

УДК 616.153.915-074:616.12-005.4 + 616.379-008.64

ПРИНЦИПЫ И ПОДХОДЫ К ТЕСТИРОВАНИЮ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ЛЕЧЕБНЫХ ГРЯЗЕЙ IN VITRO

Павлюченко И.И., Каде А.Х., Ременякина Е.И., Охременко О.С.

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, e-mail: vochka@rambler.ru

В статье изложены данные относительно про- и антиоксидантных свойствах глины Новосвободненского месторождения Республики Адыгея для перспектив использования в ее качестве лечебной грязи. При исследовании антирадикальной и антиоксидантной активности образцов глины с помощью хемилуминесцентного метода (ХЛ) проводилось определение следующих показателей ХЛ: максимума быстрой вспышки ХЛ (МВХЛ) в сравнении с эталоном ($h_{\text{hem}}\%$) и площади быстрой вспышки ХЛ (ПВХЛ) за 25 секунд в сравнении с эталоном ($S_{25\text{hem}}\%$). Одновременно с ХЛ использовался амперометрический метод определения общей антиоксидантной активности (АОА), заключающийся в измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале и сравнении полученного сигнала, регистрируемого при помощи аппарата Яуза-ААА-01, с калибровочным стандартом, например аскорбиновой кислотой, измеренного в тех же условиях. Определение модулирующего влияния на антиоксидантный потенциал биологических жидкостей тестируемых объектов производили в тест-системах *ex vivo* после инкубации растворов тестируемых веществ с кровью. Результаты модулирующего влияния на компоненты крови определялись амперометрически в сравнении с нативными образцами крови и выражались в нАмп/с. Для изучения влияния температурных режимов на физико-химические и биологические свойства грязевых форм глины она подвергалась кипячению. После кипячения образцов изучалась общая антиоксидантная активность амперометрическим способом и антирадикальная активность ХЛ методом, а также способность фильтратов образцов кипяченной и некипяченной грязевой формы глины влиять на процессы свободнорадикального окисления (СРО) в искусственных модельных тест-системах на основе водно-спиртово-масляной смеси (ВМС), подготовленных по авторской методике. Полученные данные свидетельствуют о том, что компоненты фильтрата грязевой формы исследуемой глины обладают как прямыми антиоксидантными и антирадикальными свойствами, так и оказывают косвенными эффектами в отношении модулирующего воздействия на окислительно-восстановительный потенциал крови, что важно учитывать при проведении дальнейших исследований, в том числе и на биообъектах и при клинических испытаниях.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, перекисное окисление липидов, люминол-зависимая H₂O₂-индуцированная хемилуминесценция, антиокислительный потенциал, глина Новосвободненского месторождения РА

INFLUENCE OF PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS ON PRO-/ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CLAY SAMPLES OF NOVOSVOBODNENSKIY FIELD

Pavluchenko I.I., Kade A.H., Remenyakina E.I., Ohremenko O.S.

Kuban State Medical University, Krasnodar, e-mail: vochka@rambler.ru

The article presents data on the possible pro-and antioxidant properties of clay deposits Novosvobodnenskiy field. In the study of antiradical and antioxidant activity of clay samples we measured the following indicators luminol-dependent H₂O₂-induced chemiluminescence (CL): CL maximum quick flash (MVHL) compared with the standard (h_{hem}%) and area quick flash chemiluminescence (PVHL) for 25 seconds compared to the standard (S_{25hem}%). Simultaneously with the CL used amperometric method for the determination of the total antioxidant activity (AOA), which consists in measuring the electric current, which occurs during the oxidation of the test substance (or mixture of substances) on the surface of the working electrode at a certain potential and compared the resulting signal recorded using the unit – Jauza AAA 01, a calibration standard such as ascorbic acid measured under the same conditions. Determination modulating effect on the antioxidant capacity of biological liquids test objects produced in the test system after the *ex vivo* incubation of solutions of the test substances with blood. Results modulating effect on blood components determined amperometrically compared with native blood samples and expressed in nAmp/s. After boiling the samples studied total antioxidant activity amperometric method and antiradical activity chemiluminescent method as well as the ability of leachate samples boiled and unboiled mud clay forms to influence the processes of free radical oxidation (CPO) *in vitro* model test systems solutions Navy prepared on the basis of copyright patent. Based on these data we can say that the components of the samples of mud filtrate obtained by dilution of the clay deposits of the Republic of Adygea Novosvobodnenskiy field have direct antioxidant and antiradical properties and also have indirect effects on the modulating effect on the redox potential of the blood, which is important to consider in conducting further research, including clinical trials.

