

## ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ФИТОКОСМЕЦЕВТИЧЕСКИХ ЗАЩИТНЫХ СРЕДСТВ СПОСОБСТВУЮЩИХ АДАПТАЦИИ К УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ И ИНДУКЦИИ МЕЛАНОГЕНЕЗА

**Л.В. Леухина**

преподаватель

кафедра молекулярной биологии и биотехнологии

Харьковский национальный университет

имени В.Н. Каразина

пл. Свободы 4, г. Харьков, 61022, Украина

тел.: +38 (097) 297-19-46

e-mail: lvl@artbeautyindustry.com

ORCID 0000-0002-0891-2990

**Введение.** Ультрафиолетовое излучение необходимо человеку для нормального функционирования организма, но длительное воздействие солнечного света, включающего ультрафиолетовое излучение спектра С приводит к онкологическим заболеваниям кожных покровов.

**Цель:** разработка фитокосмецевтических средств на натуральной основе, сокращающих период адаптации организма человека к ультрафиолетовому излучению, и поиск первичных тест-культур для испытания разработанных защитных средств.

**Материалы и методы.** В работе исследован естественный механизм восстановления жизнедеятельности микроорганизмов при кратковременном воздействии ультрафиолетового излучения спектра С. Изучена возможность сокращения периода адаптации организма человека к ультрафиолетовому излучению спектра С за счет применения разработанного автором защитного фитокосмецевтического средства. Впервые опробована возможность применения клеток дрожжей в качестве первичной тест-культуры при испытании новых фитокосмецевтических протекторных средств.

**Результаты.** В ходе исследования определены требования к защитным средствам организма человека от ультрафиолетового излучения спектра С для применения в экстремальных условиях, где есть существенные нарушения озонового слоя. Для защиты от чрезмерной инсоляции был разработан фитокосмецевтик на основе ингредиентов растительного происхождения, направленный на индуцирование меланогенеза. Полученные результаты показывают, что допустимо использовать *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen в качестве первичной тест-культуры при испытании защитных средств от ультрафиолетового излучения спектра С.

**Выводы.** Разработано защитное фитокосмецевтическое средство на натуральной основе, сокращающее период адаптации организма человека к ультрафиолетовому излучению за счет индукции меланогенеза. Найден удобный объект, который можно использовать в качестве первичной тест-культуры при испытании защитных средств от ультрафиолетового излучения спектра С.

**Ключевые слова:** ультрафиолетовое излучение спектра С, фотоповреждение кожи, естественные механизмы защиты, фитокосмецевтика, первичная тест-культура, адаптация, индукция меланогенеза.

### DEVELOPMENT OF PHYTCOSMECEUTICALS PROTECTIVE PRODUCTS WITH PROMOTING ADAPTATION TO ULTRAVIOLET RADIATION AND INDUCTION OF MELANOGENESIS

**L.V. Leukhina**

V.N. Karazin Kharkiv National University

4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

E-mail: lvl@artbeautyindustry.com

**Introduction.** Ultraviolet radiation is necessary for a person to function normally, but prolonged exposure to sunlight, including ultraviolet radiation of spectrum C, leads to cancer of the skin.

**Purpose:** the development of phytocosmeceutical agents on a natural basis, reducing the period of adaptation of the human body to ultraviolet radiation, and the search for primary test cultures for testing the developed protective agents.

**Materials and methods.** In the work, the natural mechanism for restoring the vital activity of microorganisms under the short-term exposure to ultraviolet radiation of spectrum C is studied. The possibility of reducing the period of adaptation of the human body to ultraviolet radiation of spectrum C through the use

of a protective phytocosmeceutical agent developed by the author is studied. The possibility of using yeast cells as a primary test culture for testing new phytocosmeceutical protective agents has been tested for the first time.

**Results.** The study identified the requirements for protective equipment of the human body against ultraviolet radiation of spectrum C for use in extreme conditions where there are significant violations of the ozone layer. To protect against excessive insolation, a phytocosmeceutical based on ingredients of plant origin was developed, aimed at inducing melanogenesis. The results show that it is acceptable to use *Saccharomyces cerevisiae Meyen ex E.C. Hansen* as the primary test culture for testing UV-C protective agents.

**Findings.** A natural phytocosmeceutical protective product has been developed that reduces the period of adaptation of the human body to ultraviolet radiation due to the induction of melanogenesis. A convenient object was found that can be used as a primary test culture when testing protective agents against ultraviolet radiation of spectrum C.

