

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА



Чиркин А.А., Толкачева Т.А.
ВГУ им. П.М. Машерова
9.11.2012

Гипотеза

- В случае избыточного разрушения макромолекул через механизмы окислительного стресса увеличивается концентрация их метаболитов, обладающих антиоксидантными свойствами.
- Предполагается наличие эволюционно закрепленного механизма защиты от патологических процессов путем первичного накопления эндогенных антиоксидантов при окислительной деградаци биополимеров.
- Достигаемый мембраностабилизирующий эффект, связан с механизмами иммунного ответа, репаративного синтеза ДНК, обезвреживания ксенобиотиков, поддержания реологических свойств крови и баланса продукции и трат энергии.
- Такой механизм может участвовать в разнообразных терапевтических эффектах при применении гидролизатов тканей живых организмов.

I. ЖИДКОСТЬ КУКОЛОК ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА ДОЛЖНА ОБЛАДАТЬ СОВЕРШЕННОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

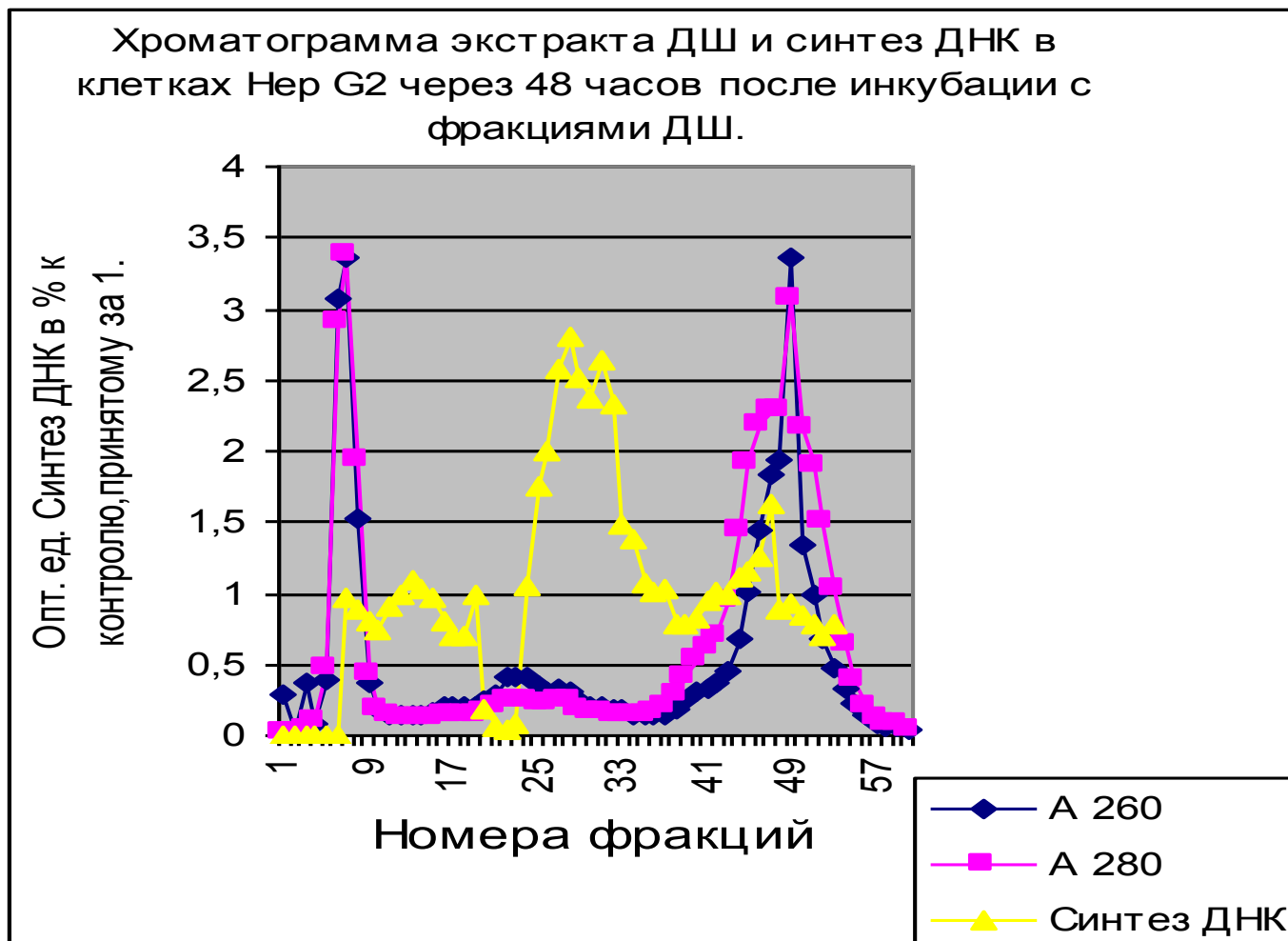
- Куколка – стадия между двумя эукариотическими организмами (гусеница и бабочка).
- Жидкость куколки содержит необходимый пластический и энергетический материал для формирования бабочки.
- Куколка находится в диапаузе 7-8 месяцев, когда возможно деструктивное действие ПОЛ. Однако «органомообразующий бульон» не подвергается значимым повреждениям! Следовательно, должны существовать механизмы антиоксидантной и бактериостатической активностей.
- Длительность состояния диапаузы и переход в стадию метаморфоза должны регулироваться.

