

ФОТОЗАЩИТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ПЯТИ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ В ОТНОШЕНИИ КЕРАТИНОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА (HaCAT)

О. М. ХРАМЧЕНКОВА¹⁾, М. В. МАТВЕЕНКОВ²⁾

¹⁾Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины,
ул. Советская, 104, 246039, г. Гомель, Беларусь

²⁾Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Беларусь

In vitro оценены фотозащитные свойства этанольных экстрактов из распространенных в Беларуси лишайников *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Ramalina pollinaria*, *Xanthoria parietina* и *Cladonia arbuscula* в отношении культуры кератиноцитов человека (HaCAT). По величине SPF экстракты из *E. prunastri* и *R. pollinaria* обладают очень высокими фотозащитными свойствами; экстракты из *H. physodes* и *C. arbuscula* – высокими; из *X. parietina* – низкими. По показателям величины SPF, $\lambda_{\text{крит}}$ и отношения УФ-А/УФ-Б этанольный экстракт из *C. arbuscula* является солнцезащитным с характеристиками для уровня фотозащиты «высокий» и «максимальный». Установлено явление *in vitro* модификации экстрактами из лишайников чувствительности кератиноцитов человека (HaCAT) к ультрафиолетовому облучению. Экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* в 1,6 – 2,0 раза понижали полулетальную дозу облучения, экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* – в 1,4–1,6 раза повышали. При увеличении доз облучения кератиноцитов ультрафиолетом от нулевых до летальных значений, экстракты из *R. pollinaria* выступали фотопротекторами, их активность повышалась с увеличением концентрации. Экстракты из *C. arbuscula* в концентрациях 2,5 ÷ 5,0 мкг/мл также проявляли фотопротекторные свойства и подавляли жизнедеятельность кератиноцитов при концентрациях, близких к полуингибирующим. Экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* проявляли умеренные сенсibiliзационные свойства.

Ключевые слова: экстракты из лишайников; солнцезащитный фактор (SPF); критическая длина волны (λ_{крит}); отношение УФ-А/УФ-Б; культуры кератиноцитов (HaCAT); ультрафиолет; полуингибирующая доза (ID50).

Благодарность. Авторы благодарят бывшую заведующую лабораторией комбинированных воздействий ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», кандидата биологических наук С. Н. Сушко за помощь в организации выполнения исследования и конструктивные замечания при оценке полученных результатов.

Образец цитирования:

Храмченкова О. М., Матвеевков М. В. Фотозащитная активность экстрактов из пяти видов лишайников в отношении кератиноцитов человека (HaCAT) // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 52–62.

For citation:

Khranchankova V. M., Matveyenkau M. V. Photoprotective activity of extracts from the five lichen species against human keratinocyte (HaCAT). *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 52–62. (in Russ.).

Авторы:

Ольга Михайловна Храмченкова – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры ботаники и физиологии растений биологического факультета.

Матвеевков Матвей Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории комбинированных воздействий.

Authors:

Volga M. Khranchankova, PhD (biology), associate professor, associate professor of the department of botany and plant physiology.

hramchenkova@gsu.by

Matsvei V. Matveyenkau, junior researcher of the laboratory of combined exposures.

matvey.matveenkou@mail.ru

PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY OF EXTRACTS FROM THE FIVE LICHEN SPECIES AGAINST HUMAN KERATINOCYTE (HaCAT)

V. KHRAMCHANKOVA^a, M. MATVEYENKAU^b

^aFrancisk Skorina Gomel State University,
Sovetskaya street, 104, 246019, Gomel, Belarus

^bInstitute of radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Fedyuninsky street, 4, 246007, Gomel, Belarus
Corresponding author: hramchenkova@gsu.by

In vitro, the photo-protective properties of ethanol extracts from the widely distributed in Belarus lichens *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Ramalina pollinaria*, *Xanthoria parietina* and *Cladonia arbuscula* in the culture of human keratinocytes (HaCAT), are estimated. The SPF extracts from *E. prunastri* and *R. pollinaria* possess very high photoprotective properties; extracts from *H. physodes* and *C. arbuscula* – high; *X. parietina* – low. According to SPF, λ_{crit} and UV-A / UV-B ratio, ethanol extract from *C. arbuscula* is sunscreen with characteristics for the level of photoprotection «high» and «maximum». An *in vitro* modification with extracts from lichens of the sensitivity of human keratinocytes (HaCAT) to ultraviolet irradiation has been established. Extracts from *R. pollinaria* and *C. arbuscula* reduced the half-lethal dose by 1.6–2.0 times, extracts from *H. physodes*, *E. prunastri*, and *X. parietina* were increased by 1.4 to 1.6 times. With increasing doses of irradiation of keratinocytes by ultraviolet to lethal values, extracts from *R. pollinaria* were photoprotectors, their activity increased with increasing concentration. Extracts from *C. arbuscula* in concentrations of 2.5 ÷ 5.0 µg / ml also showed photoprotective properties, and suppressed the vital activity of keratinocytes at concentrations close to semi-inhibitory. Extracts from *H. physodes*, *E. prunastri* and *X. parietina* showed moderate sensitization properties.

Key words: lichen extracts; sunscreen factor (SPF); critical wavelength (λ_{crit}); UV-A / UV-B ratio; keratinocyte culture (HaCAT); ultraviolet; semi-inhibitory dose (ID₅₀).

Acknowledgment. The authors thank the former head of the combined effects laboratory of the Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, PhD (biology) S. N. Sushko for assistance in organizing the implementation of the study and constructive comments when assessing the results.

Введение

Последствия воздействия ультрафиолетового излучения на здоровье человека составляют одну из важнейших проблем современности. Наибольший вклад вносят кортикальная катаракта, злокачественные новообразования кожи, солнечные ожоги и фотостарение кожи [1–5]. Выявлены такие негативные эффекты воздействия ультрафиолета, как локальная или общая иммуносупрессия и снижение уровня фолата в крови, что может негативно сказываться на развитии плода [6–8]. Среди основных механизмов негативного действия ультрафиолета на кожу выделяют индуцированную окислительную нагрузку в клетках, а также образование пиримидиновых фотодимеров в ДНК [8–12].

Одной из возможных стратегий снижения нагрузки ультрафиолетового облучения на кожу является использование солнцезащитных средств. На сегодняшний день существует множество фотозащитных композиций, включающих в себя УФ-фильтры органической и неорганической природы (оксиды цинка и титана, аминокислоты, витамин С и др.) [13]. Разработка солнцезащитных средств не может быть исчерпывающей. В настоящее время ведется поиск субстанций, в том числе и природного происхождения, которые в комплексе с поглощением и рассеиванием ультрафиолета способны снижать негативные эффекты его воздействия за счет активации систем детоксикации тканей, поддержания клеточного гомеостаза и репарации ДНК [14–16].

