной оценки средств для лечения акне и воспаления кожи в сыворотке крови в более естественных условиях была использована модельная система сыворотки крови (Таблица 3).

Таблица 3. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в сыворотки крови по данным регистрации хемилюминесценции

	Светосумма (Me (IQR))	
	Концентрация 0,1	Концентрация 0,5
Контроль	15,4 (10,2-21,8)	
Базирон	20,7 (17,4-27,1)*,**	29,7 (26,8-37,9)*,**
Эффаclar	30,8(22,5-37,8)*	38,4 (30,3-45,7)*
Себиум	26,7(19,7-38,5)*	38,6(27,6-47)*

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем,

** Различия статистически значимы между средствами

Исходя из этой информации, можно сделать вывод, что Эффаclar и Себиум обладали наиболее выраженной прооксидантной активностью, далее следовал Базирон. Эффаclar и Себиум воздействовали в равной степени: их оксидативные эффекты не отличались между собой. Таким образом, прооксидантная активность средств для лечения акне и воспаления кожи является важным аспектом для обеспечения эффективного лечения инфекций.

3.4. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в цельной крови

Прооксидантную активность можно оценивать не только непосредственно по воздействию на оксидативные процессы, но и опосредованно - при воздействии на свободно-радикальные метаболиты, образующиеся при активации клеток. Для реализации данного подхода были использованы фагоцитарные клетки крови. Фагоцитарные клетки крови обладают механизмами кислород-зависимого метаболизма, активация которого сопровождается генерацией активных форм кислорода.

При добавлении средств для лечения акне и воспаления кожи в систему цельную кровь отмечалось усиление ХЛ, отражающей рост генерации АФК фагоцитарными клетками (Таблица 4).

Таблица 4. Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи в системе цельной крови по данным регистрации хемилюминесценции

	Светосумма (Ме (IQR))	
	Концентрация 0,1	Концентрация 0,5
Контроль	10,3 (7,8-15,3)	
Базирон	15,7 (12,8-20,3)*,*	26,8 (20,2-34,8)*,*
Эффаclar	16,8 (10,7-23,4)*,*	32,6 (23,3-46,2)*,*
Себиум	15,5 (13,9-18,8)*,*	28,7 (21,6-37,7)*,*

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем,

** Различия статистически значимы между средствами

Данные таблицы показывают, что все исследуемые образцы вызвали усиление параметров ХЛ, то есть обладали прооксидантной активностью. При этом увеличение концентрации вызывало усиление ХЛ, то есть характер действия исследуемых средств носил дозозависимый характер.

Все средства воздействовали в равной степени и не отличались друг от друга статистически. Таким образом, средства для лечения акне и воспаления кожи обладают различными механизмами действия, одним из которых является воздействие на фагоциты и выработку активных форм кислорода.

Фагоциты – это клетки, ответственные за защиту организма от инфекций. Они поглощают и "переваривают" микроорганизмы, разрушая их и защищая ткани организма. Средства для лечения акне и воспаления кожи могут увеличивать активность фагоцитов, что способствует более эффективной борьбе с грибковыми инфекциями.

Исследуемые средства выявили способность стимулировать выработку активных форм кислорода, таких как супероксидные радикалы и перекись водорода. Эти вещества играют важную роль в борьбе с инфекционными агентами, так как они способны уничтожать микроорганизмы и защищать ткани организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При выполнении дипломной работы были изучены фундаментальные аспекты микробиологии и биофизики и освоены отдельные методы: метод оценки прооксидантной активности методом регистрации хемилюминесценции, проанализированы источники литературы по теме работы, в первую очередь для обзора литературы.

В данной работе оценивались оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи. Исследование проводилось в модельных системах, каждая из которых отражала один из аспектов прооксидантной активности. В дипломной работе были поставлены следующие задачи:

1) Оценка оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к генерации активных форм кислорода

2) Оценка оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи по отношению к реакциям перекисного окисления модельных липидов

3) Оценка оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи в сыворотке крови

4) Оценка оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи в цельной крови

Исследование показало, что средства для лечения акне и воспаления кожи обладают прооксидантной активностью. Они усиливают выработку активных форм кислорода и липидных радикалов. Кроме того, проявляют такие же свойства в цельной крови и сыворотки крови. Результаты исследования показали, что наибольшей прооксидантной активностью обладал Эффаclar. После Эффаclара наиболее высокую активность как проксидантов в модельных системах генерации активных форм кислорода и липидных радикалов проявили Себиум и Базирон. Прооксидантные эффекты могут быть полезны для устранения инфекции вызванной *S. Acnes*, поскольку окислительный стресс повреждает бактериальные клетки.