Keywords: antioxidant activity, lipid peroxidation, luminol-dependent H₂O₂-induced chemiluminescence, antioxidant capacity, clay deposits Novosvobodnenskogo RA

Грязелечение является одним из наиболее древних методов лечения с использованием природных факторов. Грязелечение является эффективным методом изменения реактивности целостного организма, затрагивающим системные, регуляторные процессы и активирующим саногенетические

(лат. *sanitas* – здоровье, греч. *genesis* – происхождение) механизмы. При этом считается, что при грязевых аппликациях на кожу ответная реакция организма имеет две фазы: нервно-рефлекторную и нервно-химическую. Для первой, нервно-рефлекторной, фазы свойственно непосредственное

раздражение нервных рецепторов кожи, что приводит к возбуждению соответствующих центров нервной системы, а в конечном результате – к перестройке обмена веществ в организме. Для второй фазы характерно образование в коже (под влиянием проникающих из грязи соединений) биохимически активных веществ, которые, поступая в системный кровоток, вызывают каскад сано-генетических реакций (6).

Доказано, что грязевые аппликации усиливают периферическое кровообращение, способствуют улучшению оксигенации тканей и, как следствие, интенсификации метаболических процессов, в том числе окислительно-восстановительных реакций. Во время приема процедур учащаются пульс и дыхание, повышается артериальное давление, которое затем снижается, усиливается потоотделение, повышается функция мочевого выделения. Существенную роль в развитии и течении указанных изменений играет вегетативная нервная система. Но одновременно все это способствует активации процессов образования активных форм кислорода, индукции реакций свободнорадикального окисления (СРО), которые в зависимости от обстоятельств и функциональной активности адаптационных механизмов организма могут нести как позитивные, так и негативные последствия и могут быть связаны с развитием местного или общего окислительного стресса (ОС). Развитие ОС возможно и в связи с тем, что грязелечение проводится пациентам, которые обратились за санаторно-курортным лечением по поводу каких-то проблем со здоровьем. В условиях ОС значительно активируются реакции СРО и перекисного окисления липидов, которые, с одной стороны, способствуют обновлению клеточных структур, а с другой – участвуют в дегенеративных процессах [1, 2].

В настоящее время неоспоримым фактом является то, что многие физиологические и патологические состояния и болезни человека сопровождаются снижением функциональных возможностей системы антиоксидантной защиты организма (АОЗ), дисбалансом в системе про-/антиоксиданты и, как следствие, ОС [7, 15, 11, 12, 14]. При этом такие пациенты часто являются объектами бальнеолечения, которым применяются различные процедуры, в том числе и грязелечение, без учета состояния их адаптационных систем. Исходя из этого важны сведения о возможных про-/антиоксидантных свойствах лечебных грязей и процедур грязелечения, которые могут быть обусловлены как прямыми, так и косвенными эффектами компонентов грязей

и их метаболическими эффектами на организм. Так, в ряде клинических и экспериментальных работ показано, что липидные комплексы и иные биологически активные вещества в составе лечебных грязей обладают повышенной проникающей способностью даже через неповрежденную кожу и запускают клеточные реакции по типу асептического воспаления. Обладая рядом свойств, в том числе и антиоксидантными [3], компоненты грязей оказывают в совокупности обезболивающий и противовоспалительный эффекты, принимают участие в процессах регуляции микроциркуляции. Лечебные грязи – иловые сульфидные, торфяные – оказывают выраженное антимикробное действие, что объясняется высоким содержанием сульфидных групп, ионов брома, цинка и аналогов антибиотиков. Фунгицидными (противогрибковыми) свойствами обладает лечебная грязь Се-строрецкого месторождения. Эти лечебные грязи относятся к группе серно-железистых сапропелей, или гиттиевых глин.

Особое значение приобретает исследование природных источников глины в различных регионах Краснодарского края и Республики Адыгея, т.к. здесь сосредоточено большое количество мест санаторно-курортного лечения, где широко используется грязелечение, а, следовательно, и есть потребность в лечебных грязях. В частности, хорошие перспективы имеет разработка и использование глины Новосвободненского месторождения Республики Адыгея, которое имеет достаточные запасы природной глины.