Вторичным метаболитам лишайников довольно давно приписывают фотозащитные свойства. Данное утверждение базируется на аналогиях результатов скрининга кортикальных метаболитов лишайников и флавоноидов высших растений [17], а также на результатах определения лишайниковых веществ в образцах, отобранных в условиях избыточной инсоляции [18, 19]. Накопленный экспериментальный материал демонстрирует способность различных метаболитов, выделенных из лишайников, успешно абсорбировать ультрафиолетовое излучение [20–22], снижать фототоксические эффекты в клеточных культурах [23–25].

Многие вопросы практического использования лишайников и в настоящее время остаются открытыми. Отметим, что до сих пор актуализируется самый широкий скрининг свойств определенных вторичных метаболитов лишайников и экстрактов из них.

Цель настоящей работы – оценка фотозащитной активности этанольных экстрактов из пяти видов распространенных в Беларуси лишайников в отношении культуры клеток кератиноцитов человека (HaCAT).

Материалы и методы исследований

Сбор натурального материала. Для исследования были выбраны виды лишайников с известным составом вторичных метаболитов, три из которых являются стандартными при аналитическом определении лишайниковых веществ [26–29] – *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach., *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. и *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot. Биомассу лишайников собирали на территории ГЛХУ «Гомельский лесхоз» на типичных для каждого вида субстратах [29]. Слоевища эпифитных видов (*H. physodes*, *E. prunastri*, *R. pollinaria* и *X. parietina*) отбирали вместе с фрагментом субстрата (корки сосны обыкновенной, березы повислой, дуба черешчатого и тополя черного соответственно); эпигейный вид *C. arbuscula* находили на почве в сухом средневозрастном сосняке. Талломы лишайников отделяли от субстрата, у *C. arbuscula* отбрасывали нижнюю часть подошвиц – около 5 мм, сушили до воздушно-сухого состояния, измельчали.

Получение экстрактов из лишайников. Навески измельченной биомассы лишайников экстрагировали этанолом в аппарате Сокслета, полноту экстракции контролировали стандартным способом [30]. Растворитель удаляли, сухие экстракты использовали для дальнейших исследований.

Определение величины солнцезащитного фактора (SPF) полученных экстрактов выполняли методом скрининга *in vitro* [31; 32]. Навеску экстракта из лишайников массой 1,0 г растворяли в 100 мл этанола, фильтровали. Аликвоту 5 мл переносили в колбу на 25 мл, доводили этанолом до метки. Определяли оптическую плотность растворов в диапазоне длин волн от 290 нм до 320 нм с шагом в 5 нм, используя этанол в качестве раствора сравнения. Средством измерения служил УФ-спектрофотометр Solar PB 2201, измерительные кюветы – кварцевые. Величину SPF оценивали по формуле Мансура [31]:

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda),$$

где CF – поправочный коэффициент (равен 10); $EE(\lambda)$ – спектр эритемного эффекта; $I(\lambda)$ – спектр солнечной интенсивности; $Abs(\lambda)$ – оптическая плотность образца. Величина $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ является константой [32].

Соотношение УФ-А/УФ-В рассчитывали по [32; 33]:

$$\text{УФ-А/УФ-В} = \frac{\int_{320 \text{ нм}}^{400 \text{ нм}} Abs(\lambda) d\lambda}{\int_{290 \text{ нм}}^{320 \text{ нм}} Abs(\lambda) d\lambda}.$$

Критическую длину волны определяли по [32; 33]:

$$\int_{290 \text{ нм}}^{\lambda_{\text{крит}}} Abs(\lambda) d\lambda = 0,9 \times \int_{290 \text{ нм}}^{400 \text{ нм}} Abs(\lambda) d\lambda.$$

где $Abs(\lambda)$ – оптическая плотность образца.

Площадь под кривой спектра поглощения в диапазоне $\lambda = 290 \div 400$ нм принимали за 100 %; $\lambda_{\text{крит}}$ рассчитывали как длину волны, при которой данная площадь достигает 90 % [32; 33].

Подготовка стабильных клеточных линий. Для нее использовали эпителиальные клетки человека линии HaCAT (кератиноциты). Культуры клеток были получены в НИЛ проблем терморегуляции кафедры физиологии человека и животных Белорусского государственного университета. Замороженные при минус 80 °С образцы клеток переносили в стакан с водой, температура которой составляла 37 °С. После оттаивания пробирку обрабатывали спиртом, содержимое ресуспендировали, переносили в стерильные полипропиленовые пробирки (15 мл), содержащие 10 мл полной инкубационной среды (DMEM/F-12, 11039 GIBCO; 100 Ед/мл пенициллин; 100 мкг/мл стрептомицин; 0,25 мкг/мл амфотерицин-В; 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, HiCloneInc) [34]. После 5 мин центрифугирования (4 °С, 200 g) жидкую фазу отбрасывали для удаления криоконсерванта, клеточный осадок ресуспендировали в 5 мл полной инкубационной среды и использовали для посева, концентрацию клеток определяли в камере Горяева. Культивирование производилось согласно рекомендациям американской коллекции типовых культур (ATCC) [34].

Для определения модификации фототоксических эффектов культуры кератиноцитов преинкубировали в 96-и луночных планшетах до достижения ими фазы экспоненциального роста (в течение 24 ч). Затем пошагово экспонировали каждый ряд лунок планшета заданное время на поверхности стеклянного УФ-фильтра системы гель-документации Chemidoc (Biorad), предварительно добавив в питательную среду растворы экстрактов из лишайников в диметилсульфоксиде (ДМСО) в концентрациях: 10,0; 5,0 и 2,5 мкг/мл. Время экспозиции каждой лунки соответствовало достижению определенной дозы облучения ультрафиолетом (по УФ-Б), в мДж/см². Энергетический максимум излучения 315 нм, расчетная интегральная (280–450 нм) мощность светового потока 1446 мкВт/см². Доля УФ-Б – 40 % от всего УФ диапазона, мощность светового потока после прохождения через пластик для УФ-Б (280–315 нм) составила 464 мкВт/см², для УФ-А (315–400 нм) – 689 мкВт/см². Далее культивировали клетки в течение 48 ч. По прошествии данного времени оценивали состояние клеточных популяций в тесте на метаболическую активность (МТТ-тест).

