

**И. В. Шугалей¹, А. С. Боровикова¹, А. П. Возняковский²*,
М. А. Илюшин¹**

¹Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), г. Санкт-Петербург, Россия

²Научно-исследовательский институт синтетического каучука им. акад. С. В. Лебедева (ФГУП «НИИСК»),

г. Санкт-Петербург, Россия

**apvozn@gmail.com*

Детонационные наноалмазы как антиоксиданты в различных тест-системах

Показано, что детонационные наноалмазы (ДНА) проявляют антиоксидантную активность in vitro и in vivo. При пероральном введении лабораторным животным ДНА снижают уровень перекисного окисления белков в эритроцитах, ингибируют липопероксидацию и перекисное окисление белков в плазме, в случае введения животным прооксиданта – NaNO_2 -ДНА, эффективно защищают животных от химически индуцированного окислительного стресса. Результаты тестирования позволяют рекомендовать ДНА в качестве потенциальных антиоксидантов для коррекции оксидативных повреждений.

Ключевые слова: детонационные наноалмазы, оксидативное повреждение, антиоксидант, прооксидант, перекисное окисление липидов, перекисное окисление белков.

В последнее время мировой тенденцией является применение детонационных наноалмазов (ДНА) в медицине и биологии.

Порошки детонационных наноалмазов по типу организации частиц относятся к наноструктурированным веществам. Технология выделения ДНА из продуктов детонационного синтеза предусматривает обработку последних сильными окислительными агентами. Следствием этого является наличие на поверхности ДНА функциональных групп с лабильным протоном и, соответственно, ее гидрофильность.

Высокая дисперсность и наличие функциональных групп на поверхности ДНА – два основных параметра, на которых базируются практически все попытки использования ДНА в биологии. Так, для целенаправленной доставки лекарств к пораженному органу формируют сложные комплексы ДНА и физиологически активных молекул. При этом собственно ДНА, как основа биологически активных композитов, не являются биологически инертными.

Важной задачей современной биологии является поиск антиоксидантов, предназначенных для коррекции оксидативных повреждений *in vivo*. Антиоксидантное действие ДНА является следствием наличия на их поверхности групп с лабильным протоном, таких как аминные, тиольные. Следует отметить, что окислительно-восстановительный потенциал ДНА может быть существенно изменен ковалентной фиксацией на их поверхности дополнитель-

ных функциональных групп. Однако, несмотря на важность проблемы, работы по изучению антиоксидантных свойств ДНА весьма малочисленны.

Целью настоящего исследования было изучение антиоксидантной активности ДНА на различных уровнях, таких как молекулярный, клеточный и организменный.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Детонационные наноалмазы

Коллоидно-химические свойства ДНА в значительной мере зависят от технологии их синтеза и очистки. Для исследования использовали ДНА, синтезированные СКТБ “Технолог” (г. Санкт-Петербург, Россия). Выбор обусловлен тем, что по технологии этого производителя подрыв заряда производится в присутствии комплексообразователей, что обеспечивает отсутствие в составе синтезированных частицах ионов тяжелых металлов.

Метод динамического светорассеяния

Измерения по определению размерности частиц и характера их полидисперсности проводили на приборе Zetasizer ZS 3600 (Malvern Instruments Ltd.).

Подготовка поверхности ДНА

Следует отметить, что критическим для многих случаев практического применения является этап получения высокодисперсных (10–100 нм) суспензий ДНА в жидких средах (как полярных, так и неполярных). Предельная дисперсность нативных частиц ДНА составляет 4–6 нм. На практике, особенно в случае сухих порошков, дисперсность ДНА находится в субмикронном интервале, что связано с характерной для высокодисперсных частиц склонностью к агрегации. Таким образом, получение их устойчивых высокодисперсных суспензий оказывается невозможным без дополнительной обработки. Как правило, для получения устойчивых суспензий ДНА используют наложение поля ультразвука в присутствии поверхностно-активных веществ [1, 2]. В биологических экспериментах присутствие в системе поверхностно-активных веществ нежелательно, так как не исключена возможность их неконтролируемой десорбции с поверхности частиц ДНА и, соответственно, возможностью негативного воздействия на биологические объекты.

Для получения высокодисперсных суспензий ДНА применили ранее успешно использованный прием функционализации поверхности ДНА фторрадикалом [3].

Суспензию функционализированных ДНА после озвучивания (5 мин) выдерживали в течение 15 мин. Выпавшие после выдержки в осадок наиболее крупные агрегаты частиц ДНА декантировали. Оставшуюся часть суспензии выдерживали в течение суток. При этом формировались два четко выделенных слоя: верхний, слабо опалесцирующий слой (ДНА-1), и нижний слой серого цвета (ДНА-2). Слои суспензии декантировали и в дальнейшем использовали отдельно.

Методом динамического светорассеяния было установлено, что “верхняя” фракция суспензии (ДНА-1) содержит частицы размерами 10–40 нм. В свою очередь, “нижняя” фракция (ДНА-2) включает частицы размерами 40–100 нм.