Данная глина по заключению ФГУ «Пятигорский ГНИИК ФМБА России» не содержит вредных веществ и тяжелых металлов в количествах, превышающих ПДК для природных субстратов (протокол № 1517 от 28.12.2009 г.) и поэтому может использоваться в бальнеологических целях после проведения соответствующих фармакологических и клинических испытаний. Глина относится к кислым, т.к. ее pH 3,44. В глине содержится достаточно много железа суммарно в виде оксида Fe(III) – 5,95% на абсолютно сухое вещество. Содержание сульфидной серы составляет 1,52%. Содержание естественных радионуклидов Ra, U, Th превышает обычные средние значения, так же как и повышенное содержание техногенного Cs. Однако расчет Аэфф (8) дает значение 287 Бк/кг, что соответствует критерию материала 1 класса (≤ 370 Бк/кг). В целом, согласно протоколу исследования, изучаемая глина по своему составу и свойствам, согласно критериям оценки качества лечебных грязей [4], является близким ана-

логом лечебной окисленной гиттиевой глины Сестрорецкого месторождения.

Целью настоящего исследования явилось изучение возможных про- и антиоксидантных свойств фильтратов образцов глины Новосвободненского месторождения Республики Адыгея в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Для исследования бралось 5 г сухого образца глины, которая разводилась в 10 мл воды, тщательно размешивалась и оставлялась на сутки при комнатной температуре. Затем перед исследованием образец помещался в водяную баню при 37°C на 1 ч с постоянным перемешиванием, после чего производилось центрифугирование образца грязи в течение 15 мин, сливалась надосадочная жидкость, фильтровалась через специальный фильтр, и полученный бесцветный раствор использовался для исследования про-/антиоксидантных свойств. Расчет активности проводился на 1 г сухого образца глины. Перед исследованием полученная жидкость разводилась в 2–4–8 раз для выявления концентрационных эффектов. Для исследования влияния температурных режимов на физико-химические и биологические свойства грязевых форм глины разведенные образцы глины подвергались кипячению в течение 15 мин.

Для тестирования про-/антиоксидантных свойств полученных образцов использовалась люминол-зависимая H₂O₂-индуцированная хемилюминесценция (ХЛ), которая проводилась на хемилюминотестере ЛТ-1 производства НПО «Люмин» (г. Ростов-на-Дону) по авторской методике [9]. Изучение динамики процесса ХЛ производилось с помощью аппаратно-программного комплекса с программным обеспечением, позволяющим оцифровывать аналоговый сигнал с выхода хемилюминотестера ЛТ-1 (10). Данный способ позволяет проводить определение максимальной амплитуды вспышки ХЛ (МВХЛ), площади затухания вспышки ХЛ (ПВХЛ). В качестве эталона используется реакционная смесь без биологического образца, содержащая активатор СРО – люминол. Антиоксидантные или прооксидантные свойства исследуемых веществ определяются как процент ингибирования или активации индуцированных реакций СРО с участием люминола. При этом МВХЛ отражает наличие прямых антиоксидантных веществ в исследуемом образце, а ПВХЛ указывает на общий антиоксидантный потенциал системы чем больше процент гашения индуцированной вспышки ХЛ, тем выше антирадикальный потенциал исследуемого образца.

Одновременно с ХЛ-анализом использовался амперометрический метод определения общей антиоксидантной активности, заключающийся в измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности специального рабочего электрода при определенном потенциале и сравнении полученного сигнала, регистрируемого при помощи аппарата Яуза-ААА-01, с калибровочным стандартом, например, аскорбиновой кислотой, измеренного в тех же условиях и выражаемых в нАм/с [13].

Определение модулирующего влияния на антиоксидантный потенциал биологических жидкостей тестируемых объектов производили в тест-системах *in vitro* и *ex vivo* после инкубации растворов тестируемых веществ с кровью. После добавления и инкубации с кровью определенного объема тестируемого раствора грязи определялись вышеописанные показатели ХЛ и амперометрии плазмы в сравнении с контролем. Для этого подготовленные фильтраты глины добавлялись в образцы крови в соотношении 2 мл крови и 200 мкл неразведенного фильтрата. Образцы тщательно перемешивались и инкубировались в термостате при 37°C 30 минут. Затем образцы крови центрифугировались и надосадочную жидкость использовали для исследования ее антиоксидантной и антирадикальной активности (как описано выше для фильтратов грязевых образцов глины). После кипячения образцов изучалась общая антиоксидантная активность амперометрическим способом и антирадикальная активность хемилюминесцентным методом, а также способность фильтратов образцов кипяченной и некипяченной грязевой формы глины влиять на процессы свободнорадикального окисления (СРО) в искусственных модельных тест-системах растворов ВМС, подготовленных по авторской методике [8].