Определение метаболической активности клеток проводили с использованием теста на скорость восстановления 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ, M5655, Sigma) [35]. После культивирования клеток, согласно схеме опыта, питательную среду удаляли, дважды промывали ячейки фосфатно-солевым буфером, добавляли раствор питательной среды, содержащий 0,05 % МТТ, после чего два часа инкубировали клетки при 37 °С и 5 % СО₂. Инкубационную среду удаляли, вносили 200 мкл смеси этанол: ДМСО (1:1), содержимое перемешивали до полного растворения кристаллов формазана. Оптическую плотность раствора формазана измеряли при 570 нм с использованием планшетного спектрофотометра TecanSafire II (США). Для нормализации данных применяли измерения при λ = 700 нм.

Жизнеспособность клеток вычисляли по формуле:

$$\text{жизнеспособность} = \left(\frac{OD_{570} \text{ контрольных лунок}}{OD_{570} \text{ опытной лунки}} \right) \times 100 \%,$$

где OD_{570} – оптическая плотность раствора формазана, измеренная при λ = 570 нм.

Для уточнения возможных механизмов воздействия ультрафиолета на культуры клеток была проанализирована способность стандартного антиоксиданта тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) снижать фототоксические эффекты.

Анализ результатов исследования производили с помощью программных продуктов Graph Pad Prism Trial (Version 5.02) и Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение

Уровень фотозащиты солнцезащитных средств считается низким при SPF = 2–6; средним – при SPF = 8–12; высоким – при SPF = 15–25; очень высоким – при SPF = 30–50; сверхвысоким – при SPF > 50. По показателям величин критической длины волны субстанции с λ_{крит} > 370 нм и SPF > 15,0 признаются солнцезащитными [33]. Показатель УФ-А/УФ-Б является мерой широты защитных свойств. По величине отношения УФ-А/УФ-Б солнцезащитные средства делятся на слабые (0,2–0,4); средние (0,4–0,6); хорошие (0,6–0,8) и максимальные (0,8 ≥) [33; 36].

В диапазоне УФ-Б почти все изучаемые экстракты характеризовались наличием определенных фотозащитных свойств (табл.). Исключение составлял экстракт из *X. parietina*.

Таблица

Фотозащитные свойства этанольных экстрактов из лишайников

Table

Photoprotective properties of ethanolic extracts from lichens

Вид лишайника	SPF	λ _{крит} , нм	УФ-А/УФ-Б	ID ₅₀ ультрафиолета, мДж/см ² (по УФ-Б)		
				2,5 мкг/мл	5,0 мкг/мл	10,0 мкг/мл
<i>H. physodes</i>	18,1±0,74	361±3,7	0,77	2,6	2,5	2,5
<i>E. prunastri</i>	34,4±1,02	341±4,8	0,34	2,7	2,9	2,4
<i>R. pollinaria</i>	37,3±0,98	339±2,3	0,31	6,3	6,8	6,8
<i>X. parietina</i>	5,5±0,31	392±3,1	1,35	3	2,3	2,3
<i>C. arbuscula</i>	15,1±0,22	372±1,7	0,89	5,7	5,4	4,1

Солнцезащитным может быть признан только экстракт из *C. arbuscula* с характеристикой «максимальный», тогда как экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *R. pollinaria* могут быть предложены в качестве компонентов защитных средств, обеспечивающих очень высокое поглощение УФ-Б. Этанольный экстракт из *X. parietina* может быть использован в композициях из лишайниковых экстрактов в качестве субстанции, влияющей на величины $\lambda_{\text{крит}}$ и УФ-А/УФ-Б. Величины полуингибирующих доз ультрафиолета были наибольшими с опытах с экстрактами из *R. pollinaria* и *C. arbuscula*.

Для оценки модифицирующего действия лишайниковых веществ на эффекты облучения культур клеток кератиноцитов человека ультрафиолетом применяли концентрации экстрактов, показавшие субтоксичный эффект [37; 38]. Дозы ультрафиолета подбирались на основании предварительных экспериментов с культурами кератиноцитов для охвата различных эффектов (субтоксичный, полутоксичный, токсичный). Схема эксперимента предполагала оценку модифицирующего действия экстрактов из лишайников только за счет биологических эффектов (антиоксидантная активность, активация систем репарации ДНК и др.), но не за счет эффектов фильтрации УФ-излучения (клетки облучались снизу, без прохождения ультрафиолета через питательную среду с экстрактом).

По результатам определения величин полуингибирующих доз ультрафиолета на культуры кератиноцитов (HaCAT) при добавлении в питательную среду экстрактов из лишайников и без них рассчитывали величины фактора изменения цитотоксичности:

$$\text{ФИЦ} = \frac{ID_{50}(\text{опыт})}{ID_{50}(\text{контроль})}$$

где ID_{50} (опыт) – величина полулетальной дозы облучения кератиноцитов при добавлении в питательную среду экстрактов из лишайников; ID_{50} (контроль) – без добавления экстрактов из лишайников (рис. 1).

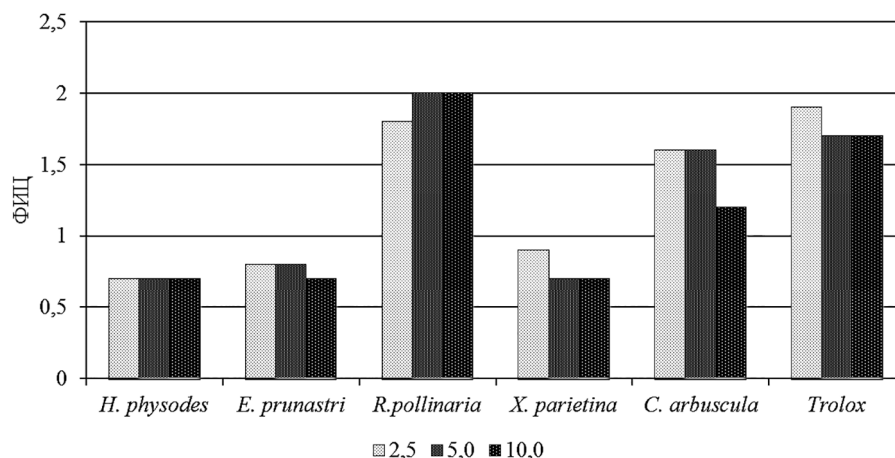


Рис. 1. Модификация экстрактами из лишайников цитотоксичности ультрафиолета в отношении кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 1. Modification with extracts from lichens of ultraviolet cytotoxicity against human keratinocyte (HaCAT)

Этанольные экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* обладали выраженным фотопротекторным действием: их присутствие в среде культивирования в 1,6÷2,0 раза понижало гибель клеток кератиноцитов. Защитное действие экстрактов из *R. pollinaria* нарастало с ростом концентрации экстракта, тогда как защитное действие экстрактов из *C. arbuscula* было максимальным в низких концентрациях. Экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* демонстрировали умеренные фотосенсибилизирующие свойства. При этом концентрация экстрактов из *H. physodes* практически не влияла на величину ФИЦ, тогда как фотосенсибилизирующая активность экстрактов из *E. prunastri* и *X. parietina* возрастала по мере увеличения концентрации.

