

ПРОДУКТЫ РАСПАДА МАКРОМОЛЕКУЛ КАК РЕГУЛЯТОРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

А.А. Чиркин

Витебск, ВГУ имени П.М. Машерова

Известно, что в случае избыточного разрушения макромолекул через механизмы окислительного стресса (при действии ионизирующего излучения, солей тяжелых металлов, повреждениях мембранных структур и др.) увеличивается концентрация их метаболитов, обладающих антиоксидантными свойствами (билирубин при распаде гемоглобина, аминокислоты и пептиды при распаде белков, мочевая кислота при распаде пуриновых нуклеотидов нуклеиновых кислот). Можно предположить наличие эволюционно закрепленного механизма защиты от патологических процессов (по крайней мере, на ранних стадиях их развития) путем первичного накопления эндогенных антиоксидантов при окислительной деградации биополимеров. Поскольку свободно-радикальные процессы сопряжены с функционированием других защитных систем организма, увеличение концентрации эндогенных антиоксидантов будет способствовать мембраностабилизирующему эффекту, связанному с механизмами иммунного ответа, репаративного синтеза ДНК, обезвреживания ксенобиотиков, поддержания реологических свойств крови и баланса продукции и трат энергии. Не исключено, что такой механизм может участвовать в разнообразных терапевтических эффектах при применении гидролизатов тканей живых организмов.

Например, препарат «Актовегин», представляющий собой депротеинизированный гемодериват из крови телят, содержит низкомолекулярные пептиды и фрагменты нуклеиновых кислот. Антиоксидантное действие этого препарата обусловлено наличием высокой супероксиддисмутазной активности [1]. Препарат «Церебролизин» является белковым гидролизатом вытяжки из головного мозга млекопитающих, фармакодинамика которого обусловлена фракцией низкомолекулярных пептидов: регуляция метаболизма мозга, модуляция активности эндогенных факторов роста, взаимодействие с системами нейропептидов и нейромедиаторов в условиях торможения свободнорадикальных процессов, а именно перекисного окисления липидов [2]. Из вышеизложенного следует, что для оптимизации антиоксидантной терапии существует двуединая проблема: точное осуществление необходимой глубины гидролиза макромолекул биологического материала и определение состава гидролизата с выделением основной действующей субстанции. Для решения этой проблемы был осуществлен поиск биологического объекта, в котором в естественных условиях происходит гистолитический распад с последующим использованием продуктов гидролитического распада макромолекул для создания новых тканей. Таким объектом оказался дубовый шелкопряд (*Antheraea pernyi* G.-M.), включающий в жизненном цикле фазу куколки между личинкой (гусеница) и имаго (бабочкой). Куколка этого насекомого находится в состоянии диапаузы 7-8 месяцев. В этом периоде жидкое содержимое куколок, образованное в результате гистолитического распада тканей гусеницы V возраста, устойчиво к окислительному стрессу и бактериальной контаминации. Следовательно, в биотехнологии можно использовать жидкое содержимое куколок как сырье для получения антиоксидантных, бактериостатических и иммуномодулирующих препаратов. Это выгодно отличает жидкое содержимое куколок от продуктов, обогащенных пептидами и свободными аминокислотами, полученными путем гидролиза различных живых объектов, чаще гидробионтов.

Целью работы явилось изложение: 1) открытия мощной антиоксидантной системы содержимого куколок дубового шелкопряда, полученного в результате гистолитического распада, 2) экспериментов по влиянию жидкого содержимого куколок дубового шелкопряда на клетки и ткани живых организмов.

Материал и методы. Анализ химического состава гемолимфы куколок дубового шелкопряда. Исследование антиоксидантной активности гемолимфы и ее фракций.

