

9	Докшицкий	+					+	1	1
10	Дубровенский						+		1
11	Лепельский	+					+	1	1
12	Лиозненский	+		=			+	1,5	1
13	Миорский						+		1
14	Оршанский			+			+	1	1
15	Полоцкий			+	+		+	2	1
16	Поставский						+		1
17	Россонский						+		1
18	Сенненский						+		1
19	Толочинский	+					+	1	1
20	Ушачский	+					+	1	1
21	Чашникский						+		1
22	Шарковщинский	+					+	1	1
23	Шумилинский	+					+	1	1

Старение населения, отрицательно сказывается на экономическом развитии территорий в связи с тем, что увеличивает коэффициент демографической нагрузки на работающее население, особым образом формирует масштабы и специфику потребления.

В целом, вероятность того, что кризисную демографическую ситуацию в большинстве районов удастся развернуть вспять, довольно мала. Однако, игнорировать эту информацию нельзя. Понимание масштабов и направлений данного процесса важно для разработки эффективных перспективных планов устойчивого развития территории.

Заключение. Таким образом, оценка пространственных особенностей демографической ситуации в АЕ Витебской области негативнее оценки их структурных тенденций. Она связана с констатацией факта усиления старения населения во всех административных единицах области, кроме областного центра – Витебска.

1. Статистический сборник в 2-ух томах. Регионы Республики Беларусь 2023 год. Социально-экономические показатели. Том 1. Национальный статистический комитет Республики Беларусь. – Минск. – 2023. – 690 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.belstat.gov.by/upload/iblock/bf1/381kv0fptaty50gf6n56b7b47qr4kd4r.pdf>.

2. Бобрин, М.Ю. География Беларуси: Раздел: Социально-экономическая география Беларуси: методические рекомендации / М.Ю. Бобрин, О.Д. Строчко, С.В. Чубаро. – 2-е изд., испр. и доп. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2019. – 36 с. URL: <https://rep.vsu.by/bitstream/123456789/19108/1/> (дата доступа: 25.01.2024).

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ГИСТОЛИЗА КУКОЛОК КИТАЙСКОГО ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

*Т.А. Толкачева, А.А. Чиркин
Витебск, ВГУ имени П.М. Машерова*

Китайский дубовый шелкопряд (*Antheraea pernyi* G.-M.) обладает эволюционно отобраным механизмом эндогенной антиоксидантной защиты, расшифровка которого может стать матрицей для создания препаратов целенаправленного воздействия на эндогенную антиоксидантную систему других организмов [1]. Источником эндогенных антиоксидантов является гемолимфа куколок, в которой на протяжении 7-месячной диапаузы не происходит необратимых нарушений молекулярно-структурной организации макромолекул, освобождаемых в процессе гистолиза тканей, что обеспечивает ресинтез новых тканей имаго без нарушения генома организма. Цель работы – на основании исследования химического состава содержимого куколок дубового шелкопряда

создать природные композиции эндогенных антиоксидантов и определить биохимические эффекты их действия на нормальные, трансформированные клетки и тканевые системы. При этом решаются следующие задачи: 1. Охарактеризовать компоненты антиоксидантного комплекса гемолимфы куколок дубового шелкопряда и ее фракций. 2. Оценить действие гемолимфы и ее фракций на эритроциты, нейтрофильные лейкоциты крови, лимфоциты тканей, фибробласты кожи человека, стволовые клетки жировой ткани крысы и трансформированные клетки опухолей. 3. Установить возможные биохимические механизмы воздействия гидрофильных компонентов куколок дубового шелкопряда на антиоксидантные системы других живых объектов и разработать новые способы практического применения экстракта гемолимфы и искусственных аминокислотных смесей на основе фракций гемолимфы куколок дубового шелкопряда.

Материал и методы. Экстракт куколок дубового шелкопряда получали согласно Патенту Республики Беларусь №15645 [2]. Разделение выделенной из куколок шелкопряда гемолимфы проводили на колонке Sephadex G25 fine. Содержание аминокислот в гемолимфе и ее фракциях анализировали методом ВЭЖХ в хлорноокислых экстрактах, их количественную и качественную идентификацию проводили обращенно-фазной хроматографией на хроматографе Agilent 1200. Содержание белка в гемолимфе определяли по Лоури, а биохимический состав методами «сухой химии» («Roche Diagnostics», Германия). Содержание витаминов в гемолимфе определяли общепринятыми флуоресцентными и спектрофотометрическими методами (Solar PV 125IC, Беларусь) [3]. Определения действий экстракта куколок китайского дубового шелкопряда и его гемолимфы проводили на клеточном, тканевом и организменном уровнях.