Подготовка липосом

Липосомы, использованные в экспериментах, готовили из сухого яичного лецитина по модифицированной методике [4]. Для этого 1 г лецитина дис-

пергировали в 250 мл дистиллированной воды и озвучивали в стеклянной ячейке на воздухе. Перед озвучиванием и через каждую минуту озвучивания суспензию охлаждали до 5–8 °С. Суммарное время озвучивания составляло 15 мин.

Тестирование *in vivo*

Тестирование проводили с использованием беспородных белых мышей. Все эксперименты проводили в соответствии с правилами гуманного обращения с животными в биологических экспериментах, утвержденными комиссией по биоэтике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка антиоксидантной активности ДНА на молекулярном уровне

Для оценки антиоксидантной активности на молекулярном уровне в качестве объекта исследования использовали фосфолипиды яичного желтка, которые представлены в основном лецитином и структурно организованы в форме липосом.

Хорошо известно, что липиды активно окисляются под действием активных форм кислорода (АФК) [5–7]. Для оценки антиоксидантной активности наноалмазов в суспензии липосом реактивом Фентона (смесь перекиси водорода с сульфатом железа-II) инициировали перекисное окисление липидов (ПОЛ).

Признаком проявления активности антиоксиданта в системе является снижение скорости ПОЛ. Для того, чтобы оценить изменение скорости, необходимо визуализировать процесс. Для этого использовали регистрацию свечения в присутствии фотосенсибилизатора – люминола LH₂ (рис. 1–3).

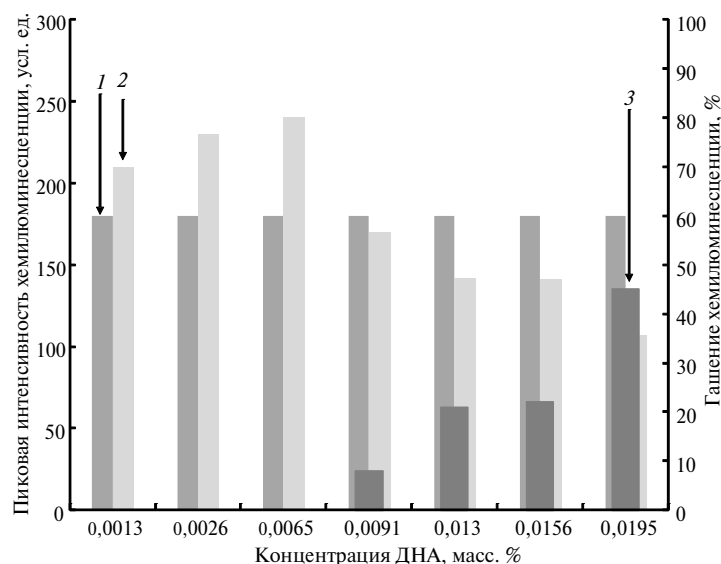


Рис. 1. Влияние концентрации ДНА на интенсивность хемилюминесценции в суспензии липосом, инициируемой реактивом Фентона (фосфатный буфер; pH = 7,0; [FeSO₄] = 5,7·10⁻⁶ моль/л; [H₂O₂] = 2,1·10⁻⁵ моль/л, [LH₂] = 1,0·10⁻⁷ моль/л): в отсутствие ДНА (1), в присутствии ДНА (2), гашение хемилюминесценции, в процентах относительно контрольной группы (3).

Анализ рис. 2–3 показывает, что для получения антиоксидантного эффекта концентрация ДНА в реакционной среде, содержащей фосфолипиды при значениях pH, близких к физиологическим, должна быть более 0,01 % (по массе). Таким образом, за счет торможения перекисного окисления липидов ДНА должны проявлять эффект, стабилизирующий клеточную мембрану. Эффект стабилизации обусловлен тем, что процессы ПОЛ являются ведущими в процессе разрушения клеточной мембраны.