II. Жизненный цикл дубового шелкопряда

- Копуляция → Грены → Гусеницы (I-V) →
→ Куколка → → → → → → Бабочка → ...
- Куколка находится в диапаузе 7-8 месяцев, в конце диапаузы формируется новый организм. Следовательно, должно быть **ингибирующее** и **активирующее** метаморфоз начала.



Ингибирующая и активирующая активности в гемолимфе куколок дубового шелкопряда



Бактериостатическое действие

- В опытах на культурах тканей березы и осины установлено бактериостатическое действие экстракта куколок дубового шелкопряда в концентрации 10-20 мл на 100 мл среды. **Выявлена эффективность совместного использования экстракта в концентрации 0,1-10 мл на 100 мл среды и антибиотика цефотаксима в концентрации 500 мг/л для индукции активного роста и развития узловых сегментов побегов тестируемых клонов березы и осины (заявка на патент).**

Влияние экстракта (в мл на 100 мл среды) и антибиотика цефотаксима (в мг/л) на регенерационную способность 1-почечных сегментов побегов у клона Рт осины.
Варианты опыта: а- среда WPM, без гормонов (контроль), б – цефотаксим (цм), 500, в – 10 мл экстракта, г – 10 мл экстракта + цм, 500, д – 1,0 мл экстракта, ж – 1,0 мл экстракта + цм, 500, з – 0,1 мл экстракта, е – 0,1 мл экстракта + цм, 500.



а

б



в

г



д

ж



з

е

Иммуномодулирующая активность

- Установлено увеличение фагоцитарной активности нейтрофилов крови при введении гемолимфы куколок крысам: при разведении 1:10 показатель Фагоцитарное Число увеличен на 22% и Фагоцитарный индекс – на 64,1%. Аналогичные результаты были получены при исследовании фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов после введения гемолимфы куколок [Патент на изобретение Республики Беларусь № 12504 от 27.07.2009; авторы Горецкая М.В., Шейбак В.М., Чиркин А.А. «Средство, обладающее иммуномодулирующей активностью»].

