

ОБЗОРЫ

© Коллектив авторов, 2012
УДК 616.831-005.4-008.9:541.135

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ
О ФАРМАКОДИНАМИКЕ ЭКДИСТЕРОИДОВ

А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева, В.В. Давыдов, В.Н. Дармограй

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

В обзоре рассмотрены возможные механизмы действия экдистероидов в организме млекопитающих: встраивание экдистероидов в билипидный мембранный слой; взаимодействие экдистероидов со специфическими мембранными рецепторами; взаимодействие экдистероидов с регуляторным участком рецептора для другой молекулы; торможение развития катоксических и возбуждение синтоксических программ адаптации.

Ключевые слова: экдистероиды, фармакодинамика.

Термин «экдистероиды» происходит от греческого слова «экдизис» (линька) и объединяет в себе группу липофильных полигидроксилированных стероидов, участвующих в жизнедеятельности практически всех живых организмов. Являясь у насекомых гормонами линьки, в организме млекопитающих они оказывают разнообразные эффекты (анаболический, актопротекторный, адаптогенный, антигипергликемический, гиполипидемический и ряд других) [14]. Присутствуя в организме растений в больших концентрациях (1-2% в биомассе), экдистероиды, скорее всего, защищают их от насекомых-вредителей (высокие концентрации экдистероидов подавляют развитие насекомых) [9].

На сегодняшний день известно строение около 300 молекул экдистероидов. Они синтезируются во всех главных типах высших растений – папоротникообразных, голосеменных и покрытосеменных (*фитоэкдистероиды*), насекомых, ракообразных, нематодах (*зооэкдистероиды*) и грибах (*микоэкдистероиды*). Ни в одном из видов млекопитающих образование экдистероидов до сих пор не описано.

Зооэкдистероиды и микоэкдистероиды содержатся в членистоногих и грибах в

чрезвычайно низких количествах. Химический синтез экдистероидов – осуществим, но весьма дорог, поэтому основным источником их промышленного получения являются растения. К числу важнейших экдистероидсодержащих растений относятся: *Rhaponticum carthamoides* (левея сафлоровидная, рапонтикум или маралий корень), *Serratula coronata* L. (серпуха венценосная), *Silene* (смолевки), *Lychnis* (зорьки), *Coronaria flos-cuculi* L. (горицвет кукушкин), *Helleborus purpurascens* (морозник красноватый) и ряд других. Однако, биологическая активность проявляется у незначительной части видов, что скорее всего связано с присутствием в растениях большого числа слабоактивных или неактивных фитоэкдистероидов [24].

Из всего многообразия экдистероидных молекул в организме млекопитающих наиболее активны три – *ponasterone A*, *muristerone A* и *ecdysterone*, структурные формулы которых различаются только количеством и расположением гидроксильных ОН-групп. Биологическая активность других экдистероидов – *polypodine B*, *inokosterone*, *makisterone* существенно ниже, а у *a-ecdysone*, *2-deoxyecdysone*, *2-deoxyecdysterone*, *22-acetat-ecdysterone* отсутствует [4, 24].

Фармакодинамика экидстероидов в организме насекомых

В организме насекомых экидстероидам принадлежит исключительно важная роль на всех стадиях развития (линьки, метаморфоза, воспроизводства и диапаузы). Они необходимы для инициации превращений, происходящих в ходе развития личинки до куколки, и затем до взрослого насекомого. Антагонистом экидстероидов в организме насекомых является ювенильный гормон. В отличие от экидстероидов он обеспечивает стабильность, способствует личиночному росту и препятствует метаморфозе. Экидстероиды синтезируются в проторакальных железах под воздействием нейропептидов, вырабатываемых в мозге насекомых [4]. Экидстероидные рецепторы у насекомых – члены ядерного суперсемейства рецепторов, имеющих, как предполагается, единое происхождение. Структура экидстероидов сходна со структурой других стероидных гормонов (глюкокортикоидов, половых гормонов, витамина D₃ и ретиноидов) [11].