Результаты и их обсуждение. Продукты протеолиза – аминокислоты L-цитруллин и L-аргинин способны к элиминации супероксид анион-радикала, пролин является эффективным перехватчиком синглетного кислорода и предотвращает клеточную гибель при окислительном стрессе, гистидин может перехватывать пероксильные радикалы, предотвращая карбоксилирование белков и образование белковых сшивок. Ряд аминокислот (цистеин, гистидин, фенилаланин, метионин, триптофан, тирозин, пролин, аргинин) в концентрации 1 мМ являются эффективными природными антиоксидантами, которые способны предотвращать образование перекиси водорода и гидроксильных радикалов при воздействии рентгеновского из-

лучения. В концентрации 0,1 мМ, близкой к физиологической, цистеин, гистидин и тирозин являются эффективными перехватчиками гидроксильных радикалов. Аминокислоты с наиболее выраженными антиоксидантными свойствами (цистеин, гистидин, фенилаланин, метионин, триптофан, тирозин, пролин, аргинин) защищают ДНК *in vitro* от окислительных повреждений, индуцируемых рентгеновским излучением, уменьшая выход 8-оксогуанина – ключевого биомаркера повреждения ДНК активными формами кислорода [3].

Было изучено влияние нативного жидкого содержимого куколок дубового шелкопряда на генерацию активных кислородных метаболитов (АКМ) и секрецию миелопероксидазы (МПО) нейтрофилами крови человека *in vitro*. Установлено, что гемолимфа куколок приводит к ингибированию процессов формирования АКМ нейтрофилами вследствие прямого ингибирования МПО-зависимых окислительных реакций и за счет снижения секреции МПО из нейтрофилов в среду. Действие гемолимфы частично зависит от наличия антиоксидантных аминокислот, функционирования в нейтрофилах 5-липоксигеназных и фосфатидилинозитол-3-киназных внутриклеточных сигнальных путей и не является результатом некроза клеток [4]. Антиоксидантный эффект гемолимфы куколок существенно превышает таковой у гемолимфы гусениц или виноградных улиток (*Helix pomatia* L.) [5].

Заключение. В результате гистолиза тканей гусеницы в жидком содержимом куколок формируется уникальный антиоксидантный комплекс, включающий 1) антиоксидантные аминокислоты; 2) антиоксидантные витамины (аскорбиновая кислота $181,5 \pm 27,0$ мкг/мл или в 10 раз выше, чем в гемолимфе виноградных улиток, токоферолы $12,5 \pm 0,88$ мкг/мл, ретинол $0,037 \pm 0,013$ мкг/мл); 3) мочевую кислоту $303 \pm 62,3$ мкмоль/л, что в 1,5 раза больше, чем в плазме крови человека; 4) SH-группы 41,9 мкмоль/л, восстановленный глутатион 23,5 мкмоль/л и глутатионпероксидазу $42 \pm 9,0$ нмоль GSH/мин×мг белка. Этот комплекс может обеспечивать подавление деструктивного влияния окислительного стресса на макромолекулы – белки и нуклеиновые кислоты.

Список литературы

1. Ушкалова, Е.А. Антиоксидантные и антигипоксические свойства актовегина у кардиологических больных / Е.А.Ушкалова // Трудный пациент. – 2005. – №3. – С. 20–24.
2. Гусев, Е.И. Нейропротективная терапия ишемического инсульта. Вторичная нейропротекция / Е.И.Гусев, В.И.Скворцова // Журнал неврологии и психиатрии. – 2002. – №6. – С. 3–18.
3. Штаркман, И.Н. Антиоксидантные свойства аминокислот и образование долгоживущих радикалов белка под действием рентгеновского излучения / Автореферат диссертации ... кандидата биологических наук по специальности 03.00.02. – Пушино, 2008. – 22 с.
4. Коваленко, Е.И. Изменение активности нейтрофилов крови человека при взаимодействии с компонентами жидкого содержимого куколок дубового шелкопряда в условиях *in vitro* / Е.И. Коваленко [и др.] // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2009. – №3. – С. 21–26.
5. Чиркин, А.А. Антиоксидантные и ростостимулирующие эффекты гидрофильных компонентов куколок дубового шелкопряда / А.А.Чиркин [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. Матер. 3-й междунар. научн. конф. Минск, 23–24 мая 2009 г. Минск, 2009. – С. 124–127.