**Key words:** ultraviolet radiation of spectrum C, photodamage of the skin, natural defense mechanisms, phytocosmeceuticals, primary test culture, adaptation, induction of melanogenesis.

## ПЕРЕДУМОВИ ЩОДО СТВОРЕННЯ ФІТОКОСМЕЦЕВТИЧНИХ ЗАХИСНИХ ЗАСОБІВ, ЯКІ СПРИЯЮТЬ АДАПТАЦІЇ ДО УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ТА ІНДУКЦІЇ МЕЛАНОГЕНЕЗА

Л.В. Леухіна

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
E-mail: lv@artbeautyindustry.com

**Вступ.** Ультрафіолетове випромінювання необхідно людині для нормального функціонування організму, але тривала дія сонячного світла, що включає ультрафіолетове випромінювання спектра C призводить до онкологічних захворювань шкірних покривів людини.

**Мета:** розробка фітокосмецевтичних засобів на натуральній основі, що скорочують період адаптації організму людини до ультрафіолетового випромінювання, і пошук первинних тест-культур для випробування розроблених захисних засобів.

**Матеріали та методи.** В роботі досліджено природний механізм відновлення життєдіяльності мікроорганізмів при короточасному впливі ультрафіолетового випромінювання спектра C. Вивчено можливість скорочення періоду адаптації організму людини до ультрафіолетового випромінювання спектра C за рахунок застосування розробленого автором захисного фітокосмецевтичного засобу. Вперше випробувана можливість застосування клітин дріжджів в якості первинної тест-культури при випробуванні нових фітокосмецевтичних протекторних засобів.

**Результати.** В ході дослідження визначено вимоги до захисних засобів організму людини від ультрафіолетового випромінювання спектра C для застосування в екстремальних умовах, де є істотні порушення озонового шару. Для захисту від надмірної інсоляції був розроблений фітокосмецевтик на основі інгредієнтів рослинного походження, спрямований на індукування меланогенеза. Отримані результати показують, що припустимо використовувати *Saccharomyces cerevisiae Meyen ex E.C. Hansen* в якості первинної тест-культури при випробуванні захисних засобів від ультрафіолетового випромінювання спектра C.

**Висновки.** Розроблено захисний фітокосмецевтичний засіб на натуральній основі, що скорочує період адаптації організму людини до ультрафіолетового випромінювання за рахунок індукції меланогенеза. Знайдений зручний об'єкт, який можна використовувати в якості первинної тест-культури при випробуванні захисних засобів від ультрафіолетового випромінювання спектра C.

**Ключові слова:** ультрафіолетове випромінювання спектра C, фотошкодження шкіри, природні механізми захисту, фітокосмецевтика, первинна тест-культура, адаптація, індукція меланогенеза.

## Введение

Кожа человека постоянно подвергается различным воздействиям окружающей среды, особенно в экстремальных природных условиях Антарктиды, где из-за истончения озонового слоя жесткое ультрафиолетовое излучение (УФ излучение) способно повреждать ДНК клеток глубоких слоев кожи. Поэтому разработка экзогенных защитных средств, направленных на уменьшение влияния таких излучений, является актуальной.

УФ излучение является основным фактором окружающей среды, который влияет на функции многих типов клеток и рассматривается как основной фактор индукции опухолей кожи, таких как базально-клеточный рак, папиллярный (плоскоклеточный) рак кожи и злокачественная меланома. При естественной защитной реакции организма от УФ излучения включаются следующие механизмы: увеличение толщины эпидермиса, механизмы репарации ДНК и апоптоз, антиоксидантные фер-

менты и пигментация кожи. Из перечисленных механизмов пигментация кожи является наиболее важным фотозащитным фактором, поскольку меланин, помимо функционирования в качестве УФ-абсорбента, способен на молекулярном уровне останавливать разрушительное действие свободных перекисных радикалов и радиационного канцерогенеза. Кроме того, отмечена генетическая предрасположенность к возникновению рака кожи у людей со светлой, плохо восприимчивой к загару кожей. Среди темнокожего населения рак кожи встречается намного реже. Было высказано предположение, что вызванное ультрафиолетовым излучением фотоповреждение и восстановление последствий являются сигналами к началу меланогенеза. Другими словами, эпидермальная пигментация может представлять собой у млекопитающих механизм SOS-восстановления эквивалентный бактериальному.