Результаты исследования и их обсуждение

После проведения подготовительных этапов и определения про-/антиоксидантной активности как самих фильтратов исследуемой грязи, так и образцов крови после инкубации с фильтратами грязи выявлены прямые и модулирующие антиоксидантные и антирадикальные эффекты. В табл. 1 представлены средние данные по изучению общей антиоксидантной активности амперометрическим методом и антирадикальной активности ХЛ способом различных разведений фильтратов грязевой формы глины.

Таблица 1

Показатели общей антиоксидантной активности и уровня гашения индуцированной вспышки хемилюминесценции в присутствии фильтрата исследуемой глины

Разведение	АОА в мг витамина С на 1 г сухого в-ва	МВХЛ – % гашения люминола	ПВХЛ (ПВХЛ люминола 388,4)
0	19	24	349
2	15	54	333
4	13	60	324
8	8	68	311

Как видно из представленных данных, фильтраты исследуемых образцов глины обладают как антиоксидантными, так и антирадикальными свойствами. При изучении дозозависимых эффектов установлено, что с разведением общая антиоксидантная активность понижается практически пропорционально разведению, а антирадикальная активность, наоборот, возрастает практически в такой же зависимости. Это может свидетельствовать как о присутствии веществ с антиоксидантными свой-

ствами (в основном органические вещества и, прежде всего серосодержащие), так и компонентов с прооксидантными свойствами (металлы переменной валентности, роданиды и пр.).

При изучении температурного влияния на про-/антиоксидантные свойства грязи выявлены результаты, отражающие значительное влияние кипячения на общую антиоксидантную активность и антирадикальные свойства компонентов глины, что отражено в табл. 2.

Таблица 2

Общая антиоксидантная активность (амперометрический метод) и антирадикальная активность и емкость исследуемых образцов глины (ХЛ-анализ) после кипячения

Фильтрат глины некипяченой		Фильтрат глины кипяченой		Контроль (р-р люминола)
Показатель ХЛ	Процент ингиб.	Показатель ХЛ	% ингиб.	Показатель ХЛ
МВХЛ	8,61	2,84	73,1	10,56
ПВХЛ	457,2	436,9	14,6	511,5
АОА	нАмп/с	АОА	нАмп/с	Контроль (вит. С – 5% р-р)
	2216,7 нАмп/с		980,6 нАмп/с	845,4 нАмп/с

После кипячения антирадикальная активность грязевых образцов глины повышается значительно, при этом непосредственный антирадикальный потенциал (МВХЛ) возрастает существенно, практически в 4 раза, а антирадикальная емкость (ПВХЛ) изменяется незначительно (в 1,4 раза). При этом общая антиоксидантная активность снижается практически в два раза – на 55,8%. Это, возможно, объясняется осаждением и/или разрушением

после кипячения различных компонентов глины, обладающих прооксидантной активностью (ионы металлов переменной валентности, органические радикалы, производные органических веществ липидной природы).

Изучение ингибирующего или активирующего процессы СРО влияния фильтратов глины в модельных тест-системах с ВМС до и после кипячения образцов грязевых форм глины отражено в табл. 3.

Таблица 3

Ингибирующая процессы СРО активность исследуемых образцов глины, индуцированных Fe^{2+} и перекисью водорода, в мицелярных тест-системах с ВМС

Фильтрат глины некипяченой		Фильтрат глины кипяченой		Контроль (р-р ВМС)
Оптическая плотность	% ингиб.	Оптическая плотность	% ингиб.	Оптическая плотность
450 нм	0,8983	0,726	2,8	1,0147
532 нм	0,6252	0,925		0,684

Ингибирующая активность исследуемых образцов фильтратов грязевой формы глины достаточно низкая, при кипячении она практически исчезает, что соответствует данным, полученным при исследовании общей антиоксидантной активности образцов амперометрическим способом.

Результаты исследования моделирующего влияния фильтратов грязевой формы глины на про-/антиоксидантный потенциал биологических жидкостей после инкубации тестируемых растворов с кровью представлены в табл. 4.