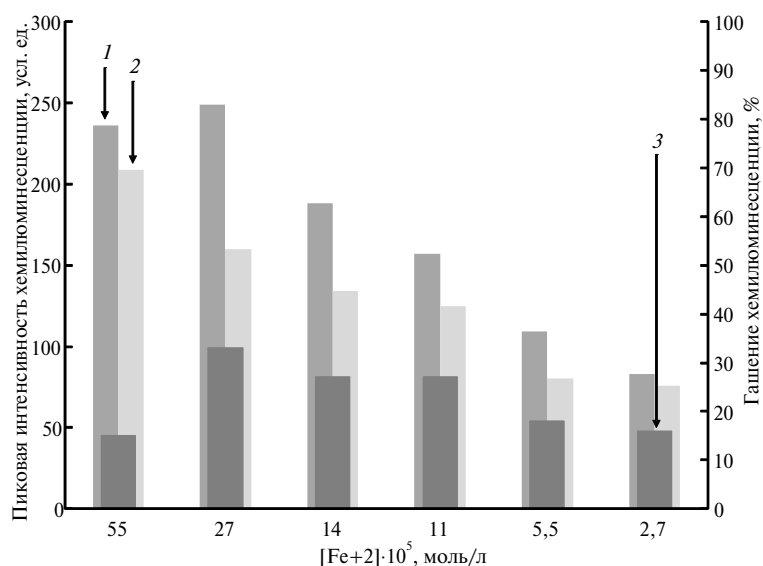


Рис. 2. Влияние концентрации сульфата железа (II) на интенсивность хемилюминесценции, инициируемой реактивом Фентона (фосфатный буфер; pH = 7,0; [H₂O₂] = 7,3·10⁻⁵ моль/л, [ДНА] = 0,0159 % (по массе); [LH₂] = 1,0·10⁻⁷ моль/л): в отсутствие ДНА (1), в присутствии ДНА (2), гашение хемилюминесценции, в процентах относительно контрольной группы (3).

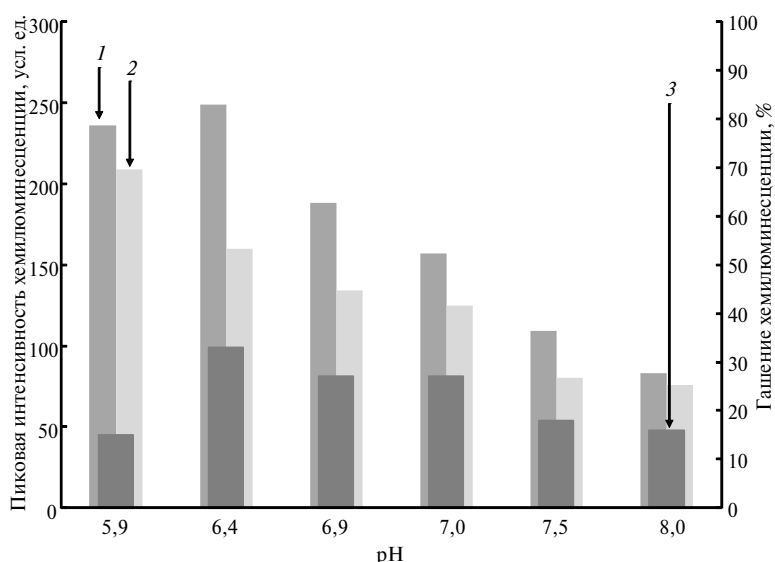


Рис. 3. Влияние pH на интенсивность хемилюминесценции, инициируемой реактивом Фентона ([FeSO₄] = 5,7·10⁻⁶; [H₂O₂] = 2,3·10⁻⁵ моль/л, [ДНА] = 0,0127 % (по массе); [LH₂] = 1,0·10⁻⁷ моль/л): в отсутствие ДНА (1), в присутствии ДНА (2), гашение хемилюминесценции, в процентах относительно контрольной группы (3).

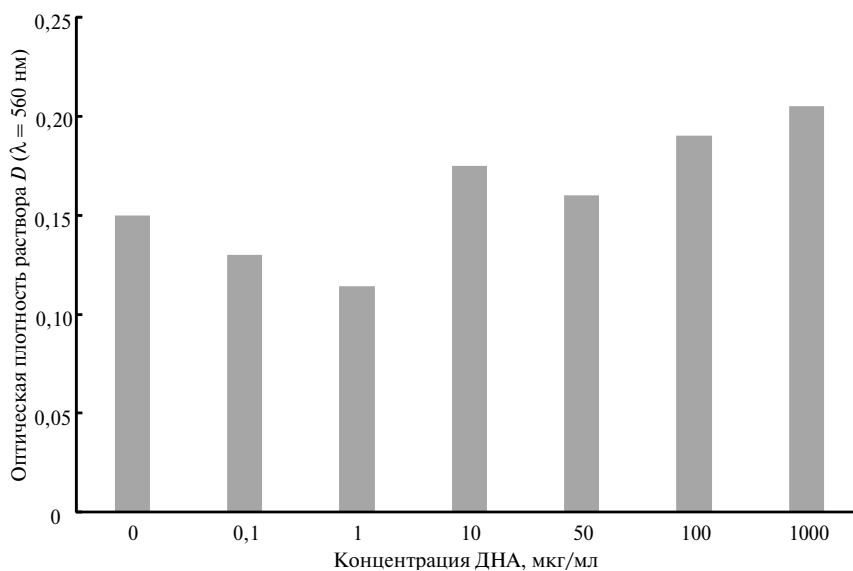


Рис. 4. Влияние фракции ДНА-1 (10–40 нм) на гемолиз эритроцитов.