Дальнейшие исследования позволят более точно определить механизмы данного действия и разработать рекомендации по использованию средств для лечения акне и воспаления кожи.

Проведенные исследования создают предпосылки для практического применения используемых в данной работе методик, а именно разработки основанных на регистрации хемилюминесценции экспресс-методов определения оксидативных эффектов средств для лечения акне и воспаления кожи.

ВЫВОДЫ

1. Средства для лечения акне и воспаления кожи обладают прооксидантной активностью по отношению к активным формам кислорода. Наибольшей прооксидантной активностью обладал Эффаclar, далее Себиум и Базирон.
2. Средства для лечения акне и воспаления кожи обладают прооксидантной по отношению к липидным радикалам. Наибольшей прооксидантной активностью обладал Эффаclar, далее Себиум, затем Базирон.
3. Средства для лечения акне и воспаления кожи обладают прооксидантной активностью в сыворотке крови. Эффаclar и Себиум обладали наиболее выраженной прооксидантной активностью, далее следовал Базирон. Эффаclar и Себиум воздействовали в равной степени: их оксидативные эффекты не отличались между собой.
4. Средства для лечения акне и воспаления кожи обладают прооксидантной активностью в цельной крови. Все средства воздействовали в равной степени и не отличались друг от друга статистически.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антропов, А.П. Физико-химическое исследование хемилюминесцентной реакции люминола в организованных молекулярных системах / А.П. Антропов, А.В. Рагуткин, Т.В. Янькова, Н.К. Зайцев // Фундаментальные проблемы радиоэлектронного приборостроения. 2017. Т. 17. № 3. С. 738-741.
2. Асташкина, А.П. Приготовление питательных сред и культивирование микроорганизмов / А.П. Асташкина // Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2015. – 19 с.
3. Ахова, А.В. Формирование сопутствующего окислительного стресса в клетках *Escherichia coli*, подвергнутых действию различных экологических стрессоров / А.В. Ахова П.А. Секацкая, А.Г. Ткаченко // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 6. С. 535-541.
4. Барсукова, М. Е. Основные методы и подходы к определению маркеров окислительного стресса – органических пероксидных соединений и пероксида водорода / М. Е. Барсукова, Ю И. А. Веселова, Т. Н. Шеховцова // Журнал аналитической химии. 2019. Т. 74. № 5. С. 335-349.
5. Бельская, Л.В. Оценка уровня окислительного стресса по изменению кинетики хемилюминесценции слюны / Л. В. Бельская, Е.А. Сарф // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2018. Т. 3. № 4. С. 847-852.
6. Бричагина, А.С. Метод хемилюминесценции в изучении процессов липопероксидации при артериальной гипертензии и стрессе / А.С. Бричагина, М.И. Долгих, Л.Р. Колесникова, Л.В. Натяганова // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2019. Т. 4. № 1. С. 133-137.
7. Бурова, Л. Г. Изучение антибактериальной активности производных изоалантолактона в отношении *Escherichia coli* / Л. Г. Бурова, И. В. Широких, С. С. Патрушев, Э. Э. Шульц // Научные конференции НГМУ. 2017. № 1. С. 10-13.