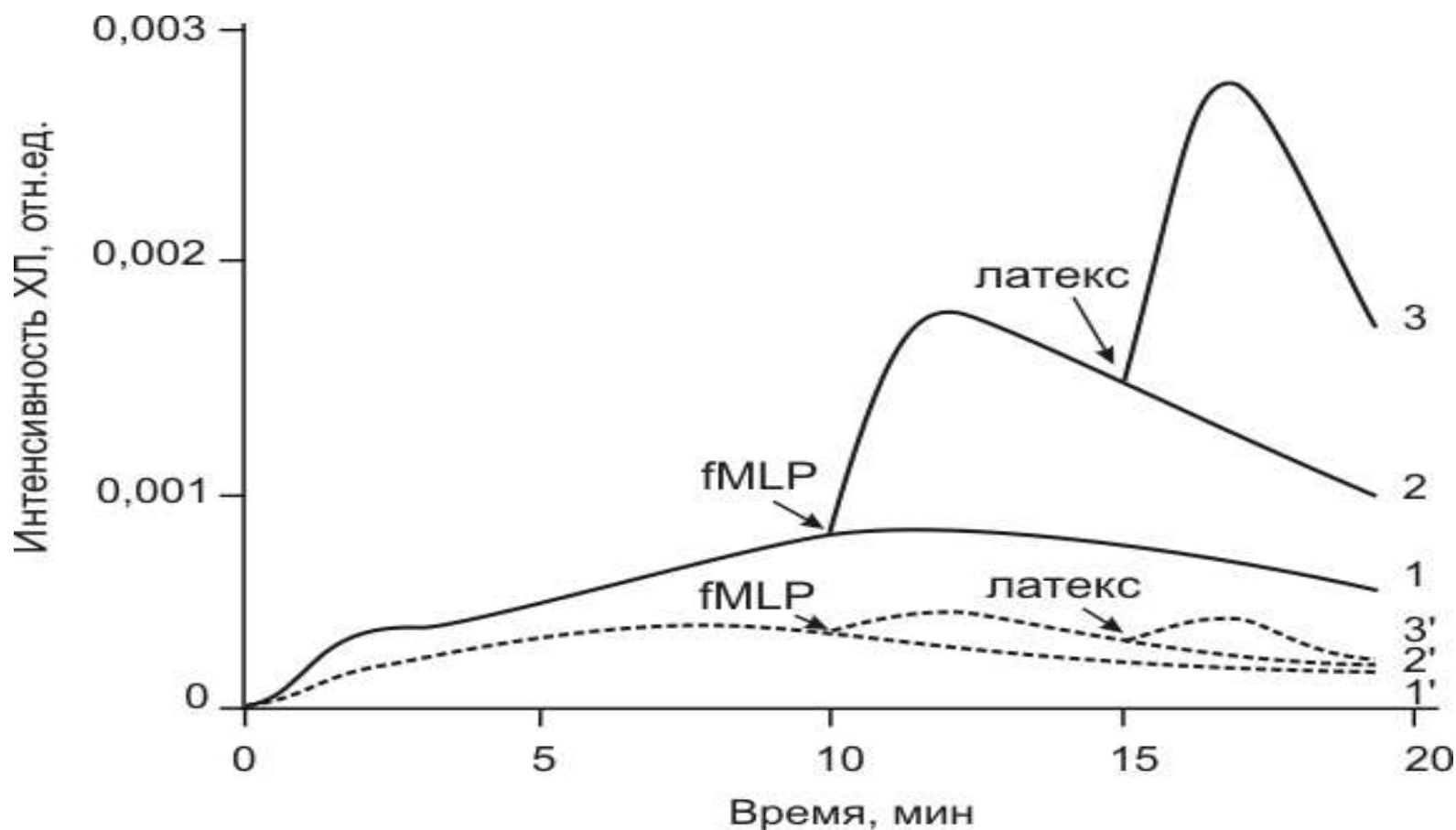
Влияние гемолимфы куколок на содержание аминокислот в сыворотке крови при синдроме отмены этанола

- **Установлено, что гемолимфа куколок сохраняла концентрацию гомоцистеина на уровне интактных крыс [Патент на изобретение Республики Беларусь № 12608 от 25.08.2009; авторы Наумов А.В., Дорошенко Е.М., Шейбак В.М., Разводовский Ю.Е., Чиркин А.А. «Средство для снижения уровня гомоцистеина при гипергомоцистеинемии»]**

Антиоксидантный эффект гемолимфы

- В 2007 году было описано антиоксидантное действие гемолимфы куколок дубового шелкопряда [Чиркин, А.А. Антиоксидантная активность куколок китайского дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi* G.-M.) /А.А. Чиркин, Е.И. Коваленко, В.М. Шейбак [и др.] // Ученые записки УО «ВГУ им. П.М. Машерова» 2007. - Том 6. – С. 248-265]. Было доказано, что нативное содержимое куколок дубового шелкопряда приводит к ингибированию процессов формирования активных кислородных метаболитов (АКМ) нейтрофилами.

Кинетические зависимости Люм-ХЛ нейтрофилов при адгезии клеток на поверхность стекла (1, 1'), при внесении fMLP (2, 2') и латекса (3, 3'). 1, 2, 3 – в отсутствие НЖСК, 1', 2', 3' – при добавлении 2 мкл НЖСК, разбавленного в 20 раз, на 1 мл суспензии клеток (конечная степень разбавления - 10^3 раз).