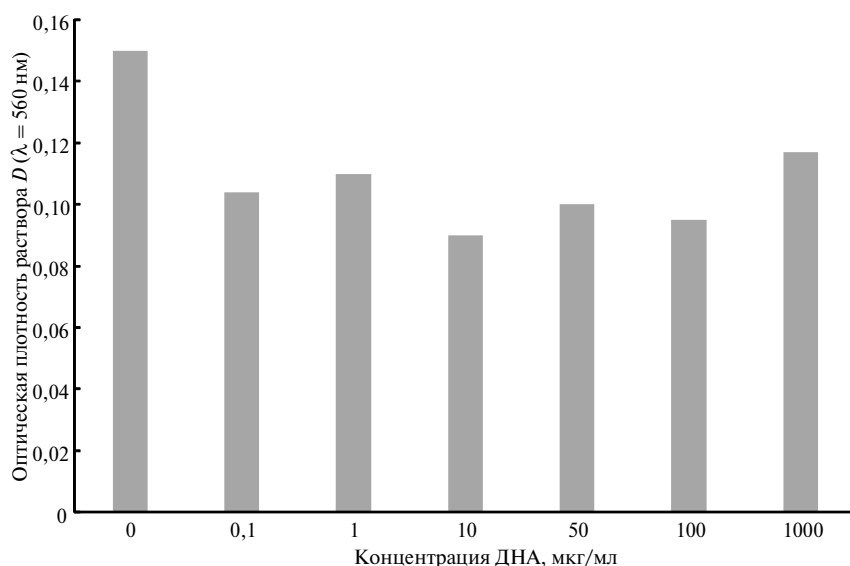


Рис. 5. Влияние фракции ДНА-2 (40–100 нм) на гемолиз эритроцитов.

Оценка антиоксидантной активности ДНА на клеточном уровне

Для оценки антиоксидантных свойств ДНА в качестве тест-объекта использовали эритроциты. Использование данного объекта связано с протеканием процессов перекисного окисления фосфолипидов, формирующих липидную составляющую мембраны эритроцита. Оценку антиоксидантного действия проводили по интенсивности гемолиза эритроцитов. Снижение интенсивности гемолиза при введении антиоксиданта в суспензию эритроцитов, в том числе и суспензии ДНА, свидетельствует о стабилизации эритроцитарной мембраны и снижении интенсивности ПОЛ, т. е. подтверждает антиоксидантные свойства введенного в суспензию клеток препарата. Интенсивность гемолиза оценивали по количеству гемоглобина, вышедшего из

эритроцитов при разрушении клеточной мембраны. На первом этапе оценивали влияние ДНА на эритроциты в отсутствие окисляющих агентов.

Влияние частиц ДНА на гемолиз эритроцитов проводили с использованием двух фракций потенциального антиоксиданта, различающихся размером используемых частиц (ДНА-1 и ДНА-2).

Результаты испытаний с использованием фракции ДНА-1 и крупноразмерной фракции ДНА-2 представлены на рис. 4 и 5 соответственно.

Видно, что в зависимости от концентрации наноалмазы могут проявлять как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства в суспензии нативных эритроцитов. В данной серии экспериментов (см. рис. 4, 5) наблюдается торможение спонтанного гемолиза эритроцитов при концентрации ДНА-1 не более 10 мг/мл. Фракция ДНА-2 эффективна в более широком диапазоне концентраций.

Представляло интерес проанализировать возможность снижения интенсивности гемолиза эритроцитов, вызванного воздействием агента, целенаправленно генерирующего АФК и иницирующего ПОЛ в эритроцитарной мембране. В качестве такого агента использовали реактив Фентона, традиционно применяемый для иницирования процессов ПОЛ.

В случае антиоксидантного эффекта, проявляемого ДНА при их введении в систему, содержащую реактив Фентона и эритроциты, интенсивность гемолиза эритроцитов должна снижаться. В данной серии экспериментов использовали “мелкоразмерную” фракцию ДНА-1, так как наблюдаемый эффект снижения интенсивности гемолиза при очень высоких концентрациях ДНА (см. рис. 3) трудно трактовать однозначно.

Возможно, при высоких концентрациях наноалмазов “крупноразмерной” фракции ДНА-2 эффект разрушения эритроцитарной мембраны снижается не за счет прямой антиоксидантной активности, а за счет сорбции вторичных АФК на частицах ДНА, что приводит к дополнительному обрыву в цепной реакции ПОЛ.

Было исследовано влияние ДНА на интенсивность гемолиза эритроцитов под действием реактива Фентона в условиях переменной концентрации одного из его компонентов – сульфата железа (II) – и постоянной концентрации перекиси водорода, составляющей $1,1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. ДНА вводили в систему в концентрации, которая обеспечивала максимальное (1 мкг/мл) подавление гемолиза в отсутствие прооксидантов. Полученные результаты по подавлению гемолиза эритроцитов в присутствии реактива Фентона под действием ДНА представлены на рис. 6.