Процесс взаимодействия экидстероидов со своими рецепторами схематично можно представить в виде трех последовательных этапов. Являясь липофильными веществами, экидстероиды свободно проникают через билипидную клеточную мембрану. Затем экидстероиды взаимодействуют со специфическими рецепторами. Связывание гормона влечет за собой конформационную перестройку молекулы рецепторного белка, диссоциацию с освобождением от белков-ингибиторов, поддерживающих его структуру. На втором этапе происходит активация гормонорецепторного комплекса за счет образования гетерокомплекса (гетеродимеризация) с рецепторами производных витамина A, в частности с рецептором 9-цис-ретиноевой кислоты. В этом экидстероидные рецепторы отличны от андроген-, прогестерон-, эстроген-, глюкокортикоидных рецепторов, способных активироваться в форме гомодимеров, т.е. без участия рецептора-партнера и их лигандов. На третьем этапе происходит взаимодействие образовавшегося гетеродимера (EcR/RXR) с регуляторными участками ге-

нов, которые носят название *гормон-респонсивные элементы*. Это короткие симметричные фрагменты ДНК, которые выполняют функции усилителей (энхансеров, англ. enhancer) транскрипции [16].

Фармакодинамика экидстероидов в организме млекопитающих

У млекопитающих экидстероидные рецепторы до сих пор не найдены. В ряде исследований предполагалось, что экидстероиды, из-за подобия химической структуры, могут оказать схожие эффекты с 1 α , 25-дигидроксивитамином D₃ [17]. Но, при изучении способности экидстерона связываться с глюкокортикоидными, андрогенными, тиреоидными рецепторами, рецепторами витамина D₃, печеночными рецепторами X и фарнозойными рецепторами, оказалось, что он не обладает к ним сродством [12, 21]. Возможно, это связано с длинной углеводородной цепью со стороны холестерина, которая мешает экидстероидам взаимодействовать с рецепторами.

В 1999 году было установлено, что некоторые предварительно «освобожденные» ядерные рецепторы (например, рецептор прогестерона) способны связывать эндогенные оксистероиды [25] и имеют широкую специфичность, благодаря чему могут связывать множество ксенобиотиков, включая стероиды [27]. Однако, на данный момент, отсутствуют исследования, доказывающие, что экидстероиды взаимодействуют с такими рецепторами. Поэтому считается, что эффекты, оказываемые экидстероидами в организме млекопитающих, реализуется через другие механизмы.

Brann D.W. et al. (1995) были предложены три возможных механизма действия экидстероидов:

Первый возможный механизм действия. *Встраивание экидстероидов в билипидный мембранный слой, изменение структуры окружающих белков, и, следовательно, изменение их функционирования.* Для проверки этой гипотезы было изучено включение молекулы экидстерона в билипидный мембранный слой эритроцитов [28]. В первой серии экспериментов, эритроциты предварительно инкубировали с различными стероидами (10⁻⁶M) (в

том числе 2-деокси-20-гидрокси-экдизоном и 20-гидроксиэкдизоном), а затем с ^3H -холестирином. И 2-деокси-20-гидроксиэкдизон и 20-гидроксиэкдизон уменьшили радиоактивность, связанную с мембранной фракцией, что свидетельствует об уменьшении включения ^3H -холестерина в мембрану. Во второй серии экспериментов, авторы вначале инкубировали эритроциты с различными концентрациями 20-гидроксиэкдизона (от 10^{-14} до 10^{-10}M), а затем с холестерином, холекальциферолом и кальцитриолом, мечеными радиоактивными метками. Экдистерон, в основном, уменьшал включение кальцитриола. Эти эксперименты подтверждают гипотезу о том, что экдистероиды способны встраиваться в билипидный мембранный слой.

Второй возможный механизм действия. *Взаимодействие экдистероидов с определенными мембранными рецепторами, которые активируют механизмы трансдукции.* В 2005 году помимо ядерных рецепторов у насекомых был идентифицирован мембранный допамин-экдистероидный рецептор, который активируется допамином и экдистероном, и связан с G-белком [20]. Активация G-белка может вести к разнообразным способам передачи сигнала, включая активацию аденилатциклазы, фосфолипазы C, фосфодиэстеразы цГМФ, Na^+ – каналов и K^+ – каналов. Активация фосфолипазы C вызывает гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-бифосфата (ФИФ2) на инозитол-1,4,5-трифосфат (ИФ3) и диацилглицерол (ДАГ) [22]. ИФ3 связывается со специфическими рецепторами в эндоплазматическом или саркоплазматическом ретикулуме и стимулирует высвобождение из них Ca^{2+} , что способствует быстрому повышению его внутриклеточного уровня [6]. Вторичные посредники участвуют в каскаде фосфорилирования белков, которые, в конечном счете, приводят к клеточному ответу, включая и синтез белка.