В результате исследований получены данные, которые свидетельствуют, что антиокислительной потенциал крови в присутствии фильтрата глины в большинстве случаев значительно снижается, скорее всего, из-за присутствия в фильтрате ионов металлов переменной валентности, которые могут инициировать процессы СРО в крови, особенно в присутствии перекисных продуктов, и одновременно ослаблять ее антиокислительный потенциал. На антирадикальный показатели крови добавление фильтрата в тех объемах, которые описаны в методиках, не оказывает существенного влияния.

Таблица 4

Показатели модулирующего влияния фильтрата глины на антиоксидантную и антирадикальную активность крови *in vitro*

Проба № п/п	АОА в нАмп/с		МВХЛ – % гашения люминола		ПВХЛ (площадь люминола 388,4)	
	Кровь + фильтрат	Кровь	Кровь + фильтрат	Кровь	Кровь + фильтрат	Кровь
1	280	1220	3,5	4,2	403	442
2	250	855	3,5	4,3	437	453
3	260	1005	3,9	4,0	401	353
4	219	950	2,8	3,9	283	429
5	176	1010	3,11	3,57	290	424
М	237	1008	3,36	4	363	420

На основании полученных данных можно констатировать:

1) компоненты фильтрата исследуемых образцов грязи, полученных при разведении глины Новосвободненского месторождения Республики Адыгея, обладают прямыми антиоксидантными и антирадикальными свойствами и одновременно обладают косвенными эффектами в отношении модулирующего воздействия на окислительно-восстановительный потенциал крови, что важно учитывать при проведении дальнейших исследований, в том числе и клинических испытаний. При проникновении в ткани и кровеносную систему компонентов грязи они могут изменять как местный, так и общий про-/антиоксидантный потенциал помимо косвенных метаболических эффектов;

2) высокие температуры могут влиять на антирадикальные и антиоксидантные свойства лечебных грязей. Это особенно актуально при повторных и/или неоднократных нагреваниях лечебной грязи перед ее использованием;

3) ингибирующая активность исследуемых образцов фильтратов грязевой формы глины в отношении индуцированных процессов СРО в модельных тест-системах достаточно низкая, при кипячении она практически исчезает, что соответствует данным, полученным при исследовании общей антиоксидантной активности образцов амперометрическим способом;

4) модулирующие эффекты фильтратов грязевой формы исследуемой глины в отношении про-/антиоксидантного потенциала крови в условиях *ex vivo* отражают наличие в образцах компонентов с прооксидантными свойствами;

5) используемые методы позволяют проводить доклинические исследования различных средств лекарственных и профилактических средств, в т.ч. и используемых в бальнеолечении.

Список литературы

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биомембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
2. Воейков В.Л. Регуляторные функции активных форм кислорода в крови и в водных модельных системах: автореф. дис. ... д-ра биол.наук. – М., 2003. – 48 с.
3. Жданова А. В. Изучение структурных компонентов и физико-химических свойств гуминовых веществ низкоминерализованных иловых сульфидных грязей как источника антиоксидантных лекарственных средств: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Самара, 2011. – 24 с.
4. Критерии оценки качества лечебных грязей при их разведке, использовании и охране: Методические указания // МЗ СССР. – М., 1987. – 24 с.
5. Любичкий О.Б., Клебанов Г.И. Применение метода хемилюминесценции для определения антиоксидантной активности пищевых и биологически активных добавок. // Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека: материалы национальной научно-практической конференции с международным участием (19-22 сентября 2001 г.). – Смоленск, 2001. – С. 11–12.
6. Маньшина Н.В. Курортология для всех. За здоровьем на курорт. – М.: Вече, 2007. – 592 с. (83-94) <http://sankurtur.ru/press/book>.
7. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
8. Павлюченко И.И., Басов А.А., Федосов С.Р. Патент на изобретение № 2182706 от 15.01.2001
9. Павлюченко И.И., Басов А.А., Федосов С.Р. Способ диагностики окислительного стресса организма человека. Патент на изобретение № 2236008. – Заявл. 28.07.2003; Опубликовано 10.09.2004 – Б.25.
10. Павлюченко И.И., Басов А.А., Федосов С.Р. Система лабораторной диагностики окислительного стресса. Патент на полезную модель № 54787. – Заявл. 19.01.2006; опубл. 27.07.2006 – Б.21.; Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ 2006611562. Программа для регистрации сигналов хемилюминотестера ЛТ-1 / И.И. Павлюченко, С.Р. Федосов, А.А. Басов; заявитель и правообладатель Павлюченко И.И., Федосов С.Р., Басов А.А. – № 2006610783; заявл. 16.03.2006; зарег. 10.05.2006.
11. Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А. Хемилюминесцентные методы исследования в медицине // Свободные радикалы и болезни человека: материалы национальной научно-практической конференции с международным участием (19–22 сентября 1999 г.). – Смоленск, 1999. – С. 18–19.
12. Фролова О.И., Торопыгин П.Ю., Медведева И.В., Журавлева Т.Д., Киянюк Н.С., Платицын В.А. Состояние антиоксидантной защиты и липидных компонентов мем-