УФ-излучение, которое достигает земной поверхности, состоит в основном из длинноволнового УФ излучения спектра А 320–400 нм, но лишь небольшая часть (по оценкам 5 %) средневолнового УФ излучения спектра В (280–320 нм) и коротковолнового УФ излучения спектра С (200–280 нм), которое не достигает поверхности земли, поскольку оно экранируется кислородом воздуха, а также поглощается озоновым слоем. Тем не менее, проникновение коротковолнового ультрафиолетового излучения усиливается из-за прогрессирующего истощения озонового слоя, что ведет к повышению риска канцерогенеза, вызванного этим излучением. Было подсчитано, что снижение озона на 1% увеличивает смертность от меланомы на 1–2%.

Одним из негативных действий УФ излучения является фотоповреждение ДНК. УФ излучение спектра А, УФ излучение спектра В и УФ излучение спектра С оказывают различные биологические воздействия на кожу. Длинноволновое УФ излучение спектра А, которое воздействует на кожу человека, даже в тени способно проникать в дерму. Оно приводит, в основном, к косвенному повреждению ДНК в результате образования активных форм кислорода, что приводит к одноцепочечным разрывам в ДНК.

УФ излучение спектра В поглощается непосредственно ДНК и вызывает повреждение основной структурной ДНК. А УФ излучение спектра С максимально поглощается ДНК, что позволяет считать этот вид излучения в качестве основного мутагена, который может в дальнейшем привести к очень характерным мутациям генов и считается первым шагом к индукции рака кожи. [1]

Клетки живых организмов вырабатывают меланин для защиты организма от воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды, особенно от УФ излучения. Меланины — обширная группа коричневых и черных природных пигментов, широко представленных в тканях различ-

ных организмов, обладающие широким спектром биологической активности. Меланины обладают антимутагенными свойствами (в 2–4 раза снижают хромосомные повреждения клеток костного мозга, возникающими под воздействием мутагенов), существенно подавляют развитие опухолевых клеток и метастазирования, обладают радиопротекторными свойствами, ингибируют процессы свободнорадикального окисления.

Меланогенез — это процесс образования меланина из тирозина с помощью ферментов тирозиназы и ДОФА-оксидазы. Меланосомы, гранулы, заполненные меланином, транспортируются в кератиноциты через ветвящиеся отростки путем фагоцитоза. Меланоциты располагаются среди клеток базального слоя и имеют несколько отростков, которые могут удаляться на расстояние до 100 мкм от тела клетки до мембран отдельных кератиноцитов. [2]

Распределение меланоцитов и способ их ветвления в норме таковы, что каждый из отростков меланоцитов контактирует между собой и почти каждая клетка базального слоя контактирует с их концевыми отделами. Биосинтез меланина начинается на внутренних мембранах меланосом, где под действием тирозиназы (тирозингидролазы) тирозин превращается в L-ДОФА-хинон (L-диоксифенилаланин). Кроме того, тирозиназа очень чувствительна к ультрафиолету и ионам меди и кислорода. Продуктом окислительной полимеризации является черный или коричневый меланин (эумеланин), содержащийся в коже и волосах. Физиологический меланогенез невозможен без тирозина, молекулярного кислорода, ионов меди и цинка. Кроме того, медиаторы нервной системы — катехоламины влияют на гипоталамус, стимулирующий промежуточную долю гипофиза к выработке меланостимулирующего гормона, который также могут продуцировать сами кератиноциты под воздействием УФ излучения и других факторов, например, воспаления или травматического повреждения. Также на уровень меланогенеза оказывают влияние гормоны надпочечников, щитовидной и половых желез и, не маловажный фактор, стресс, при котором нервные окончания вырабатывают нейропептиды, стимулирующие меланогенез. [3]

## Методика

Учитывая природные механизмы защиты от УФ излучения, совместно с производителем косметики ООО «Арт Бьюти Индастри» (Art Beauty Industry, LTD) разработано фитокосмецевтическое протекторное средство — Крем для защиты кожи от ультрафиолетового излучения «STOP RADIATION» / Protective Cream for skin from ultraviolet radiation «STOP RADIATION», направленное на адаптацию и стимулирование естественных защитных функций организма при



воздействии УФ излучений. В состав фитокосмецевтического средства входили масла: *Butyrospermum Parkii (Shea) Butter*, *Theobroma Cacao (Cocoa) Seed Butter*, *Cocos nucifera (Coconut) Oil Virgin*, *Daucus carota (Wild Carrot) Seeds Oil*, *Cannabis Sativa (Hemp) Seed Oil*, *Rosa Canina (Dog Rose) Fruit Oil* с совокупным уровнем солнцезащитного фактора (SPF) 5 и способностью индуцировать меланогенез.