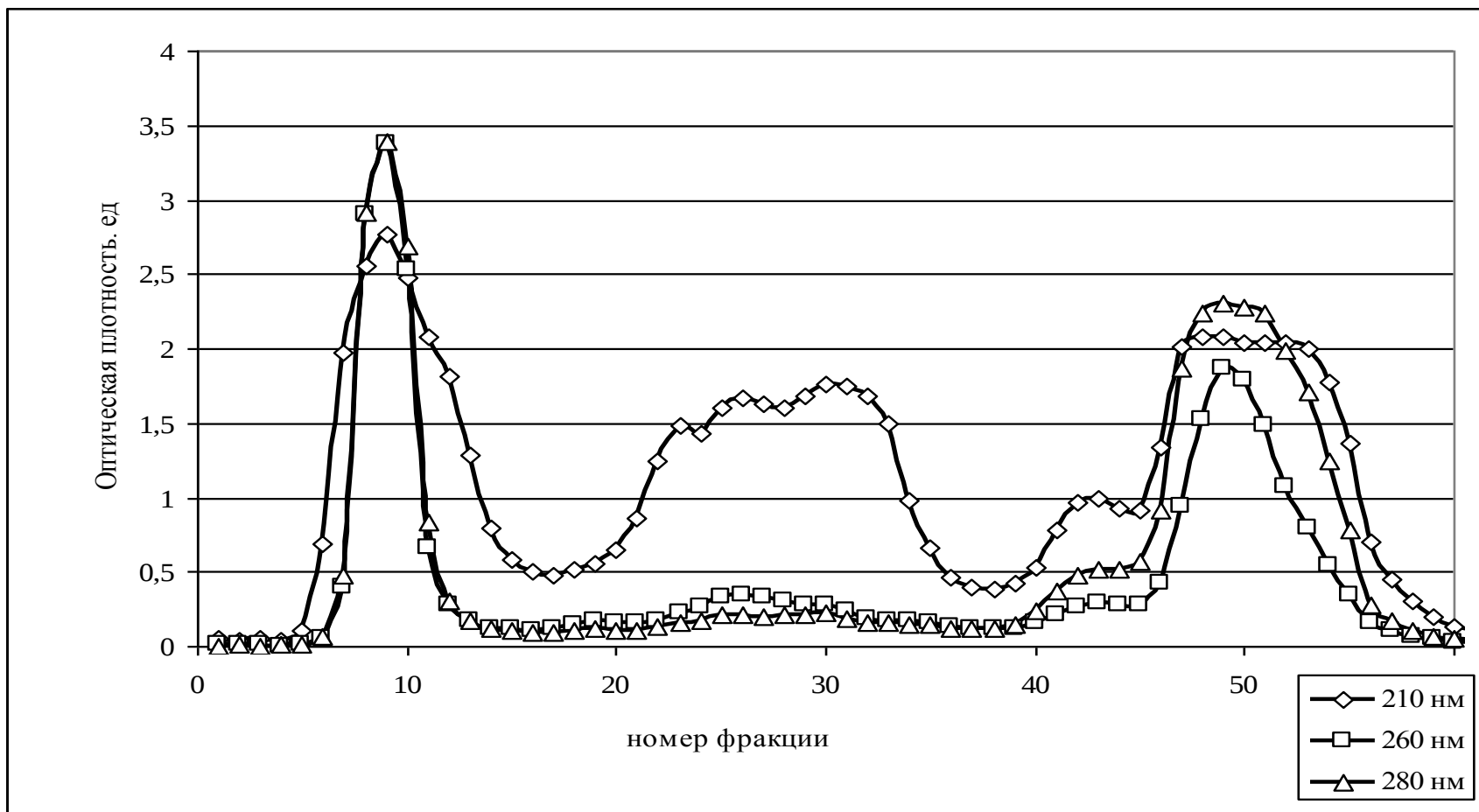


Сравнение антиоксидантного эффекта у гемолимфы куколок дубового шелкопряда и гемолимфы виноградных улиток (*Helix pomatia* L.)