Анализ данных рис. 6 показывает, что действительно ДНА снижают интенсивность гемолиза эритроцитов, вызванного воздействием реактива Фентона, т. е. проявляют защитное антиоксидантное действие. Однако достоверный эффект наблюдается при малых концентрациях феррокаатиона ($< 1,4 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

Оценка антиоксидантной активности ДНА на организменном уровне

Для подтверждения перспектив использования ДНА в качестве антиоксиданта необходимо подтвердить их антиоксидантное действие в опытах *in vivo*. Это позволит оценить антиоксидантную активность на организменном уровне.

Аэробное существование предполагает активную генерацию АФК в ходе процессов жизнедеятельности. В здоровом организме поддерживается сравнительно невысокий стационарный уровень АФК. Различные виды стресса нарушают равновесие между продукцией и утилизацией АФК [8–10]. Меха-

низмы таких нарушений достаточно сложны, однако выход генерации АФК из-под контроля (резкое повышение концентрации) требует коррекции специальными препаратами – антиоксидантами [11, 12]. Успешность такой коррекции под действием препарата свидетельствует об антиоксидантной активности тестируемого вещества. Такое тестирование и было проведено для суспензии ДНА. Предпосылками для проведения тестирования *in vivo* послужили результаты первичного тестирования с использованием суспензии липосом и эритроцитов, которые показали перспективность использования ДНА в качестве антиоксидантных препаратов.

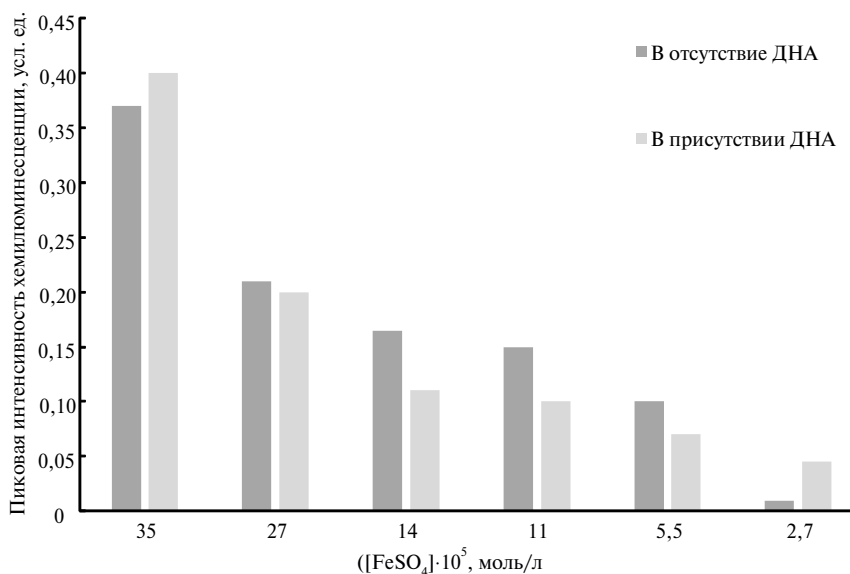


Рис. 6. Влияние концентрации сульфата железа (II) при постоянной концентрации пероксида водорода в системе Фентона на процесс гемолиза эритроцитов (физиологический раствор; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,1 \cdot 10^5$ моль/л; $[\text{ДНА}] = 1$ мкг/мл).

Достоверная оценка антиоксидантных свойства препарата *in vivo* может быть получена по изменению уровня ПОЛ и перекисного окисления белков (ПОБ) при введении препарата лабораторным мышам [13, 14]. При этом, антиоксидантную активность препарата оценивают по его влиянию на процессы ПОЛ и ПОБ при сравнении показателей животных, получавших стимулирующую пероксидацию (прооксидант), с показателями животных, не подвергавшихся действию прооксиданта.

На начальном этапе проводили исследование влияние ДНА на процессы ПОЛ и ПОБ на животных, не получающих прооксиданты. Для оценки эффекта лабораторные животные подвергались воздействию ДНА, которые животные получали перорально в течение семи дней в виде водной суспензии (0,05 %) вместо питьевой воды. По окончании данного срока животные (белые мыши) подвергались декапитации. У животных забирали кровь и определяли уровень ПОЛ и ПОБ в плазме крови и эритроцитах (табл. 1). Затем провели сравнение результатов с животными, не получающими препарат (интактными).

Уровень ПОЛ оценивали по конечному продукту пероксидации – малонового диальдегиду (МДА), образование которого происходит в результате липопероксидации в соответствии со схемой (рис. 7) [15, 16].

Таблица 1. Влияние ДНА на процессы ПОЛ и ПОБ в эритроцитах лабораторных животных (опыт *in vivo*)

| Группа животных | ПОЛ | | ПОБ | |
|--------------------------|----------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| | МДА*, наномоль | % к контрольной группе | ДНФгидразон*, мкмоль | % к контрольной группе |
| Интактные животные | 5,2±0,3 | – | 0,07±0,01 | – |
| Животные, получавшие ДНА | 14,8±0,5 | 285 | 0,39±0,007 | 56 |

*Расчеты проводили на 1 г гемоглобина.