В отличие от ядерного экдистероидного рецептора, эффект которого проявляется через некоторое время, необходимое для геномного ответа, G-белковый экдистероидный рецептор может быть ответственен за реализацию их быстрых

негеномных эффектов. В организме млекопитающих, наибольшей гомологией с допамин-экдистероидными рецепторами обладают $\beta 2$ -адренорецепторы, относящиеся к семейству рецепторов, взаимодействующих через G-белок с мембранными ферментами. При изучении способности экдистерона связываться с $\beta 2$ -адренорецепторами, оказалось, что он не может с ними взаимодействовать [21].

В настоящее время описано более чем 1000 различных рецепторов, взаимодействующих через G-белок с мембранными ферментами [13].

Так как большинство рецепторов до конца не изучено, возможно, что среди них есть и экдистероидный рецептор. Для подтверждения этой гипотезы был проведен ряд экспериментов, изучающих влияние экдистерона на процессы активируемые G-белком.

Установлено, что введение экдистерона вызывает повышение уровня ИФ3 в мозге и сердце крыс, а также быстрое вхождение Ca^{2+} в клетку в культуре миоцитов C2C12 [8]. Блокирование фосфолипазы C или рецепторов ИФ3 уменьшает, вызванное экдистероном повышение синтеза белка. Причем при использовании одновременно двух ингибиторов аддитивного эффекта получено не было, что свидетельствует о том, что рецептор ИФ3 и фосфолипаза C участвуют в одном и том же процессе [21].

Другим возможным посредником, участвующим в реализации эффектов экдистероидов может быть протеинкиназа B (Akt). Геном человека содержит семейство генов Akt1, Akt2, Akt3, которые кодируют синтез протеинкиназы B. Akt1 (протеинкиназа B1) ингибирует процессы апоптоза (запрограммированная смерть клеток), принимая участие в клеточных циклах. Также Akt1 индуцирует синтез белка, и поэтому является ключевым ферментом в биохимических процессах роста тканей и развитии мышечной гипертрофии. Поскольку продукт гена Akt1 блокирует апоптоз и обеспечивает выживание клетки, Akt1 является одним из главных факторов в развитии многих видов рака. Продукт гена Akt2 является важной сигнальной молекулой в пути пере-

дачи сигнала от инсулина, этот белок требуется для включения транспорта глюкозы. Роль Akt3 менее ясна, хотя показано, что этот ген преимущественно экспрессируется в мозге. Сообщается также, что мыши, лишённые Akt3, имеют маленький мозг [15].

Регуляция активности протеинкиназы В (Akt) осуществляется путем связывания фосфатидилинозитол-трифосфата (ФИФ3), или фосфатидилинозитол-дифосфата (ФИФ2). ФИФ2 может быть фосфорилирован только ФИФ3-киназами, и только в случае, если клетка получила сигнал к росту. ФИФ3-киназы могут быть активированы рецепторами, связанными с G-белками или рецепторами с тирозинкиназной активностью (например, инсулиновым рецептором). После активации, ФИФ3-киназы фосфорилируют ФИФ2 в ФИФ3. После закрепления в мембране путем связывания с ФИФ3, Akt может быть активирована путем фосфорилирования фосфоинозитол-зависимыми киназами (PDK1 и PDK2, mTORC2). PDK1 фосфорилирует Akt, а mTORC2 стимулирует фосфорилирование PDK1. Активированная киназа Akt далее регулирует через фосфорилированную активность многих субстратов [23].

Было обнаружено, что муристерон А и понастерон А способны к потенциации ИЛ-3 зависимого, преобразования клеток, активируемого фосфоинозитол-3-киназой [26]. Далее последовал ряд работ, в которых доказывалась зависимость анаболического, антиапоптотического, антигипергликемического действия эрдистероидов от активности фосфоинозитол-3-киназы [5, 18]. В одном из исследований показано, что эрдистерон увеличивает активность Akt в культуре миоцитов C2C12 в степени необходимой для активации синтеза белка [21].