Действие фитокосметического средства было опробовано на первичной тест-культуре. Философия косметической компании «Арт Бьюти Индустри» не позволяет проводить тестирование косметических средств на животных и поэтому компания уделяет большое внимание разработке адекватных первичных тест-систем. При выборе первичной тест-культуры мы опирались на этичность, особен-

ности жизнедеятельности, максимальные сходства с жизнедеятельностью клеток кожи человека, простоту проведения исследований и экономические составляющие содержания тест-культуры. Поэтому в качестве первичной тест-культуры выбрали суспензию одноклеточных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae Meyen ex E.C.Hansen*.

Метаболические процессы дрожжей имеют некоторое сходство с процессами в клетках человека и животных. Дрожжи очень быстро приспосабливаются к окружающей среде благодаря особенностям процессов питания, двоякого типа дыхания, росту и быстрому размножению при наличии питательных веществ и, самое главное, в данном эксперименте, способность синтезировать меланин. [4]

В 1 г дрожжей содержится  $10 \times 10^9$  колоние-

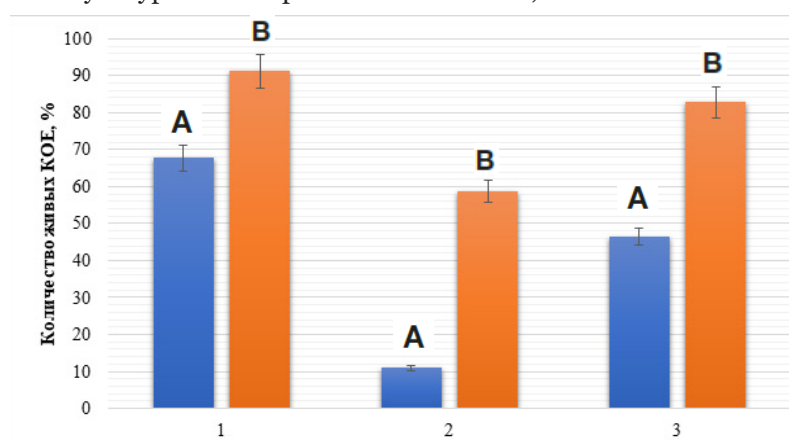


Рис. 1. Влияние УФ излучения спектра С на клетки первичной тест-культуры, где А — контроль (водная суспензия), В — опыт (водная суспензия с фитокосмецевтиком «STOP RADIATION»);  
1) 3-разовая экспозиция по 5 минут с перерывом между облучениями 30 минут, 2) экспозиция 15 минут;  
3) 3-разовая экспозиция по 5 минут с перерывом 30 минут с последующим непрерывным облучением в течение 15 минут

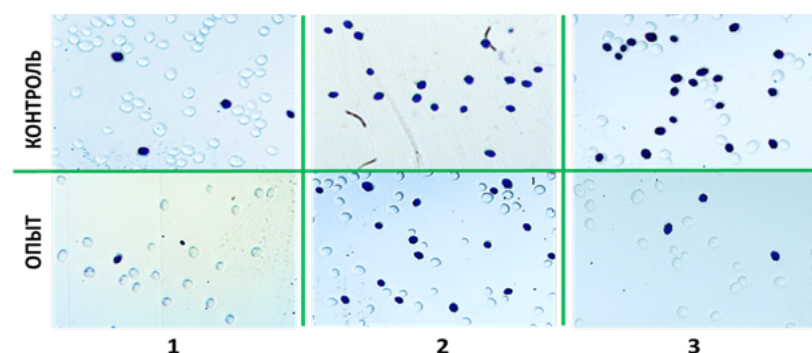


Рис. 2. Влияние УФ излучения спектра С на клетки первичной тест-культуры. Контроль (водная суспензия), опыт (водная суспензия с фитокосмецевтиком «STOP RADIATION»);  
1) 3-разовая экспозиция по 5 минут с перерывом между облучениями 30 минут, 2) экспозиция 15 минут;  
3) 3-разовая экспозиция по 5 минут с перерывом 30 минут с последующим непрерывным облучением в течение 15 минут