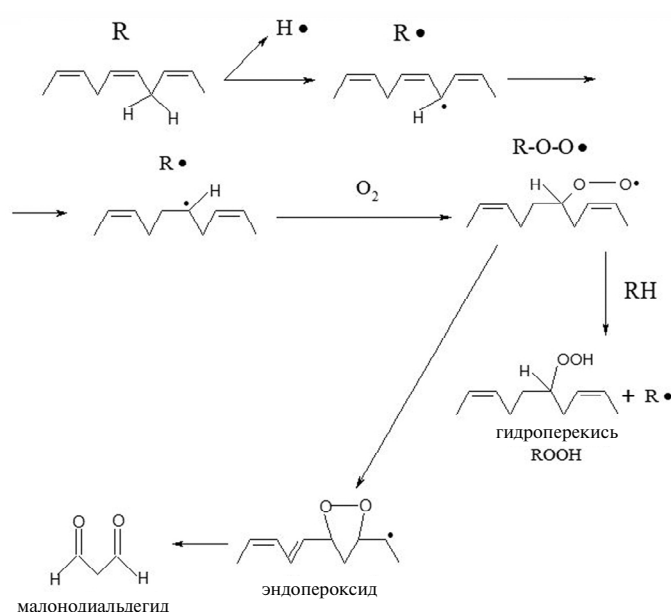


Рис. 7. Схема образования малонового диальдегида в результате липопероксидации.

Концентрацию МДА определяли спектрофотометрическим методом.

Уровень ПОБ оценивали по накоплению карбонильных фрагментов, образующихся в результате деструкции полипептидной цепи.

Количество образовавшихся карбонильных фрагментов определяли в виде соответствующих 2,4-динитрофенилгидразонов. Концентрацию МДА также определяли спектрофотометрическим методом (табл. 2).

Наиболее приближенным к условиям перспективного применения ДНА как терапевтического антиоксиданта является исследование его ингибирующего действия на ПОЛ и ПОБ *in vivo* в случае воздействия на лабораторных животных вещества, стимулирующего пероксидацию. В качестве токсического препарата, вызывающего оксидативный стресс, был выбран нитрит натрия, так как хорошо известно, что данный препарат окисляет гемоглобин по цепному механизму через промежуточное образование АФК [17].

Как видно из табл. 1, 2, действие ДНА как антиоксиданта неоднозначно. ДНА проявляет выраженный ингибирующий эффект по отношению к ПОБ в эритроцитах, а также по отношению к ПОЛ и ПОБ в плазме крови. Однако ПОЛ в эритроцитах существенно активизируется под действием ДНА. Воз-

можно, стимулирующий эффект связан с гемолизом эритроцитов под действием ДНА, имеющем место в определенном концентрационном диапазоне в случае использования мелкофракционной фракции, которую и применяли в качестве добавки в питьевую воду, потреблявшуюся опытной группой лабораторных животных.

Таблица 2. Влияние ДНА на процессы ПОЛ и ПОБ в плазме крови лабораторных животных (опыт *in vivo*)

| Группа животных | ПОЛ | | ПОБ | |
|--------------------------|----------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| | МДА*, наномоль | % к контрольной группе | ДНФгидразон*, мкмоль | % к контрольной группе |
| Интактные животные | 3,28±0,07 | – | 0,21±0,04 | – |
| Животные, получающие ДНА | 2,03±0,05 | 62 | 0,055±0,007 | 26 |

*Расчеты проводили на 1 мл плазмы.

In vivo нитрит натрия изменяет уровень АФК и активность антиоксидантных ферментов [18]. Таким образом, в данной серии опытов сравнивался уровень ПОЛ и ПОБ в группах интактных животных и животных, получавших только ДНА либо только нитрит натрия, с группой животных, одновременно получавших прооксидантный препарат (нитрит натрия) и тестируемый антиоксидант ДНА. Опытные животные получали внутривентриально нитрит натрия в дозе 20 мг/кг в течение семи дней и 0,05 %-ную суспензию ДНА перорально с питьевой водой в течение того же времени (табл. 3).

Таблица 3. Влияние нитрита натрия и ДНА на уровень ПОЛ и ПОБ в эритроцитах лабораторных животных (опыт *in vivo*)

| Группа животных | ПОЛ | | ПОБ | |
|--|----------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| | МДА*, наномоль | % к контрольной группе | ДНФгидразон*, мкмоль | % к контрольной группе |
| Животные, получавшие NaNO ₂ (в/бр) | 10,6±0,7 | 204 | 0,13±0,04 | 186 |
| Животные, получавшие ДНА (перорально) | 14,8±0,7 | 285 | 0,059±0,05 | 84 |
| Животные, параллельно получавшие NaNO ₂ (в/бр) и ДНА (перорально) | 7,3±0,4 | 140 | 0,09±0,03 | 129 |
| Интактные животные | 5,2±0,3 | – | 0,07±0,02 | – |

*Расчеты проводили на 1 г гемоглобина.