Степень модификации токсического действия ультрафиолета на культуры клеток кератиноцитов человека была не одинаковой при изменении доз ультрафиолета и введении различных концентраций растворов экстрактов из лишайников в среду культивирования (рис. 2–4).

При концентрациях экстрактов из лишайников 2,5 мг/мл и росте доз ультрафиолета экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* снижали жизнеспособность кератиноцитов по всему диапазону облучения, начиная с 1 мДж/см², 3 мДж/см² и < 1 мДж/см² соответственно (рис. 2).

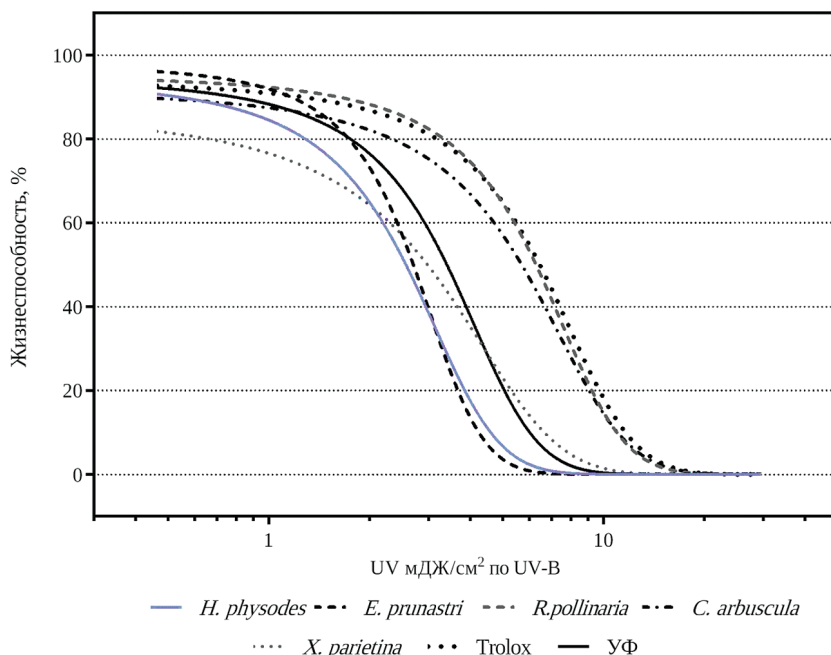


Рис. 2. Влияние дозы ультрафиолета и экстрактов из лишайников (2,5 мкг/мл) на жизнеспособность кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 2. Influence of the ultraviolet dose and lichen extracts concentration (2.5 µg / ml) on the human keratinocyte (HaCAT) viability

Экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* проявляли фотозащитные свойства. Кривые гибели клеток линии HaCAT для экстракта из *R. pollinaria* и тролокса практически совпадали, что позволяет предположить антиоксидантный механизм защитного действия экстрактов из лишайника в малых концентрациях. Защитные свойства экстракта из *C. arbuscula* были несколько хуже таковых для *R. pollinaria* и тролокса при малых дозах УФ, и сравнялись с ними после 10 мДж/см².

Удвоение концентрации экстрактов из лишайников и наращивание дозы ультрафиолета в диапазоне до 10 мДж/см² позволило обнаружить эффект усиления защитного действия экстракта из *R. pollinaria* (рис. 3).

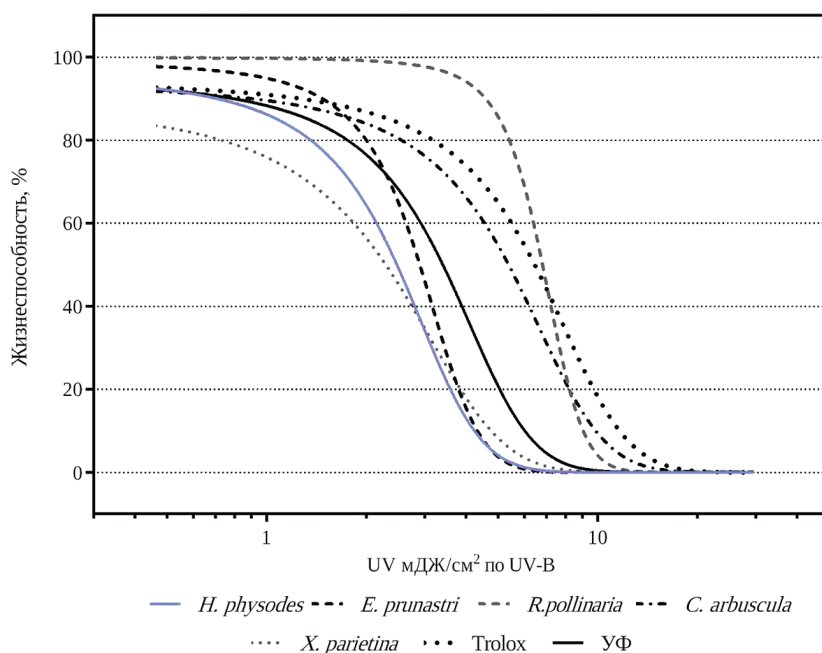


Рис. 3. Влияние дозы ультрафиолета и экстрактов из лишайников (5,0 мкг/мл) на жизнеспособность кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 3. Influence of the ultraviolet dose and lichen extracts concentration (5.0 µg / ml) on the human keratinocyte (HaCAT) viability

Ранее было показано, что экстракты из рамалины пыльцеватой способны стимулировать метаболизм клеток линии HaCAT [37, 38]. Защитные свойства экстракта из *C. arbuscula* были аналогичны таковым для концентрации 2,5 мкг/мл. Экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* несколько активнее снижали жизнеспособность кератиноцитов по всему диапазону облучения, начиная с 1 мДж/см², 3 мДж/см² и < 1 мДж/см² соответственно. Данный эффект является сугубо фотосенсибилизирующим, так как в тестах на цитотоксичность в диапазоне концентраций экстрактов до 10 мкг/мл токсических свойств экстрактов из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* в отношении клеток линии HaCAT не выявлено.

Введение в питательную среду экстрактов из лишайников в концентрации 10 мкг/мл на фоне роста доз ультрафиолета выявило изменение характера реакции клеток кератиноцитов человека на облучение (рис. 4).