Третий возможный механизм действия. *Взаимодействие эрдистероидов с регуляторным участком рецептора для другой молекулы.* Подобным образом, эрдистерон оказывает нейромодулирующее действие на ГАМК рецептор корковых нейронов и нейронов медиального вестибулярного ядра крыс. Связывание одного эрдистерона с рецептором не вызывает фармакологического эффекта. За счет

данного механизма проявляется антиэпилептическая активность эрдистероидов [19]. Стоит также отметить, что указанный эффект эрдистероиды оказывают в довольно высоких дозах – 10-100 мкл, что, скорее всего, связано с их низкой способностью проникать через гематоэнцефалический барьер [9].

Помимо 3 перечисленных выше возможных механизмов действия эрдистероидов в организме млекопитающих, описаны еще некоторые.

Выявлено, что эрдистерон способен тормозить развитие катоксических программ адаптации и активировать развитие синтоксических программ, тем самым уменьшая продолжительность фазы альтерации неспецифической реакции организма (стресса) и увеличивая продолжительность фазы резистентности [3]. По мнению авторов, достигается это благодаря активации гипоталамических М-холинорецепторов и блокаде центральных α -адренорецепторов.

Включение катоксических программ адаптации запускается активацией центральных α -адренорецепторов, при действии стресса большой интенсивности и сопровождается стимуляцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Это приводит к выработке энергии, мобилизуемой адреналином, норадреналином и глюкокортикоидами через усиленный распад жиров и белков (гликолиз и глюконеогенез), с одновременной депрессией антиоксидантных, противосвертывающих механизмов крови и активацией иммуногенеза. Организм готовится к активному отражению, но при чрезмерной силе раздражителя это может привести даже к гибели организма. Вот почему одновременно с активацией катоксических программ запускаются и синтоксические программы адаптации, направленные на ослабление эффекта действия сильного раздражителя. Синтоксические программы адаптации запускаются активацией холинореактивных структур мозга за счет постоянно присутствующих в крови синтоксинов, активно вырабатываемых в репродуктивных органах (фертильные факторы).

Такой же эффект производят экзогенные синтоксины введенные в организм млекопитающих. Синтоксический эффект проявляется активацией антиоксидантных и противосвертывающих механизмов крови и явлениями иммуносупрессии [1].

Подтверждением данной гипотезы могут быть данные о том, что фитоэктистероиды оказывают заметно ослабленное анаболическое действие у животных с нарушенным гормональным фоном (кастрация, гипопизэктомия) [2].

В другом исследовании установлено, что эктистерон вызывает повышение активности ацетилхолинэстеразы (фермента, разрушающего ацетилхолин, который в свою очередь является агонистом M_2 -холинорецепторов) в мозге половозрелых и неполовозрелых крыс [10]. Предварительное ведение циклогексимида или актиномицина Д подавляет действие эктистерона на мозг (повышение активности ацетилхолинэстеразы).

Выводы

Эктистероиды – перспективная группа молекул, обладающих высокой и разносторонней биологической активностью. Несмотря на многочисленные исследования, механизм их действия остается не до конца изученным. Дальнейшее исследование эктистероидов позволит создать на их основе новые эффективные лекарственные препараты и оптимизировать их использование в медицине.