8. Бухарин, О.В. Механизмы выживания бактерий / О.В. Бухарин, А.Л. Гинцбург, Ю.М. Романова, Г. И. Эль-Регистан // Москва, 2005.
9. Владимиров, Г. К. Хемилюминесцентная методика определения общей антиоксидантной емкости в лекарственном растительном сырье / Г. К. Владимиров, Е. В. Сергунова, Д. Ю. Измайлов, Ю. А. Владимиров // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2016. № 2. С. 65-72.
10. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И., Козлов А. В., Осипов А. Н., Рощупкин Д. И. // - Ред. ВИНТИ, Москва, 1992, С. 3-250.
11. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. // Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, Наука, Москва, 1972
12. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии // Биохимия. 2004. Т. 69. Вып. 1. С. 5-7
13. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. 1998. № 8. С. 43-51.
14. Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов. М 1984; 123—188.
15. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Лекции по медицинской биофизике. Академкнига, 2007, 432 с.
16. Волкова, П.О. Определение гидропероксидов липидов методом активированной хемилюминесценции / П.О. Волкова, А.В. Алексеев, А.А. Джатдоева, Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2016. Т. 57. № 1. С. 41-52.
17. Вяткин, А.В. Напитки антиоксидантной направленности как метод борьбы с окислительным стрессом / А.В. Вяткин, О.В. Чугунова // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6. № 4 (19). С. 119-126.
18. Домотенко, Л.В. Этапы развития производства питательных сред в ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии / Л.В. Домотенко, О.В. Полосенко, А.П. Шепелин // Бактериология. 2019. Т. 4. № 4. С. 61-67.

19. Егорова, И.Ю. Микробиологические питательные среды нового формата в ветеринарно-санитарной оценке продуктов питания и сырья животного происхождения / И.Ю. Егорова, В.Е. Никитченко, Д.В. Никитченко, А.Н. Чернышева, Е.О. Рысцова // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2017. Т. 12. № 1. С. 76-85.
20. Еропкин, М. Ю. Культура клеток как модельная система исследования токсичности и скрининга цитопротекторных препаратов / М.Ю. Еропкина, Е. М. Еропкина. - СПб.: МОРСАР, 2003. – 240 с.
21. Завадский, С.П. Физико-химические методы изучения антиоксидантной активности растительного сырья и продуктов его переработки / И.И. Краснюк, Ю.Я. Харитонов, В.В. Тарасов, А.Н. Кузьменко, Д.А. Козин, Н.Б. Саидов, О.В. Ольшанская, А.А. Евграфов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 2 (19). С. 214-221.
22. Закотеев, Ю. А. Хемилюминесценция. Принципы и методики регистрации, оборудование, задачи / Ю. А. Закотеев // Москва 2015 г.
23. Зенков, Н.К. Аутофагия как механизм защиты при окислительном стрессе / Н.К. Зенков, А.В. Чечушков, П.М. Кожин, Г.Г. Мартинович, Н.В. Кандалинцева, Е.Б. Меньщикова // Бюллетень сибирской медицины. 2019. Т. 18. № 2. С. 195-214.
24. Ибрагимова, Д.А. Влияние поверхностно-активных веществ на хемилюминесцентную реакцию люминол–пероксид водорода / Д.А. Ибрагимова, О.М. Камиль, Т.В. Янькова, Н.А. Яштулов, Н.К. Зайцев // Тонкие химические технологии. 2017. Т. 12. № 6. С. 71-76.
25. Камиль, О. М. Обзор влияние условий процесса на хемилюминесценции (хл) в ходе химической реакции люминола - перекисью водорода в присутствии катализатора / О. М. Камиль // Аллея науки. 2017. № 7. С. 207-220.

26. Карпенко, Е. А. Анализ про- и антиоксидантной систем в плазме крови больных аденомой и раком простаты / Е. А. Карпенко // Красноярск : СФУ, 2019.
27. Кичерова, О. А. Вред и польза окислительного стресса / О. А. Кичерова, Л. И. Рейхерт, К. П. Кичерова // Медицинская наука и образование Урала. 2019. Т. 20. № 4 (100). С. 193-196.
28. Колтовой, Н. А. Книга 4. Часть 1. Хемилюминесценция / Колтовой Н. А. // Москва. 2017. 145с.
29. Кулыгин, Д.А. Разновидности люминесценции / Д.А. Кулыгин // 1. Инновационная наука. 2016. № 12-4. С. 36-38.
30. Куликова, Н.А. Влияние антибиотиков на формирование окислительного стресса бактерий / Н.А. Куликова // Международный студенческий научный вестник. 2017. № 4-5. С. 614-615.
31. Кустова, И. А. Разработка технологии новых пищевых продуктов с использованием экстрактов из вторичного виноградного сырья / И. А. Кустова // автореферат дис. кандидата технических наук / Сев.-Кавказ. зон. науч.-исслед. ин-т садоводства и виноградарства. Краснодар, 2016
32. Лаврский, А.Ю. Влияние микроволнового излучения различных частот на рост культур *Escherichia coli* / А.Ю. Лаврский, Н.Ю. Калугина // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. Серия № 2. Физико-математические и естественные науки. 2020. № 1. С. 36-44.
33. Литусов, Н.В. Эшерихии / Н.В. Литусов // Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2016. - 36 с.
34. Лудан, В.В Роль антиоксидантов в жизнедеятельности организма / В.В. Лудан Л. В. Польская // Таврический медико-биологический вестник. 2019. Т. 22. № 3. С. 86-92
35. Лысенко, В.И. Оксидативный стресс как неспецифический фактор патогенеза органных повреждений (обзор литературы и собственных