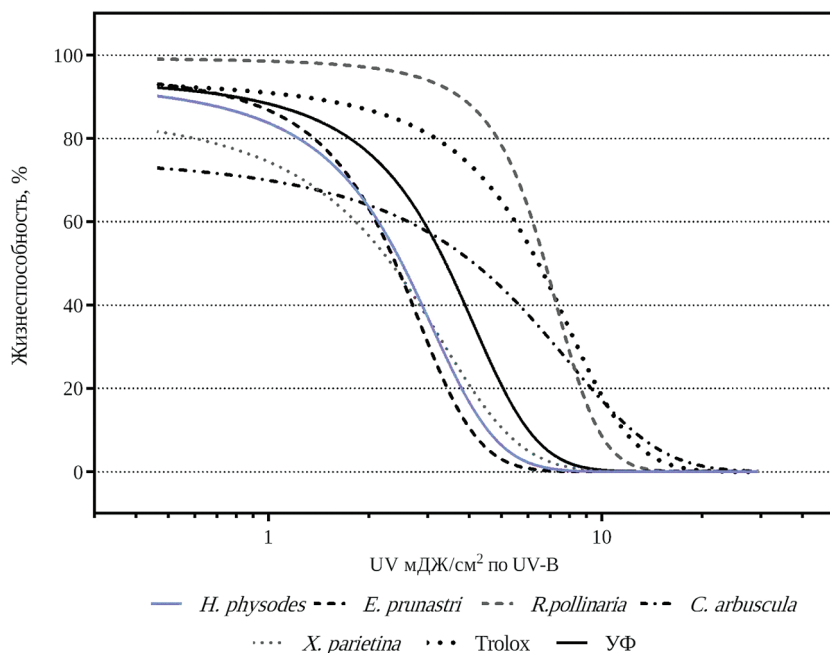


Рис. 4. Влияние дозы ультрафиолета и экстрактов из лишайников (10,0 мкг/мл) на жизнеспособность кератиноцитов человека (HaCAT)

Fig. 4. Influence of the ultraviolet dose and lichen extracts concentration (10.0 µg / ml) on the human keratinocyte (HaCAT) viability

Итак, при малых дозах ультрафиолета проявились цитотоксические свойства экстракта из *C. arbuscula*, тогда как при дозах свыше 3 мДж/см² данный экстракт демонстрировал фотозащитные свойства. В диапазоне до 10 мДж/см² экстракт из *R. pollinaria* показал наибольшую фотозащитную активность. Фотосенсибилизирующая активность экстрактов из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* возрастала.

Таким образом, установлено явление *in vitro* модификации экстрактами из лишайников чувствительности кератиноцитов человека (HaCAT) к ультрафиолетовому облучению. При повышении доз ультрафиолета защитные свойства этанольных экстрактов из лишайников в отношении культур клеток кератиноцитов человека изменяются.

Протекторная активность экстрактов из *R. pollinaria* усиливалась по мере увеличения концентрации, так как параллельно отмечалось постепенное снижение токсичности ультрафиолета, вплоть до 10 мДж/см. Такие особенности кривых могут указывать на присутствие в экстракте неспецифичного протектора, эффект которого усиливается за счет увеличения его концентрации в питательной среде до определенного предела. Умеренная стимуляция метаболической активности клеток кератиноцитов экстрактами из лишайника может свидетельствовать о наличии веществ, повышающих общий метаболический статус клеток и их синергическом взаимодействии с собственно фотопротекторными соединениями.

Концентрации экстрактов из *C. arbuscula* 2,5–5,0 мкг/мл не влияли на токсическое действие ультрафиолета в диапазоне доз ультрафиолета 0,3–1,1 мДж/см². При дозах 3–10 мДж/см² растворы экстрактов кладонии лесной малых концентраций эффективно снижали цитотоксическое действие ультрафиолета. Высокие концентрации экстракта способствовали понижению жизнеспособности клеточной популяции при дозах УФ 0,3–1,1 мДж/см², а также снижению цитотоксического действия

облучения при 3–10 мДж/см². Данное явление можно объяснить цитостатическим действием экстракта из лишайника. В клеточных популяциях появлялся пул неделящихся клеток, которые менее подвержены повреждающим факторам. Их присутствие объясняет понижение средней метаболической активности клеточных популяций при облучении нетоксичными дозами ультрафиолета.

Фотосенсибилизирующий эффект экстрактов из *H. physodes* и *X. parietina* проявлялся уже при 1 мДж/см² (*H. physodes*) и >1 мДж/см² (*X. parietina*), сохранялся вплоть до летальных доз излучения – 10 мДж/см². Рост токсических эффектов от ультрафиолета при добавлении экстракта из *E. prunastri* начинался с дозы 3 мДж/см². Фотосенсибилизирующие свойства экстрактов *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* в некоторой степени зависели от концентрации.

Результаты многих исследований антиоксидантных свойств экстрактов из лишайников свидетельствуют о существенной вариабельности данных, а также об их довольно низкой эффективности в сравнении со стандартными антиоксидантами. Так, для лишайников рода *Ramalina* в DPPH-тесте показана полуэффективная доза их экстрактов 60–500 мкг/мл, для рода *Cladonia* – 461–987 мкг/мл, для *H. physodes* – 22–46 мкг/мл, тогда как для тролокса данная величина составляет 6–9 мкг/мл [22; 39–45].

Показанные в настоящей работе фотозащитные свойства этанольного экстракта из *R. pollinaria*, по-видимому, связаны с наличием иного (не антиоксидантного) признака коррекции цитотоксических эффектов ультрафиолета. Защитные свойства экстракта из *C. arbuscula* в какой-то мере могут быть объяснены способностью содержащейся в данном лишайнике усниновой кислоты блокировать клеточный цикл в G₀/G₁ и, тем самым, делать клеточную популяцию менее чувствительной к повреждающим ДНК факторам [10; 46].

Перспективным фотопротектором считается париедин – основной вторичный метаболит *X. parietina* [18; 47–50]. Полученные нами данные свидетельствуют об обратном: этанольный экстракт имеет SPF = 5,5±0,31 и обладает фотосенсибилизирующей активностью, увеличивающейся с возрастанием концентрации раствора.

Данных о фотосенсибилизирующей активности экстрактов из *H. physodes* и *E. prunastri* практически не существует. Мы можем лишь настаивать на сенсibilизационном механизме снижения жизнеспособности кератиноцитов человека экстрактами из *H. physodes* и *E. prunastri* с увеличением дозы ультрафиолета, поскольку в настоящем исследовании применялись субтоксичные концентрации.