При вычислении 50% ингибирования образования активных форм кислорода показано, что **гемолимфа куколок дубового шелкопряда** эффективнее **гемолимфы виноградных улиток** в системе:

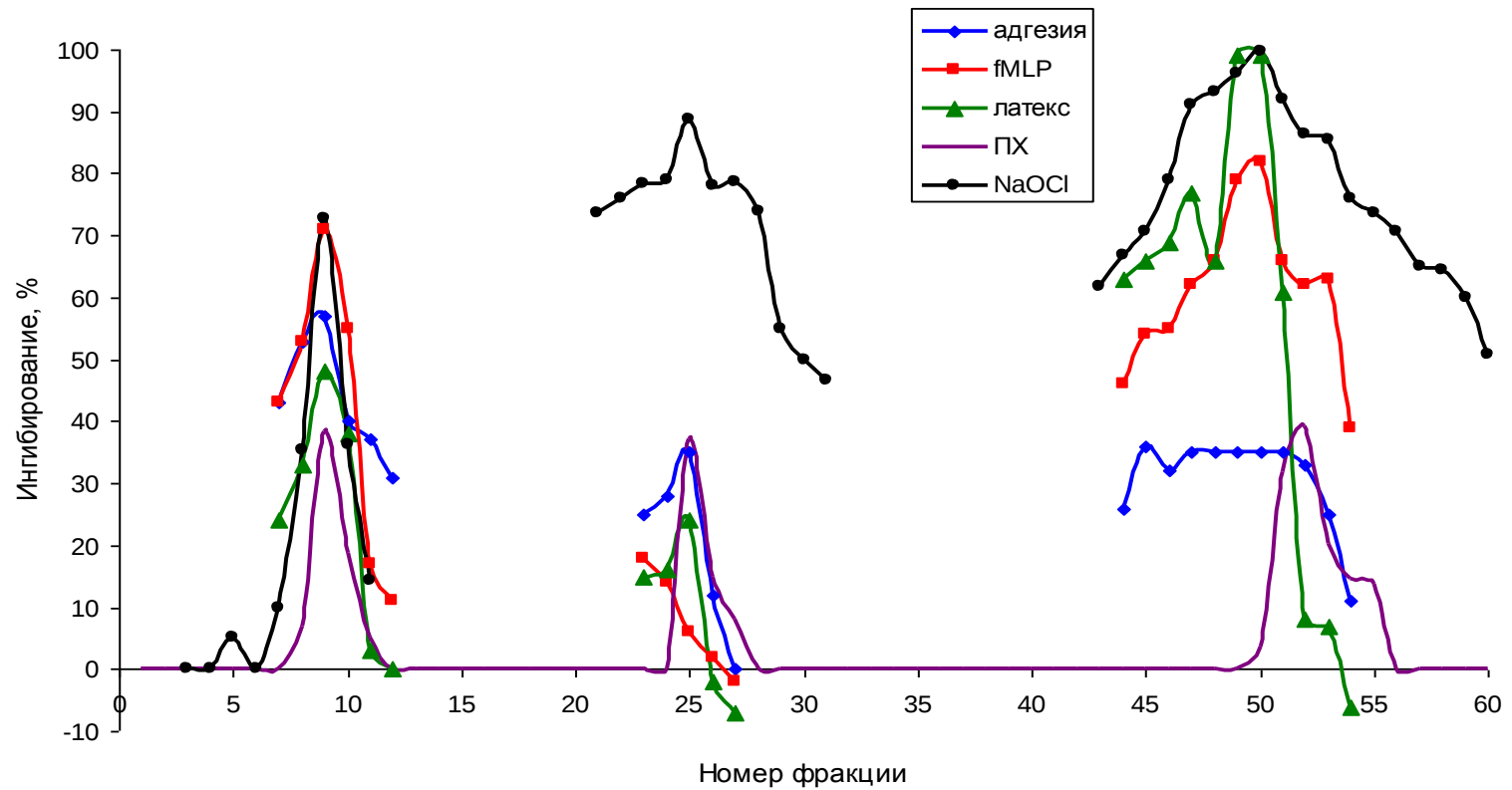
- люминол + HOCl в 200 раз,
- люминол + миелопероксидаза хрена + H₂O₂ в 200 раз,
- генерации активных форм кислорода нейтрофилами при адгезии в 700 раз,
- генерации активных форм кислорода нейтрофилами при действии fMet-Leu-Phe в 300 раз,
- генерации активных форм кислорода нейтрофилами при действии латекса в 4000 раз.