- исследований) / В.И. Лысенко // Медицина неотложных состояний. 2020. Т. 16. № 1. С. 24-35.
36. Мелихова, Л.А. Теоретические основы определения уровня токсичности свободных радикалов с использованием люминесцирующих бактериальных клеток / Л.А. Мелихова Ю.В. Миндолина // Международный студенческий научный вестник. 2017. № 4-3. С. 269-270.
37. Небесная, Е.Ю. Влияние окислительного стресса на регуляцию сосудистого тонуса / Е.Ю. Небесная // Международный студенческий научный вестник. 2017. № 6. С. 165.
38. Николаев, А.А. Свободные радикалы и биоантиоксиданты в репродуктивных процессах (обзор литературы) / А.А. Николаев, П.В. Логинов, Е.Б. Мавлютова, А.А. Белявская // Проблемы репродукции. 2018. Т. 24. № 1. С. 21-26.
39. Павлов, В.Н. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы/В.Н. Павлов, И.Р. Рахматуллина, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Пушкарев, К.В. Данилко, Э.Ф. Галимова, Ю.Л. Баймурзина, И.В. Петрова, К.С. Мочалов// Креативная хирургия и онкология. 2017. Т. 7. № 2. - с. 54-61.
40. Павлов, В.Н. Сравнительный анализ антиоксидантных эффектов коэнзима q и l-карнитина у мужчин с идиопатической патоспермией / В.Н. Павлов, Э.Ф. Галимова, В.А. Катаев, Р.Р. Фархутдинов, К.С. Мочалов, Ю.Л. Баймурзина, Ш.Н. Галимов // Медицинский вестник Башкортостана. 2013. Т. 8. № 6. - С. 161-163.
41. Панкратова, Н.А. Исследование процесса культивирования *E. coli* в реакторе периодического действия / Н.А. Панкратова Д.А. Табакова, Е.В. Гусева // Успехи в химии и химической технологии. 2017. Т. 31. № 9 (190). С. 32-33.
42. Петерса, М. А. Изменение экспрессии антиоксидантных генов при росте *Escherichia coli* на различных источниках углерода и энергии / М. А.

- Петерс, Н. Г. Музыка, А. В. Тюленев, О. Н. Октябрьский, Г. В. Смирнова // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2016. № 4. С. 356-361.
43. Пельтек, С.Е. Стрессовые системы *Escherichia coli* и их роль в реакциях на воздействие терагерцового излучения / С.Е. Пельтек, Е.В. Демидова, В.М. Попик, Т.Н. Горячкова // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. № 6. С. 876-886.
44. Пискарев, И. М. Инициирование и исследование свободно-радикальных процессов в биологических экспериментах / И. М. Пискарев, И. П. Иванова, А. Г. Самоделкин, М. Н. Иващенко // — Н. Новгород: ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА, 2016. — 140 с.
45. Поляк М.С., Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. СПб: ЭЛБИ, 2008. - С. 78-96
46. Постникова, Л.Б. Оксидативный стресс, индуцированный антибактериальными препаратами, и антибиотикорезистентность бактерий / Л.Б. Постникова, С.К. Соодаева, И.А. Климанов, Н.И. Кубышева, К.И. Афиногенов, М.В. Глухова, Л.Ю. Никитина // Пульмонология. 2017. Т. 27. № 5. С. 664-671.
47. Проскурнина, Е.В. Свободные радикалы как участники регуляторных и патологических процессов / Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Сборник: Фундаментальные науки – медицине. Биофизические медицинские технологии. Под редакцией А.И. Григорьева и Ю.А. Владимирова
48. Романцева, Ю.Н. Усовершенствование питательных сред с использованием пантолизата / Ю.Н. Романцева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2018. № 7 (165). С. 127-132.
49. Рекша, В. Э. Антиоксиданты и свободные радикалы / В. Э. Рекша // В сборнике: ДЕКАДА ЭКОЛОГИИ. материалы XI Международного конкурса. 2017. С. 126-129.
50. Скоморина, Ю.А. Сравнительная оценка дифференциально-диагностических сред для выделения *Escherichia coli* с целью применения в ветеринарных лабораториях / Ю.А. Скоморина, А.А.