Заключение

Этанольные экстракты из распространенных в лесах Беларуси лишайников характеризуются *in vitro* определенными фотозащитными свойствами: *Hypogymnia physodes* и *Cladonia arbuscula* – высокими; *Evernia prunastri* и *Ramalina pollinaria* – очень высокими; *Xanthoria parietina* – низкими. По показателям величины SPF, критической длины волны и отношения УФ-А/УФ-Б этанольный экстракт из *C. arbuscula* является солнцезащитным с характеристиками для уровня фотозащиты «высокий» и «максимальный». В отношении культур кератиноцитов (HaCAT) экстракты из лишайников проявили свойства модификаторов чувствительности клеток к ультрафиолетовому облучению – экстракты из *R. pollinaria* и *C. arbuscula* в 1,6–2,0 раза понижали полулетальную дозу облучения, экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* – в полтора раза повышали. При увеличении доз облучения кератиноцитов ультрафиолетом от нулевых до летальных значений, экстракты из *R. pollinaria* выступали фотопротекторами, причем их активность повышалась с увеличением концентрации. Экстракты из *C. arbuscula* в концентрациях 2,5 ÷ 5,0 мкг/мл также проявляли фотопротекторные свойства и подавляли жизнедеятельность кератиноцитов при концентрациях, близких к полунгибирующим [37]. Этанольные экстракты из *H. physodes*, *E. prunastri* и *X. parietina* при увеличении доз ультрафиолета проявляли умеренные сенсibilизационные свойства, связанные с их токсичностью для кератиноцитов.

Библиографические ссылки

1. Lucas R., McMichael T., Wayne S., et al. Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation. Environmental Burden of Disease Series. 13. World Health Organization. Public Health and the Environment. Geneva, 2006.
2. Collman G. W., Shore D. L., Shy C. M., et al. Sunlight and other risk factors for cataracts: an epidemiologic study // American j. of public health. 1988. Vol. 78(11). P. 1459–1462.
3. Taylor H. R., West S. K., Rosenthal F. S., et al. Effect of ultraviolet radiation on cataract formation // New England J. of Medicine. 1988. Vol. 319(22). P. 1429–1433.
4. Watson M., Holman D. M., Maguire-Eisen M. Ultraviolet radiation exposure and its impact on skin cancer risk // Seminars in Oncology Nursing. 2016. Vol. 32(3). P. 241–254.
5. Yaar M., Gilchrist B. A. Photoageing: mechanism, prevention and therapy // British J. of Dermatology. 2007. Vol. 157(5). P. 874–887.

6. Clydesdale G. J., Dandie G. W., Muller H. K. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects // Immunology and cell biology. 2001. Vol. 79(6). P. 547–568.
7. Selgrade M. K., Repacholi M. H., Koren H. S. Ultraviolet radiation-induced immune modulation: potential consequences for infectious, allergic, and autoimmune disease // Environmental health perspectives. 1997. Vol. 105(3). P. 332–334.
8. Borradaile D., Isenring E., Hacker E., et al. Exposure to solar ultraviolet radiation is associated with a decreased folate status in women of childbearing age // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2014. Vol. 131(5). P. 90–95.
9. D’Orazio J., Jarrett S., Amaro-Ortiz A., Scott T. UV radiation and the skin // International j. of molecular sciences. 2013. Vol. 14(6). P. 12222–12248.
10. Matsumura Y., Ananthaswamy H. N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin // Toxicology and applied pharmacology. 2004. Vol. 195(3). P. 298–308.
11. Schuch A. P., Moreno N. C., Schuch N. J. et al. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions // Free Radical Biology and Medicine. 2017. Vol. 107. P. 110–124.
12. Karran P., Brem R. Protein oxidation, UVA and human DNA repair // DNA repair. 2016. Vol. 44. P. 178–185.
13. Parker F. R. Department of Health and Human Services, US Food and Drug Administration: Authority and Responsibility // FDA Administrative Enforcement Manual. CRC Press. 2005.
14. Hong Y. H., Lee H. S., Jung E. Y., et al. Photoprotective effects of topical ginseng leaf extract using Ultraflo L against UVB-induced skin damage in hairless mice // J. of ginseng research. 2017. Vol. 41(4). P. 456–462.
15. Matsui M., Tanaka K., Higashiguchi N., et al. Protective and therapeutic effects of fucoxanthin against sunburn caused by UV irradiation // J. of pharmacological sciences. 2016. Vol. 132(1). P. 55–64.
16. Jung H. Y., Shin J. C., Park S. M., et al. *Pinus densiflora* extract protects human skin fibroblasts against UVB-induced photoaging by inhibiting the expression of MMPs and increasing type I procollagen expression // Toxicology reports. 2014. Vol. 1. P. 658–666.
17. Raven J. A. Energy and nutrient acquisition by autotrophic symbioses and their asymbiotic ancestors // Symbiosis. 1993. Vol. 14. P. 33–60.
18. Nybakken L., Solhaug R.A., Bilger W., et al. The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats // Oecologia. 2004. Vol. 140(2). – P. 211–216.
19. Solhaug K. A., Gauslaa Y., Nybakken L., et al. UV□induction of sun□screening pigments in lichens // New Phytologist. 2003. Vol. 158(1). P. 91–100.
20. Radice M., Manfredini S., Ziosi P., et al. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review // Fitoterapia. 2016. Vol. 114. P. 144–162.
21. Boehm F., Clarke K., Edge R. et al. Lichens-Photophysical studies of potential new sunscreens // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2009. Vol. 95(1). P. 40–45.
22. Millot M., Di Meo F., Tomasi S., et al. Photoprotective capacities of lichen metabolites: a joint theoretical and experimental study // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2012. Vol. 111(4). P. 17–26.
23. Rancan F., Rosan S., Boehm K. et al. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2002. Vol. 68 (2–3). P. 133–139.
24. Torres A., Hochberg M., Pergament I., et al. A new UV□B absorbing mycosporine with photo protective activity from the lichenized ascomycete *Collema cristatum* // European journal of biochemistry. 2004. Vol. 271(4). P. 780–784.
25. Russo A., Piovano M., Lombardo L., et al. Lichen metabolites prevent UV light and nitric oxide-mediated plasmid DNA damage and induce apoptosis in human melanoma cells // Life sciences. 2008. Vol. 83(13–14). P. 468–474.
26. Smith C. W., Aptroot A., Coppins B. J., et al. The Lichens of Great Britain and Ireland. 2nd ed. London. 2009.
27. Huneck S., Yoshimura. I. Identification of lichen substances. Berlin, Heidelberg, 1996.
28. Elix J. A. A Catalogue of Standardized Thin Layer Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Canberra, 2014.
29. Цуриков А. Г. Лишайники юго-востока Беларуси (опыт лишеномониторинга). Гомель, 2013.
30. Воскресенский П. И. Техника лабораторных работ. М, 1973
31. Mansur J. S., Breder M. V. R., Mansur M. C. A., et al. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria // An. Bras. Dermatol. 1986. Vol. 61. P. 121–124.
32. Sayre R. M., Agin P. P., Levee G. J., et al. Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas // Photochem Photobiol. 1979. Vol. 29. P. 559–566.
33. Rojas, J. L., Díaz-Santos M., Valencia-Islas N. A. Metabolites with antioxidant and photo-protective properties from *Usnea roccellina* Motyka, a lichen from Colombian Andes // UK J. of Pharmaceutical and Biosciences. 2015. Vol. 3 (4). P. 18–26.
34. American Type Culture Collection [Электронный ресурс]. 2018. URL: <https://www.atcc.org> (дата обращения: 18.08.2018).
35. Van Meerloo J., Kaspers G. J. L., Cloos J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. In: Cree I. (eds) Cancer Cell Culture. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). Vol 731. 2011.
36. Springsteen A., Yurek R., Frazier M., et al. In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance // Analytica Chimica Acta. 1999. Vol. 380 (2–3). P. 155–164.
37. Храменкова О. М., Матвеевков М. В. Цитотоксическая активность экстрактов из четырех видов лишайников в отношении культур опухолевых клеток // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 2. С. 88–98.
38. Храменкова О. М., Матвеевков М. В. Цитотоксическая активность ацетоновых экстрактов из лишайников в отношении линии кератиноцитов человека HaCAT // Известия Гом. гос. ун-та им. Ф. Скорины, № 3 (108). 2018. С. 81–86.
39. Vinayaka K. S., Kumar S. V. P., Kekuda P. T. R., et al. Proximate composition, antioxidant, anthelmintic and insecticidal activity of a macrolichen *Ramalina conduplicans* Vain. (Ramalinaceae) // European J. of Applied Sciences. 2009. Vol. 1(3). P. 40–46.
40. Stanly C., Hag Ali D. M., Keng C. L., et al. Comparative evaluation of antioxidant activity and total phenolic content of selected lichen species from Malaysia // J. Pharm Res. 2011. Vol. 4(8). С. 2824–2827.
41. Gunasekaran S., Rajan V. P., Ramanathan S., et al. Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubrotincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents // Malaysian J. of Analytical Sciences. 2016. Vol. 20(1). P. 1–13.
42. Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., et al. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana* // Phytomedicine. 2006. Vol. 13 (7). P. 515–521.