бран эритроцитов больных с впервые выявленным лейкозом. // Проблемы гематологии и переливания крови. – 2001. – № 1. – С. 34–40.

13. Яшин Я.И., Яшин А.Я., Пахомов В.П. Установка для определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений. Решение о выдаче патента на изобретение № 2003123073/15 (024965). Дата подачи заявки 25.07.2003 г.

14. Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. – Oxford: Clarendon Press, 1999.

References

1. Vladimirov Y.A., Archakov A.I. Lipid peroxidation in biological membranes. Moscow: Science, 1972. 252 p.

2. Voeikov V.L. Regulatory function of the active forms of oxygen in the blood and aqueous model systems: the dissertation author's Doctor of Medicine. Moscow, 2003. 48 p.

3. Zhdanov A.V. Study of structural components and physico-chemical properties of humic substances low-mineralized silt sulfide mud as a source of antioxidant drugs // Abstract of the dissertation author's Candidat of Pharmacy. Samara, 2011. 24 p.

4. Criteria for assessing the quality of curative mud with their exploration, use and protection: Guidelines // USSR Ministry of Health. M., 1987. 24 p.

5. Lyubitsky O.B., G.I. Klebanov Application of chemiluminescence to determine the antioxidant activity of food and dietary supplements // Free radicals, antioxidants and human diseases: Proceedings of the national scientific and practical conference with international participation (19-22 September 2001). Smolensk, 2001. pp. 11–12.

6. Manshina N.V. Balneologia The health of the resort. Moscow: Veche, 2007. 592 p. (83–94)

7. Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z. etc. Oxidative stress: Pathological pump condition and disease. Novosibirsk: ARTA 2008. 284 p.

8. Pavlyuchenko I.I., Basov A.A., Fedosov S.R. Patent № 2182706 from 15.01.2001.

9. Pavlyuchenko I.I., Basov A.A., Fedosov S.R. A method for diagnosing oxidative stress of the human body. Patent № 2236008. Add. 28.07.2003; Published. 10.09.2004 B. 25.

10. Pavlyuchenko I.I., Basov A.A., Fedosov S.R. System of laboratory diagnosis of oxidative stress. A utility model patent number 5478. Appl. 19.01.2006, publ. 27.07.2006 B.21; Certificate of official registration of computer programs 2006611562. Program for recording signals hemilyuminotestera LT-1 / I.I. Pavlyuchenko, S.R. Fedosov, A.A. Bass; applicant and copyright Pavlyuchenko I.I., S.R. Fedosov, A.A. Basov № 2006610783; appl. 16.03.2006 ; eV. 10.05.2006.

11. Farkhutdinov R.R., V.A. Likhovskiy Chemiluminescent methods of research in medicine // Free radicals and human diseases: Proceedings of the national scientific and practical conference with international participation (19–22 September 1999). Smolensk, 1999. pp. 18–19.

12. Frolov O., Toropygin P.Y., Medvedev I.V., Zhuravlev E.T., Kiyanyuk N.S., V.A. Platitsyn Status of antioxidant protection and lipid components of erythrocyte membranes of patients with newly diagnosed leukemia // Problems of Hematology and Blood Transfusion. 2001. no. 1. pp. 34–40.

13. Yashin Y.I., Yashin A.Y., Pakhomov V.P. Apparatus for determining the total antioxidant activity of biologically active compounds. The decision to grant a patent for the invention no. 2003123073 /15 (024965). Filing Date 25.07.2003.

14. Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Clarendon Press, 1999.

Рецензенты:

Литвинова Т.Н., д.п.н., профессор кафедры фундаментальной и клинической биохимии, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Краснодар;

Сампиев А.М., д.ф.н., профессор, заведующий кафедрой фармации, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 18.02.2014.