Клетки жирового тела, полученные коллагеназным методом, и клетки гемолимфы культивировали в модифицированной Дульбеко среде Игла и окрашивали ядра флуоресцентного красителями Хехст-33342 и йодистым пропидием. Жизнеспособность оценивали с помощью МТТ-теста. Для оценки количества делений мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс использовали окраску CFSE (Carboxyfluorescein succinimidyl ester). Регистрацию результатов проводили на проточном цитофлуориметре Beckman-Coulter FC 500. Нейтрофильные лейкоциты крови получали фиколюрографическим методом. Суспензию нейтрофилов ($1 \cdot 10^6$ клеток/мл) помещали в стеклянную кювету, добавляли гемолимфу куколок шелкопряда, люминол ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) или люцигенин ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и исследовали параметры усиленной люминолом или люцигенином хемилюминесценции (ХЛ), обусловленной генерацией нейтрофилами активных форм кислорода (АФК) при адгезии к стеклу, действии хемотаксического трипептида fMLP ($7,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) и латекса. Кинетические зависимости интенсивности ХЛ активированных клеток регистрировали с помощью компьютеризованного измерительного комплекса, включающего биохемилюминометр БХЛ-1 (Белгосуниверситет, Беларусь) и систему регистрации и обработки сигналов Unichrom. Интегральную интенсивность ХЛ клеток вычисляли как площадь под кинетической кривой. Цитотоксичность препаратов гемолимфы куколок китайского дубового шелкопряда в отношении нейтрофилов определяли по высвобождению лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в среду инкубации. Методы работы с растительными объектами (проращивание семян, оценка содержания хлорофиллов, каротиноидов, ТБК-реагирующих веществ, активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, суммы фенольных соединений, содержание α -аминоазота, оценка экспрессии стрессовых белков растений) были общепринятыми [3]. Весь цифровой материал вводился для хранения и обработки в таблицы Microsoft Excel. Проверка нормальности распределения данных производилась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова, среднего абсолютного отклонения и Дэвида-Хартли-Пирсона. Для проверки гипотез о различии средних значений изучаемого признака в исследуемых группах применялся t-критерий Стьюдента для нормально

распределенных данных и критерий Манна-Уитни для данных, которые не являлись нормально распределенными.

Результаты и их обсуждение. В процессе запрограммированного разрушения клеток личинок китайского дубового шелкопряда V возраста по механизмам апоптоза и перманентном разрушении макромолекул в процессе диапаузы формируется эндогенная антиоксидантная система куколок дубового шелкопряда, включающая витамины А, Е, С, бета-каротин, мочевую кислоту, аминокислоты антиоксидантного действия (про, сер, тау, тре, тир, мет, арг, гли, глу, асп), глутатион, фенольные соединения, белок, подобный липопротейнам высокой плотности.

Экспериментально доказано, что гемолимфа куколок в 10 раз сильнее ингибирует реакцию Фентона, чем гемолимфа личинок V возраста. По 50 % ингибированию образования активных форм кислорода гемолимфа куколок дубового шелкопряда эффективнее гемолимфы виноградных улиток в системе люминол + HOCl в 200 раз, люминол + миелопероксидаза хрена + H₂O₂ в 200 раз, люминол + миелопероксидаза + H₂O₂ в 500 раз, генерации активных форм кислорода нейтрофилами при адгезии в 700 раз, генерации активных форм кислорода нейтрофилами при действии fMet-Leu-Phe в 300 раз и генерации активных форм кислорода нейтрофилами при действии латекса в 4000 раз. Известный антиоксидантными свойствами гомогенат расплода пчел уступает по антиоксидантной активности гемолимфе куколок дубового шелкопряда в 100-1000 раз. Растения, обладающие наиболее высокой антиоксидантной активностью, уступают по антиоксидантной активности гемолимфе куколок дубового шелкопряда, как минимум, в 2,5–10 раз.

По ингибирующему действию на окисление люминола в системе пероксидаза хрена+H₂O₂ и по ингибированию хемилюминесценции в системе с гипохлоритом натрия выделены 3 группы фракций гемолимфы: фракции макромолекул; фракции, содержащие пептиды и аминокислоты; фракции, содержащие низкомолекулярные биорегуляторы. Данное деление воспроизводимо и выявленные эффекты сохраняются при хранении фракций в течение 6 месяцев. Ингибирование на 50% генерации активных форм кислорода нейтрофильными лейкоцитами выявлено при адгезии в случае разбавления гемолимфы в 500 раз, а при воздействии fMet-Leu-Phe и латекса – при разбавлении гемолимфы более, чем в 10000 раз. Компоненты гемолимфы куколок дубового шелкопряда могут напрямую влиять на зависимые от миелопероксидазы реакции, не повреждая при этом мембраны, а также действовать через механизмы внутриклеточной сигнализации (фосфатидилинозитольный и липоксигеназные пути).

Часть определения действий продуктов гистолиза шелкопряда проведены на клеточном и тканевом уровнях.