РЕЗУЛЬТАТЫ ХРОМАТОГРАФИИ



Ингибирующее действие различных фракций на люминольную ХЛ в системах:

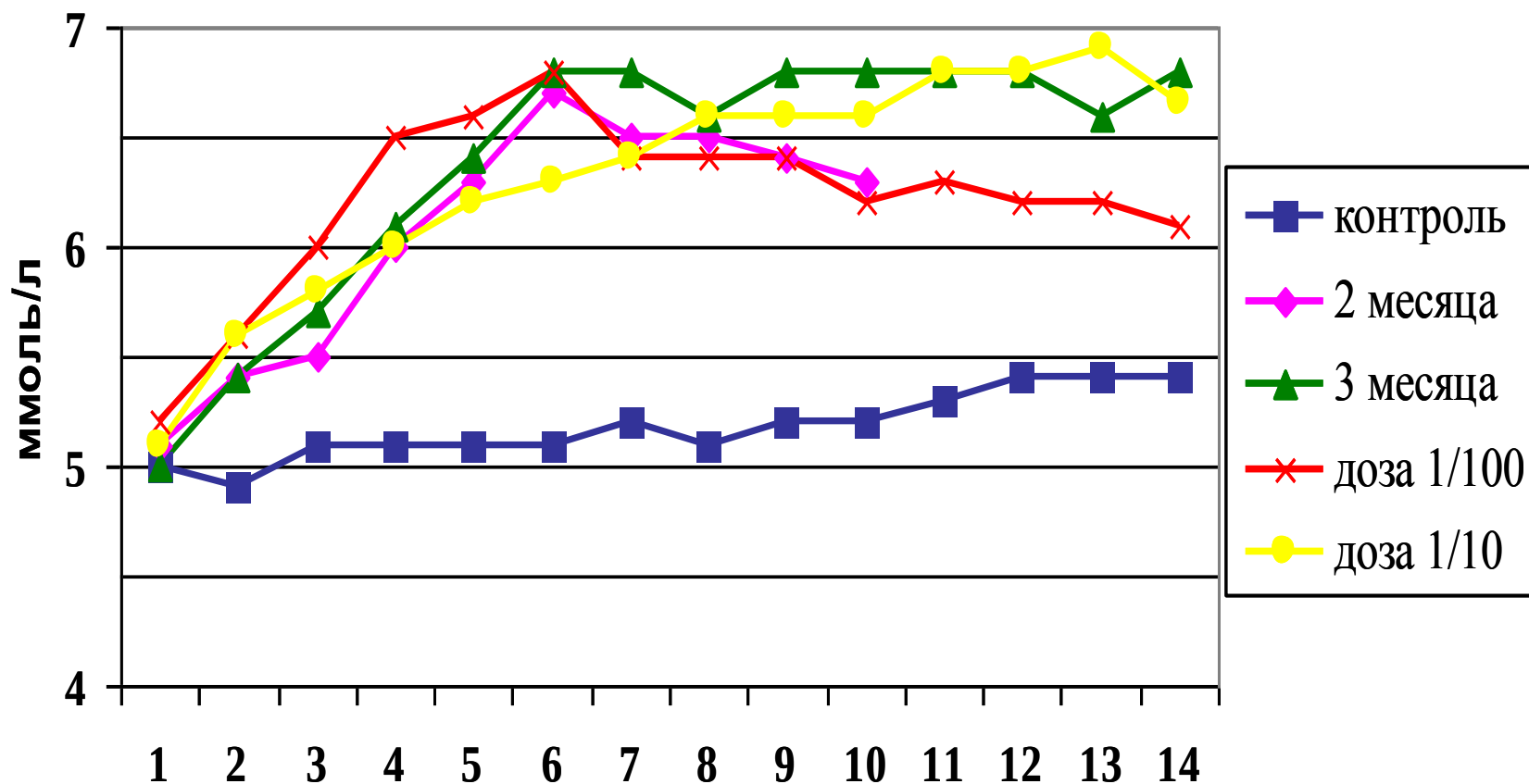
- содержащих нейтрофилы, активированные в ходе адгезии, действия fMLP и латекса
- содержащих $\text{PX} + \text{H}_2\text{O}_2$
- содержащих NaOCl



Инсулинорезистентность

- **Метаболический синдром у крыс** воспроизводили скармливанием жидкой высокожировой диеты по Либеру-Де Карли в течение 3 месяцев. **Для профилактики развития метаболического синдрома** ежедневно на протяжении третьего месяца эксперимента крысам внутрижелудочно вводили дополнительно водный экстракт куколок дубового шелкопряда в дозе (по сумме свободных аминокислот) 7 мкг/мл на 100 г массы тела.