Кремлева, Л.Ш. Ахметова, Т.А. Подольская, А.П. Шепелин, О.В. Полосенко // Бактериология. 2020. Т. 5. № 2. С. 24-32.

51. Ситникова, О. Г. Исследование хемилюминесценции сыворотки крови в присутствии нанокompозита полистирол/бентонит/ магнетит in vitro / О. Г. Ситникова, О. В. Алексеева, М. М. Клычева, А. Н. Родионова, С. Б. Назаров, А. В. Агафонов // Таврический медико-биологический вестник. 2018. Т. 21. № 2-1. С. 83-87.

52. Сутормина, Л.В. Исследование бактериостатической и антиоксидантной активности экстракта левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) в растущих культурах *Escherichia coli* / Л.В. Сутормина, Г.В. Смирнова, О.Н. Октябрьский // Химия. Экология. Урбанистика. 2020. Т. 2020-2. С. 191-195.

53. Сулейманова, А.Д. Роль минеральных веществ в регуляции процессов свободно-радикального окисления в организме / А.Д. Сулейманова, Е.Н. Любина // Actualscience. 2016. Т. 2. № 1. С. 7-8.

54. Ситникова, О. Г. Исследование общей антиокислительной активности пуповинной крови и лизата клеток сосудов пуповины новорожденных методом хемилюминесценции / О. Г. Ситникова, И. Г. Попова, С. Б. Назаров, Г. Н. Кузьменко, М. М. Клычева // Таврический медико-биологический вестник. 2017. Т. 20. № 2-2. С. 151-153.

55. Тарасенко, Е.А. Определение свободно-радикальной активности твердых веществ с помощью системы химических реагентов / Е.А. Тарасенко, Е.А. Гудкова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2016. № 18 (239). С. 104-107.

56. Теселкин, Ю.О. Модифицированный хемилюминесцентный метод определения антиоксидантной способности биологических жидкостей и тканей / Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, А.Н. Осипов // Биофизика. 2019. Т. 64. № 5. С. 883-892.

57. Фархутдинов, Р.Р. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилуминомере ХЛ-003/Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевдорадзе // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ. М., РУДН. 2005. - с.147-154.
58. Фархутдинов, Р.Р. Влияние питательных сред на процессы свободнорадикального окисления/Р.Р. Фархутдинов, И.В. Петрова, К.С. Мочалов, Д.Р. Гизатуллина, К.О. Эксакустиди, А.А. Алимгулова//Биорадикалы и антиоксиданты. 2016. Т. 3. № 4. - с. 18-21.
59. Фархутдинов, Р.Р. Хемилюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в медицине / Р.Р. Фархутдинов, В.А. Лиховских // Уфа 1995, 90 с.
60. Фурман, Ю. В. Окислительный стресс и антиоксиданты / Ю. В. Фурман, Е. Б. Артюшкова, А. В. Аниканов // Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания. 2019. № 1 (17). С. 1-3.
61. Ходос, М.Я. Мониторинг окислительного стресса в биологических объектах / М.Я. Ходос, Я.Е. Казаков, М.Б. Видревич, Х.З. Брайнина // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2017. Т. 14. № 3. С. 262-274.
62. Ходос, М.Я. Окислительный стресс и его роль в патогенезе / М.Я. Ходос, Я.Е. Казаков, М.Б. Видревич, Х.З. Брайнина // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2017. Т. 14. № 4. С. 381-398.
63. Шаповалов, Ю.А. Радикалы в структурах клетки / Ю.А. Шаповалов, П.П. Гладышев, С.Т. Тулеуханов, Е.В. Швецова, Ж.Т. Абдрасулова // Биофизика. 2020. Т. 65. № 4. С. 691-704.
64. Шичкова, Ю.С. Роль путей клеточной сигнализации в развитии последствий окислительного стресса / Ю.С. Шичкова // Научный электронный журнал Меридиан. 2020. № 3 (37). С. 6-8.