43. Kosanić M., Rancović B., Stanojković T., et al. *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents // LWT-Food Science and Technology. 2014. Vol. 59 (1). P. 518–525.
44. Mitrović T., Stamenković S., Cvetković, et al. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species // International J. of Molecular Sciences. 2011. Vol. 12(8). P. 5428–5448.
45. Hall R. S. B., Bornman J. F., Bjorn L. O. UV-induced changes in pigment content and light penetration in the fruticose lichen *Cladonia arbuscula* ssp. *mitis* // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2002. Vol. 66 (1). P. 13–20.
46. Singh N., Nambiar D., Kale R. K., Singh R. P. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells // Nutrition and cancer. 2013. Vol. 65(suppl. 1). P. 36–43.
47. Czczuga, V., Etayo J., Giralt M. et al. Carotenoids in the thalli of lichen species on the Iberian Peninsula // Feddes Rept. 1996. – Vol. 107 (1–2). P. 89–97.
48. Vrábliková H., McEvoy M., Solhaug K.A. et al. Annual variation in photoacclimation and photoprotection of the photobiont in the foliose lichen *Xanthoria parietina* // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2006. Vol. 83 (2). P. 151–162.
49. Solhaug K. A., Gauslaa Y. Parietin, a photoprotective secondary product of the lichen *Xanthoria parietina* // Oecologia. 1996. Vol. 108 (3). P. 412–418.
50. Lohézic-Le Dévéhat F., Legouin B., Couteau C. et al. Lichenic extracts and metabolites as UV filters // J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2013. Vol. 120 (5). P. 17–28.

References

1. Lucas R., McMichael T., Wayne S., et al. Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation. Environmental Burden of Disease Series. 13. World Health Organization. Public Health and the Environment. Geneva, 2006.
2. Collman G. W., Shore D. L., Shy C. M., et al. Sunlight and other risk factors for cataracts: an epidemiologic study. *American j. of public health*. 1988. Vol. 78 (11). P. 1459–1462.
3. Taylor H. R., West S. K., Rosenthal F. S., et al. Effect of ultraviolet radiation on cataract formation. *New England J. of Medicine*. 1988. Vol. 319 (22). P. 1429–1433.
4. Watson M., Holman D. M., Maguire-Eisen M. Ultraviolet radiation exposure and its impact on skin cancer risk. *Seminars in Oncology Nursing*. 2016. Vol. 32 (3). P. 241–254.
5. Yaar M., Gilchrist B. A. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *British J. of Dermatology*. 2007. Vol. 157 (5). P. 874–887.
6. Clydesdale G. J., Dandie G. W., Muller H. K. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. *Immunology and cell biology*. 2001. Vol. 79 (6). P. 547–568.
7. Selgrade M. K., Repacholi M. H., Koren H. S. Ultraviolet radiation-induced immune modulation: potential consequences for infectious, allergic, and autoimmune disease. *Environmental health perspectives*. 1997. Vol. 105 (3). P. 332–334.
8. Borradaile D., Isenring E., Hacker E., et al. Exposure to solar ultraviolet radiation is associated with a decreased folate status in women of childbearing age. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2014. Vol. 131(5). P. 90–95.
9. D’Orazio J., Jarrett S., Amaro-Ortiz A., Scott T. UV radiation and the skin. *International j. of molecular sciences*. 2013. Vol. 14(6). P. 12222–12248.
10. Matsumura Y., Ananthaswamy H. N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and applied pharmacology*. 2004. Vol. 195(3). P. 298–308.
11. Schuch A. P., Moreno N.C., Schuch N. J., et al. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017. Vol. 107. P. 110–124.
12. Karran P., Brem R. Protein oxidation, UVA and human DNA repair. *DNA repair*. 2016. Vol. 44. P. 178–185.
13. Parker F. R. Department of Health and Human Services, US Food and Drug Administration: Authority and Responsibility. *FDA Administrative Enforcement Manual*. CRC Press. 2005.
14. Hong Y. H., Lee H. S., Jung E. Y., et al. Photoprotective effects of topical ginseng leaf extract using Ultraflo L against UVB-induced skin damage in hairless mice. *J. of ginseng research*. 2017. Vol. 41 (4). P. 456–462.
15. Matsui M., Tanaka K., Higashiguchi N., et al. Protective and therapeutic effects of fucoxanthin against sunburn caused by UV irradiation. *J. of pharmacological sciences*. 2016. Vol. 132 (1). P. 55–64.
16. Jung H. Y., Shin J. C., Park S. M., et al. Pinus densiflora extract protects human skin fibroblasts against UVB-induced photoaging by inhibiting the expression of MMPs and increasing type I procollagen expression. *Toxicology reports*. 2014. Vol. 1. P. 658–666.
17. Raven J. A. Energy and nutrient acquisition by autotrophic symbioses and their asymbiotic ancestors. *Symbiosis*. 1993. Vol. 14. P. 33–60.
18. Nybakken L., Solhaug R. A., Bilger W., Gauslaa Y. The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats. *Oecologia*. 2004. Vol. 140(2). – P. 211–216.
19. Solhaug K. A., Gauslaa Y., Nybakken L., Bilger W. UV-induced induction of sun-screening pigments in lichens. *New Phytologist*. 2003. Vol. 158 (1). P. 91–100.
20. Radice M., Manfredini S., Ziosi P., et al. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. *Fitoterapia*. 2016. Vol. 114. P. 144–162.
21. Boehm F., Clarke K., Edge R., et al. Lichens—Photophysical studies of potential new sunscreens. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2009. Vol. 95 (1). P. 40–45.
22. Millot M., Di Meo F., Tomasi S., et al. Photoprotective capacities of lichen metabolites: a joint theoretical and experimental study. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2012. Vol. 111(4). P. 17–26.
23. Rancan F., Rosan S., Boehm K., et al. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2002. Vol. 68(2–3). P. 133–139.
24. Torres A., Hochberg M., Pergament I., et al. A new UV-B absorbing mycosporine with photo protective activity from the lichenized ascomycete *Collema cristatum*. *European j. of biochemistry*. 2004. Vol. 271 (4). P. 780–784.
25. Russo A., Piovano M., Lombardo L., et al. Lichen metabolites prevent UV light and nitric oxide-mediated plasmid DNA damage and induce apoptosis in human melanoma cells. *Life sciences*. 2008. Vol. 83 (13–14). P. 468–474.