Динамика глюкозы при моделировании инсулинорезистентности и использовании ЭКДШ



Эффективность предлагаемого способа

- Одномесячное введение водного экстракта куколок шелкопряда в процессе воспроизведения инсулинорезистентности уменьшает величину критерия Homa на 34,6%, массу тела на 33,2%, концентрацию глюкозы на 12%, инсулина на 26,9%, кортикостерона на 35,7%, ТБК-реагирующих субстанций – в 2 раза, увеличивает уровень восстановленного глутатиона на 20,8% и нормализует показатели транспорта липидов в сыворотке крови.
- В ткани печени экстракт предотвращает активацию гликогенолиза и гликонеогенеза, подавление гликолиза, способствует нормализации активности ферментов пентозофосфатного пути и величины коэффициентов гормонально-метаболических взаимосвязей.

Способ получения средства для профилактики инсулинорезистентности

- Чиркин А.А., Буко В.У., Балаева-Тихомирова Т.А., Толкачева Т.А., Паршонок Д.И. Патент РБ 15645 А61К 35/64; А61Р 5/50, 30.04.2012
- Афіцыйны бюлетэнь— 2(85), 2012. – С.79
- Chirkin A.A. et al. Biological effects of C200 Oak Silkworm Pupae's hidrophilic components // Homoeopathic Lincs. Internat. Journ. Classical Homoeopathy. – 2011. - Vol. 24, N 3/11. - P. 195-197

Книгу можно заказать: Номер проекта: 61805
Номер ISBN: 978-3-659-20174-5

order@ljubljuknigi.ru

Монография посвящена рассмотрению гипотезы, согласно которой разрушение биологических полимеров (нуклеиновые кислоты, белки и др.) при окислительном стрессе ведет к образованию мономеров, обладающих антиоксидантным действием. На примере дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi* G.-M.) показано, что жидкое содержимое куколки, сформированное в процессе гистолиза тканей личинки V возраста, обладает на порядки более высокой антиоксидантной активностью, по сравнению с гемолимфой личинки дубового шелкопряда или виноградной улитки. Исследован химический состав жидкого содержимого куколок и доказано, что его гидрофильные компоненты обладают антиоксидантным, иммуномодулирующим, бактериостатическим, биостимулирующим, противоопухолевыми эффектами. Предложены способ получения экстракта куколок дубового шелкопряда и его использование для коррекции нарушений метилирования молекул при гомоцистеинемии, профилактики метаболического синдрома, модификации противовоспалительной активности нейтрофильных лейкоцитов, управления метаболизмом тканевых лимфоцитов, оптимизации методов борьбы с бактериальной контаминацией растительных культур и др. Книга предназначена для биотехнологов, энтомологов, биохимиков.

Биологическая активность продуктов гистолиза



Александр Чиркин
Елена Коваленко
Татьяна Толкачева

Александр Чиркин

А.Чиркин – биохимик, доктор биологических наук. Е.Коваленко – биофизик, кандидат биологических наук. Т.Толкачева – биолог. Сфера научных интересов: радиационно-индуцированный атеросклероз, инсулинорезистентность и метаболический синдром, патология печени, биотехнология природных регуляторов, биохимия растений, биологически активные вещества.

Чиркин, Коваленко, Толкачева

Биологическая активность продуктов гистолиза:

теория и практика



978-3-659-20174-5

LAP LAMBERT
Academic Publishing

Предложения

- Рассмотрение предложений о совместном изучении **биологически активных субстанций из куколок дубового шелкопряда** (теория и практика).
- Совместные разработки по исследованию субстанций из куколок дубового шелкопряда как **транскрипционных факторов** (регуляция экспрессии генов).
- Переговоры о комплексе мероприятий о **создании гомеопатического препарата для профилактики инсулинорезистентности** или передаче прав на **патент РБ 15645 (2012)**, принадлежащий ООО «Рубикон», Витебск.

Thank you for your attention!