65. Шлапакова, Т. И. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии / Т. И. Шлапакова, Р. К. Костин, Е. Е. Тягунова // Биоорганическая химия. 2020. Т. 46. № 5. С. 466-485.
66. Carolus H, Pierson S, Lagrou K, Van Dijck P (2020). “Amphotericin B and other polyenes—discovery, clinical use, mode of action and drug resistance”. *Journal of Fungi*. 6: 321. DOI:10.3390/jof6040321. PMID 33261213.
67. Sokol-Anderson, M.; Sligh, J.E., Jr.; Elberg, S.; Brajtburg, J.; Kobayashi, G.S.; Medoff, G. Role of cell defense against oxidative damage in the resistance of *Candida albicans* to the killing effect of amphotericin B. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988, 32, 702–705.
68. Sokol-Anderson, M.L.; Brajtburg, J.; Medoff, G. Amphotericin B-induced oxidative damage and killing of *Candida albicans*. *J. Infect. Dis.* 1986, 154, 76–83.
69. M. T. Leccia, N. Auffret, F. Poli, J.-P. Claudel, S. Corvec. Topical acne treatments in Europe and the issue of antimicrobial resistance (англ.) // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : Review*. — 2015. — August (vol. 29, iss. 8). — P. 1485–1492. — ISSN 1468-3083. — doi:10.1111/jdv.12989. — PMID 25677763. Архивировано 12 августа 2021 года.
70. Ryan Gamble, Jeff Dunn, Annelise Dawson, Brian Petersen, Lauren McLaughlin. Topical Antimicrobial Treatment of Acne Vulgaris (англ.) // *American Journal of Clinical Dermatology : Review*. — 2012. — 1 June (vol. 13, iss. 3). — P. 141–152. — ISSN 1179-1888. — doi:10.2165/11597880-000000000-00000. — PMID 22268388.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Хаматшина Л. А.
Самоцитирование рассчитано для: Хаматшина Л. А.
Название работы: Оксидативные эффекты средств для лечения акне и воспаления кожи
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение: Башкирский Государственный Медицинский Университет

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ	28.45%	СОВПАДЕНИЯ	28.18%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	47.28%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	70.96%
ЦИТИРОВАНИЯ	24.27%	ЦИТИРОВАНИЯ	0.86%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 20.06.2024

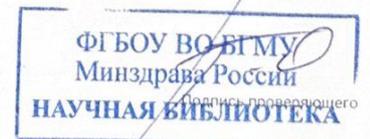
ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 25.06.2024 14:40

Структура документа: Проверенные разделы: библиография с.37-45, титульный лист с.1, содержание с.2, основная часть с.3-36
Модули поиска: Переводные заимствования*; Перефразирования по коллекции IEEEE; Цитирование; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Библиография; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; ИПС Адилет; Шаблонные фразы; IEEEE; Публикации eLIBRARY; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования (RuEn); Перефразирования по Интернету (EN); Коллекция НБУ; СМИ России и СНГ; Диссертации НББ; СПС ГАРАНТ: аналитика; Патенты СССР, РФ, СНГ; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Публикации РГБ; Медицина; Сводная коллекция ЭБС; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Кольцо вузов; Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Перефразирования по Интернету;

Работу проверил: Банникова Ольга Сергеевна
ФИО проверяющего

Дата подписи:

25.06.2024



Чтобы убедиться в подлинности справки, используйте QR-код, который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего. Предоставленная информация не подлежит использованию в коммерческих целях.