26. Smith C. W., Aptroot A., Coppins B. J., et al. The Lichens of Great Britain and Ireland. London. 2009.
27. Huneck S., Yoshimura. I. Identification of lichen substances. Berlin, Heidelberg, 1996.
28. Elix J. A. A Catalogue of Standardized Thin Layer Chromatographic Data and Biosynthetic Relationships for Lichen Substances. Canberra, 2014.
29. Tsurykau A. G. [Lichens of the southeast of Belarus (experience of lichen monitoring)]. Gomel, 2013 (in Russ.).
30. Voskresenskij P. I. [Technique of laboratory works]. Moscow, 1973 (in Russ.).
31. Mansur J. S., Breder M. V. R., Mansur M. C. A., et al. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.* 1986. Vol. 61. P. 121–124.
32. Sayre R. M., Agin P. P., Levee G. J., et al. Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. *Photochem Photobiol.* 1979. Vol. 29. P. 559–566.
33. Rojas, J. L., Díaz-Santos M., Valencia-Islas N. A. Metabolites with antioxidant and photo-protective properties from *Usnea roccellina* Motyka, a lichen from Colombian Andes. *UK J. of Pharmaceutical and Biosciences.* 2015. Vol. 3 (4). P. 18–26.
34. American Type Culture Collection. 2018. URL: <https://www.atcc.org> (date of access: 18.08.2018).
35. Van Meerloo J., Kaspers G. J. L., Cloos J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. In: Cree I. (eds) Cancer Cell Culture. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). Vol 731. 2011.
36. Springsteen A., Yurek R., Frazier M., et al. In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance // *Analytica Chimica Acta.* 1999. Vol. 380 (2–3). P. 155–164.
37. Khranchankova V. M., Matveyenkau M. V. [Cytotoxic activity of extracts from the four lichen species against human cancer cells lines]. *J. of the Belarusian state university. Ecology.* 2018. № 2. P. 88–98 (in Russ.).
38. Khranchankova V. M., Matveyenkau M. V. [Cytotoxic activity of acetone extracts from some lichen species on human keratinocyte growth]. *News of Francisk Skorina Gomel State University.* 2018. № 3 (108). P. 81–86 (in Russ.).
39. Vinayaka K. S., Kumar S. V. P., Kekuda P. T. R., et al. Proximate composition, antioxidant, anthelmintic and insecticidal activity of a macrolichen *Ramalina conduplicans* Vain. (Ramalinaceae). *European J. of Applied Sciences.* 2009. Vol. 1 (3). P. 40–46.
40. Stanly C., Hag Ali D. M., Keng C. L., et al. Comparative evaluation of antioxidant activity and total phenolic content of selected lichen species from Malaysia // *J Pharm Res.* 2011. Vol. 4 (8). C. 2824–2827.
41. Gunasekaran S., Rajan V. P., Ramanathan S., et al. Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubrotincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents. *Malaysian J. of Analytical Sciences.* 2016. Vol. 20 (1). P. 1–13.
42. Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., et al. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine.* 2006. Vol. 13 (7). P. 515–521.
43. Kosanić M., Rancović B., Stanojković T., et al. *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *LWT-Food Science and Technology.* 2014. Vol. 59 (1). P. 518–525.
44. Mitrović T., Stamenković S., Cvetković, et al. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species. *International J. of Molecular Sciences.* 2011. Vol. 12 (8). P. 5428–5448.
45. Hall R. S. B., Bornman J. F., Bjorn L. O. UV-induced changes in pigment content and light penetration in the fruticose lichen *Cladonia arbuscula* ssp. *mitis*. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2002. Vol. 66 (1). P. 13–20.
46. Singh N., Nambiar D., Kale R. K., et al. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells. *Nutrition and cancer.* 2013. Vol. 65, issue 1. P. 36–43.
47. Czczuga, V., Etayo J., Giral M., et al. Carotenoids in the thalli of lichen species on the Iberian Peninsula. *Feddes Repert.* 1996. Vol. 107 (1–2). P. 89–97.
48. Vráblíková H., McEvoy M., Solhaug K. A., et al. Annual variation in photoacclimation and photoprotection of the photobiont in the foliose lichen *Xanthoria parietina*. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2006. Vol. 83 (2). P. 151–162.
49. Solhaug K. A., Gauslaa Y. Parietin, a photoprotective secondary product of the lichen *Xanthoria parietina*. *Oecologia.* 1996. Vol. 108 (3). P. 412–418.
50. Lohézic-Le Dévéhat F., Legouin B., Couteau C. et al. Lichenic extracts and metabolites as UV filters. *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 2013. Vol. 120 (5). P. 17–28.

Статья поступила в редколлегию 30.11.2018
Received by editorial board 30.11.2018