Данными, представленными в табл. 3, подтверждается выраженное прооксидантное действие нитрита натрия, которое, однако, существенно отличается по отношению к липидам и белкам – прооксидантный эффект по отношению к липидам существенно выше, чем по отношению к белкам.

Данные табл. 3 демонстрируют, что ДНА способны гасить прооксидантное действие нитрита натрия. Снижение прооксидантного действия по отношению к липидам составляет 64 %, а по отношению к белкам – 57 %.

Хотя введение ДНА снижает прооксидантный эффект токсиканта – нитрита натрия, однако при этом уровень ПОЛ остается повышенным (на 40 %) по сравнению с интактными животными. Полученные значения уровня ПОБ близки к значениям, определенным для интактной группы.

Антиоксидантный эффект ДНА проявляют не только по отношению к липидам и белкам эритроцитов, но и к липидам и белкам плазмы крови.

Данные табл. 4 демонстрируют, что прооксидантный эффект нитрита натрия ярко выражен и по отношению к компонентам плазмы крови. Введение ДНА лабораторным животным снижает уровень ПОЛ и ПОБ в плазме крови. Однако торможение пероксидации липидов в плазме является весьма умеренным в отличие от эритроцитов – всего на 30 %.

Таблица 4. Влияние нитрита натрия и ДНА на уровень ПОЛ и ПОБ в плазме крови лабораторных животных (опыт *in vivo*)

| Группа животных | ПОЛ | | ПОБ | |
|--|----------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| | МДА*, наномоль | % к контрольной группе | ДНФгидразон*, мкмоль | % к контрольной группе |
| Животные, получавшие NaNO ₂ (в/бр) | 5,15±0,08 | 157 | 0,56±0,05 | 267 |
| Животные, получавшие ДНА (перорально) | 2,03±0,06 | 57 | 0,055±0,03 | 26 |
| Животные, получавшие параллельно NaNO ₂ (в/бр) и ДНА (перорально) | 4,13±0,09 | 126 | 0,31±0,05 | 148 |
| Интактные животные | 3,28±0,07 | – | 0,21±0,03 | – |

*Расчеты проводили на 1 мл плазмы.

Антиоксидантный эффект по отношению к белкам является ярко выраженным. При пероральном введении прооксиданта (нитрита натрия) и ДНА наблюдается двукратное снижение уровня ПОБ в плазме крови по сравнению с группой животных, получавших только прооксидант – нитрит натрия.

Вероятно, это определяется тем, что для нитрита натрия в качестве основной мишени выступают эритроциты [18–21]. Однако, как показывает последняя серия экспериментов, антиоксидантный эффект ДНА *in vivo* является неоспоримым, что подтверждает перспективность использования данного препарата для коррекции последствий оксидативного стресса.

ВЫВОДЫ

ДНА проявляют антиоксидантные свойства *in vitro* (подтверждено с использованием суспензии липосом и суспензии эритроцитов).

В зависимости от концентрации детонационные наноалмазы могут проявлять как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства.

Действие ДНА *in vivo* неоднозначно, данный препарат тормозит ПОБ эритроцитов, но стимулирует ПОЛ.

Установлено, что ДНА тормозит стимулируемые прооксидантом (нитритом натрия) процессы ПОЛ и ПОБ, что подтверждает его антиоксидантные свойства и в перспективе позволит рассматривать возможность его клинического применения.

Показано, що детонаційні наноалмази (ДНА) виявляють антиоксидантну активність in vitro та in vivo. При пероральному введенні лабораторним тваринам ДНА знижують рівень перекисного окислення білків в еритроцитах, інгібують ліпопероксидацію і перекисне окислення білків в плазмі, у разі введення тваринам прооксиданта – NaNO₂-ДНА, ефективно захищають тварин від хімічно індукованого окислювального стресу. Результати тестування дозволяють рекомендувати ДНА в якості потенційних антиоксидантів для корекції оксидативних пошкоджень.

Ключові слова: *детонаційні наноалмази, оксидативного ушкодження, антиоксидант, прооксидант, перекисне окислення ліпідів, перекисне окислення білків.*

Nanodiamonds of detonation synthesis (DND) were shown to exhibit antioxidant activity both in vitro and in vivo. DND being introduced into laboratory animals with oral introduction lower protein peroxidation in red cells, inhibit peroxidation of lipids and proteins in serum. DND also protect laboratory animals from oxidative stress induced with the help of NaNO₂. The results of the testing form the experimental basis to recommend DND as potential antioxidant for correcting oxidative damage of different origin.