Исследования показали, что нативная и разбавленная в 5 раз гемолимфа куколок дубового шелкопряда ингибирует процесс перекисного окисления липидов мембран эритроцитов человека, инициированного введением tBOOH, на 65–55% при сохранении концентрации восстановленного глутатиона. Протекторные эффекты проявляются на уровне мембран, а также внутриклеточных метаболических путей.

При изучении влияния аминокислотного состава фракций гемолимфы на количество делений мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс, показано, что фракции оказывают проаптогенное действие что сопровождается уменьшением способности их к делению.

Лизин- и аргинин-содержащие фракции гемолимфы стимулируют рост нормальных клеток фибробластов кожи человека в культуре, при этом оказывают цитотоксическое действие на трансформированные клетки гепатомы Нер G2. Выявлены фракции гемолимфы, оказывающие ингибирующее до нуля и активирующее на 275% действие на биосинтез ДНК в клетках гепатомы Нер G2.

Следующие эффекты продуктов гистолиза получены на организменном уровне. Введение в ногу лабораторных особей пресноводных легочных моллюсков стрептозотцина привело к прогнозируемому развитию гипергликемии, которую нивелировал введенный одновременно с метаболотропным препаратом водный экстракт куколок китайского дубового шелкопряда.

Курсовое введение растущим крысам экстракта куколок дубового шелкопряда усиливает эндогенную антиоксидантную систему тканей за счет прироста концентрации антиоксидантных аминокислот – цистеина в 8 раз, таурина в 2 раза и цистатионина в 10 раз в лимфоцитах печени, тенденции к накоплению таурина в 2 раза в лимфоцитах селезенки и тенденции к повышению образования цистеина в лимфоцитах тимуса.

Показано профилактическое действие экстракта куколок дубового шелкопряда в разведениях $1:10^4$ – $1:10^5$, предупреждающее развитие окислительного стресса на простых растительных тест-объектах. При разведении жидкого содержимого куколок в 10000 раз удается зарегистрировать модулирующее действие низкомолекулярных биорегуляторов на экспрессию генов трех стрессовых белков растений – β -глюкозидазы, фосфолипазы D и фитохрома A.

Определен аминокислотный состав фракций гемолимфы, которые при обработке зерновок ячменя приводят к стимуляции роста корней на фоне снижения интенсивности перекисного окисления липидов. На основе этих фракций созданы модельные смеси аминокислот, содержащие глу, сер, гли, тре, арг, ала, вал, иле, лей, лиз, про, оказывающие аналогичный стимулирующий эффект на рост и развитие ячменя.

Заключение. Изучен химический состав содержимого куколок дубового шелкопряда и его динамики в процессе диапаузы: выделены три группы веществ (макромолекулы, аминокислоты-пептиды и низкомолекулярные биорегуляторы) и определен аминокислотный состав содержимого куколок и фракций гемолимфы. Открыты антиоксидантное, проапоптозогенное действия на стволовые клетки жировой ткани крысы и цитотоксическое действие гемолимфы и ее фракций на культуры трансформированных клеток. Дано биохимическое обоснование применения водного экстракта куколок китайского дубового шелкопряда и фракций гемолимфы для получения антиоксидантных, бактериостатических, противоопухолевых и биостимулирующих препаратов, в частности, для профилактики развития метаболического синдрома [3].

1. Биологическая активность продуктов гистолиза / А.А. Чиркин, Е.И. Коваленко, Т.А. Толкачева. – Germany: Lambert Academic Publishing, 2012. – 156 с.

2. Способ получения средства для профилактики инсулинорезистентности: пат. 15645 Респ. Беларусь, МПК А 61К 35/64, А 61Р 5/50 / А.А. Чиркин, В.У. Буко, О.М. Балаева-Тихомирова, Т.А. Толкачева, Д.И. Паршонок.

3. Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учеб. пособие для магистрантов учреждений высш. образования, по биол. и мед. специальностям / Е.В. Барковский [и др.], Т.А. Толкачева [и др.]; под ред. А.А. Чиркина. – Минск: Вышэйшая школа, 2013. – 491 с.

КОНЦЕПЦИЯ СОЗДАНИЯ РЕГИОНАЛЬНОЙ ГЕОЛОГО-ИНФОРМАЦИОННОЙ МОДЕЛИ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ТЕРРИТОРИИ ВИТЕБСКОЙ ОБЛАСТИ

*А.Б. Торбенко, А.Н. Галкин
Витебск, ВГУ имени П.М. Машерова*

Четвертичные отложения на территории Витебской области характеризуются повсеместным распространением и сплошным чехлом разной мощности покрывают более древние породы. Они представлены сложным комплексом собственно ледниковых, водноледниковых, озерно-болотных, аллювиальных, эоловых и других накоплений. Их литологический состав влияет на формирование генетических типов современных почв, они