образующих единиц (КОЕ). Для получения минимального количества КОЕ, 1 г дрожжей разводили в 1 литре дистиллированной воды, тщательно перемешивали и продолжали разведения суспензии до концентрации 10 КОЕ/1 мл. Контролем служила водная суспензия, а в опытный вариант добавляли тестируемое фитокосмецевтическое средство. Оба варианта подвергали облучению бактерицидной лампой, излучающей в диапазоне 254 нм (спектр С), с различной временной экспозицией. Затем обрабатывали витальным красителем трипановым синим. КОЕ учитывали методом прямого подсчета в камере Горяева при помощи микроскопа. Концентрация микробных клеток выражается числом клеток микроорганизмов (включая нежизнеспособные и поврежденные) на единицу объема суспензии. При определении концентрации микробных клеток устанавливается процентное содержание жизнеспособных клеток, которое определяется числом живых клеток на единицу объема суспензии (число КОЕ в 1 мл). Все измерения проводились 10-кратно в пяти повторностях. Полученные данные статистически обработаны в XLSTAT-Biomed и отображены на диаграмме (рис. 1). Микроскопические исследования представлены на рисунке 2.

## Результаты

Исследования показали, что в вариантах с кратковременной 3-кратной экспозицией в течение 5 минут выживаемость тест-культуры в кон-

троле составила 67,74%, а в опыте — 91,32%. При непрерывной экспозиции в течение 15 минут клетки в контрольном варианте сохранили свою жизнеспособность только лишь в количестве 10,89%, а в опытном варианте — в 58,63%. В третьем варианте использовали кратковременные дозы по 5 минут в 3-кратной повторности с последующим 15 минутным облучением. В контрольном варианте выживаемость составила 46,37%, а в опытном 82,85%.

### Обсуждение

В настоящей работе были определены требования к свойствам защитных средств, заключающиеся в облегчении периода адаптации к УФ излучению и индуцированию меланогенеза, поскольку только меланин способен абсорбировать световые волны любой длины, защищая ядра клеток от разрушений.

В ходе исследования было показано, что к жесткому ультрафиолетовому излучению спектра С необходим период адаптации, который заключается в параллельном применении защитного фитокосметического средства «Крем для защиты кожи від ультрафіолетового випромінювання «STOP RADIATION» / Protective Cream for skin from ultraviolet radiation «STOP RADIATION» на основе растительных масел с SPF 5 и кратковременной адаптационной инсоляции. Результаты испытаний на первичной тест-культуре *S. cerevisiae* фитокосмецевтического защитного средства от УФ излучения прогнозируемы и соответствуют теоретическим предпосылкам. На основе проведенных испытаний, можно рекомендовать космецевтическое средство для тестирования в экстремальных условиях Антарктиды с соблюдением адаптационного периода.

### Литература

1. Кичигина ТН, Грушин ВН, Беликова ИС, Мяделец ОД. Меланоциты: строение, функции, методы выявления, роль в кожной патологии. ВЕСТНИК ВГМУ. 2007;6(4):1-16.
2. Меледина ТВ, Давыденко СГ. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм. Учебное пособие. СПб: Университет ИТМО; 2015. 88 с.
3. Tahany M Abdel-Rahman, Neveen M Khalil, Mohamed N Abd El-Ghany, Enas Yosef. Purification, characterization and medicinal application of tyrosinase extracted from *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS) 2019 Jan-Mar;6(1):1-11.
4. Pastila R. Effect of long-wave UV radiation on mouse melanoma: an in vitro and in vivo study: STUK - Radiation and Nuclear Safety Authority. 2006; Dark Oy, Vantaa; p. 128.

### References

1. Kichigina TN, Grushin VN, Belikova IS, Myadelec OD. [Melanocytes: structure, functions, detection methods, role in skin pathology]. Vestnik VGMU [Bulletin of the VSMU]. 2007;6(4):1-16. (in Russian)
2. Meledina TV, Davydenko SG. Drozhzhi *Saccharomyces cerevisiae*. Morfologiya, himicheskij sostav, metabolism. Uchebnoe posobie [Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Morphology, chemical composition, metabolism. Tutorial]. SPb: ITMO University Publ.; 2015. 88 p. (in Russian)
3. Tahany M Abdel-Rahman, Neveen M Khalil, Mohamed N Abd El-Ghany, Enas Yosef. Purification, characterization and medicinal application of tyrosinase extracted from *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS) 2019 Jan-Mar;6(1):1-11.
4. Pastila R. Effect of long-wave UV radiation on mouse melanoma: an in vitro and in vivo study: STUK - Radiation and Nuclear Safety Authority. 2006; Dark Oy, Vantaa; p. 128.