Keywords: *nanodiamonds of detonation synthesis, oxidative damage, antioxidant, prooxidant, peroxy damage of lipids, peroxy damage of proteins.*

1. Львов С. Н., Хорунжий В. В., Александрович Ю. С., Шугалей И. В. Характеристика процессов свободно-радикального окисления у детей с отравлениями различными химическими веществами // Сохранение репродуктивного потенциала подростков: Матер. науч.-практ. конф. – СПб.: СПбГПМА, 2001. – С. 108–109.
2. Шугалей И. В., Львов С. Н., Баев В. И. и др. Характеристика процессов свободно радикального окисления при экстремальных воздействиях // Чернобыль – 15 лет спустя: Матер. науч.-практ. конф. – СПб, 2001. – С. 62–63.
3. Илюшина Т. М., Хмельницкая Е. М., Шугалей И. В. и др. Некоторые особенности течения пероксидных процессов при различных патологиях у детей // XI Вишняковские чтения. Вузовская наука – образованию и промышленности: Матер. науч. конф. – СПб.-Бокситогорск, 2008. – С. 297–302.
4. Шугалей И. В., Илюшина Т. М., Хмельницкая Е. М., Судариков А. М. Некоторые патологические состояния, сопровождающиеся нарушениями процессов с участием активных форм кислорода // XI Вишняковские чтения. Вузовская наука – образованию и промышленности: Матер. науч. конф. – СПб.-Бокситогорск, 2008. – С. 349–353.
5. Шугалей И. В., Судариков А. М., Илюшин М. А. Некоторые аспекты процесса липопероксидации и его роль в развитии патологии сердечно-сосудистой системы // XVI Вишняковские чтения. Проблемы и перспективы развития высшего профессионального образования в регионе на современном этапе: Матер. науч. конф. – СПб.-Бокситогорск, 2013. – С. 191–195.
6. Илюшина Т. М., Хмельницкая Е. М., Шугалей И. В. и др. Клиническое применение антиоксидантов // XI Вишняковские чтения. Вузовская наука – образованию и промышленности: Матер. науч. конф. – СПб.-Бокситогорск, 2008. – С. 288–296.
7. Шугалей И. В., Возняковский А. П., Гарабаджю А. В. и др. Биологическая активность детонационных наноалмазов и перспективы их медико-биологического использования // ЖОХ. – 2013. – 83, вып. 5. – С.709–744.
8. Шугалей И. В., Возняковский А. П., Илюин М. А., Гарабаджю А. В. Изучение влияния детонационных наноалмазов на процесс пероксидного повреждения ацетилхолинэстеразы эритроцитов // Породоразрушающий и металлообрабатывающий инструмент – техника и технология его изготовления и применения: Сб. науч. тр. – 2013. – Вып. 16. – С. 351–357.

9. Шугалей И. В., Илюшин М. А., Возняковский А. П., и др. Ультрадисперсные алмазы как антиоксидантные препараты // Там же. – 2009. – Вып. 12. – С. 320–326.
10. Шугалей И. В., Судариков А. М., Возняковский А. П. и др. Химия поверхности детонационных наноалмазов как основа создания продукции биомедицинского назначения: Моногр. – СПб.: ЛГУ им. А. С. Пушкина, 2012. – 152 с.
11. Верещагин А. Л. Сакович Г. В., Петрова Л. А. и др. Исследование химического состава поверхности ультрадисперсного алмаза детонационного синтеза // ДАН СССР. – 1990. – **315**, №1. – С. 104–105.
12. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
13. Владимиров Ю. А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // Биофизика. – 1987. – **32**, вып. 5. – С. 830–844.
14. Бурлакова Е. Б., Храпова Н. Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. – 1985. – **54**, № 9. – С. 1540–1558.
15. Владимиров Ю. А., Проскурина Е. В., Гумайлов Д. Ю. Хемилюминесценция как метод обнаружения и исследования свободных радикалов в биологических системах // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Вып. 1. – С. 13–20.
16. Circu M. L., Aw T. Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems and apoptosis // Free Rad. Biol. Med. – 2010. – **48**. – P. 749–762.
17. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Беляков Ю. Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. – М., 2001. – 78 с.
18. Hamilton C. A., Miller W. H., Al-Benno S. и др. Strategies to reduce oxidative stress in cardiovascular disease // Clinical Sci. – 2004. – **106**. – P. 219–234.
19. Шугалей И. В., Львов С. Н., Баев В. И. и др. Влияние генерации и реакционной способности активных форм кислорода на организм человека // Адаптация организма к неблагоприятным условиям среды обитания: Сб. науч. ст. – СПб.: СПбГПМА, Аспор, 1999. – С. 6–11.
20. Шугалей И. В., Илюшин М. А., Судариков А. М. Особенности метаболизма ксенобиотиков в организме теплокровных // XVI Вишняковские чтения. Проблемы и перспективы развития высшего профессионального образования в регионе на современном этапе: Матер. науч. конф. – СПб.-Бокситогорск, 2013. – С. 187–191.
21. Шугалей И. В., Гарабаджю А. В., Целинский И. В. Химия белка. – СПб., 2011. – 200 с.

Поступила 22.07.16