Литература

1. Селье Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. – М.: Прогресс, 1979. – 122 с.
2. Сыров В.Н. Сравнительное изучение анаболической активности фитоэктистероидов, их 6-кетоаналогов и неробола в организме экспериментальных животных: автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.Н. Сыров. – Ташкент, 1979. – 35 с.
3. Фитоэктистероиды (естественные синтоксины) как модуляторы адаптивных программ организма при действии раздражителей внешней и внутренней среды / В.Н. Морозов [и др.]. – Тула: Изд-во ТулГУ, 2006. – 54 с.
4. Электронный режим доступа: http://leuzea.ru/pdf/ecdysteroids_IVTN.pdf
5. 20-Hydroxyecdysone decreases weight and hyperglycemia in a diet-induced obesity mice model / P. Kizelsztejn [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrin. Metab.* – 2009. – Vol. 296(3).
6. Berridge M.J. The versatility and universality of calcium signaling / M.J. Berridge, P. Lipp, M.D. Bootman // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2000. – Vol. 1(1). – P. 11-21.
7. Brann D.W. Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones / D.W. Brann, L.B. Hendry, V.B. Mahesh // *J. Steroid. Bioch. Mol. Biol.* – 1995. – Vol. 52. – P. 113-133.
8. C27 Steroid Hormones ecdysterone and calcitriol activates phosphoinositide messenger cascade in its early membrane phase of action / A.V. Kotsyuruba [et al.] // *Ukr. Bioch. J.* – 1999. – Vol. 71(1). – P. 27-32.
9. Dinan L. Phytoecdysteroids: biological aspects / L. Dinan // *Phytochem.* – 2001. – Vol. 57. – P. 325-339.
10. Ecdysterone induces acetylcholinesterase in mammalian brain / R.E. Catalan [et al.] // *Comp. Bioch. Physiol. C.* – 1984. – Vol. 78(1). – P. 193-195.
11. Evans R.M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily / R.M. Evans // *Science* – 1988. – Vol. 240. – P. 889-895.
12. Evolution of pharmacologic specificity in the pregnane X receptor / S. Ekins [et al.] // *BMC Evol. Biol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 103.
13. G protein-coupled time travel: evolutionary aspects of GPCR research / H. Rompler [et al.] // *Mol. Interv.* – 2007. – Vol. 7. – P. 17-25.
14. Lafont R. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update / R. Lafont, L. Dinan // *J. Insect. Sci.* – 2003. – Vol. 3, №7. – P. 30.
15. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/ Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways / C. Rommel [et al.] // *Nature. Cell. Biol.* – 2001. – Vol. 3. – P. 1009-1013.
16. Molecular determinants of differential ligand sensitivities of insect ecdysteroid receptors / S.F. Wang [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2000. – Vol. 20. – P. 3870-3879.

17. Phytoecdysteroids and Vitamin D Analogues – Similarities in Structure and Mode of Action / N. Toth [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 17(18). – P. 1974-1994.
18. Phytoecdysteroids increase protein synthesis in skeletal muscle cells / J. Gorelick-Feldman [et al.] // *J. Agric. Food. Chem.* – 2008 – Vol. 28, №56 (10). – P. 3532-3537.
19. Potentiation of GABA-induced inhibition by 20-hydroxyecdysone, a neurosteroid, in cultured rat cortical neurons / S. Tsujiyama [et al.] // *Japan. J. Pharmacol.* – 1995. – Vol. 68. – P. 133-136.
20. Rapid, nongenomic responses to ecdysteroids and catecholamines mediated by a novel *Drosophila* G-protein-coupled receptor / D.P. Srivastava [et al.] // *J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 25(26). – P. 6145-6155.
21. Raskin I. Phytoecdysteroids – Understanding their Anabolic Activity. ABSTRACT OF THE DISSERTATION PhD / I. Raskin – New Brunswick, New Jersey, 2009.
22. Rhee S.G. Regulation of phosphoinositide-specific phospholipase C / S.G. Rhee // *Annu. Rev. Biochem.* – 2001. – Vol. 70. – P. 281-312.
23. Rozengurt E. Mitogenic signaling pathways induced by G protein-coupled receptors / E. Rozengurt // *J. Cell. Physiol.* – 2007. – Vol. 213(3). – P. 589-602.
24. Screening plants of European North-East Russia for ecdysteroids / V. Volodin [et al.] // *Bioch. System. Ecol.* – 2002. – Vol. 30. – Is. 6. – P. 525-578.
25. Structural requirements of ligands for the oxysterol liver X receptors LXRA and LXRbeta / B.A. Janowski [et al.] // *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 69. – P. 266-271.
26. The ecdysteroid inducible gene expression system: unexpected effects of muristerone A and ponasterone A on cytokine signalling in mammalian cells / S. Constantino [et al.] // *Eur. Cytok. Netw.* – 2001. – Vol. 12. – P. 365-367.
27. The pregnane X receptor: a promiscuous xenobiotic receptor that has diverged during evolution / S.A. Jones [et al.] // *Mol. Endocrin.* – 2000. – Vol. 14. – P. 27-39.
28. Tuganova A.V. The in vitro interaction of C27-steroids with the erythrocyte membranes depends on the sterol structure and concentration / A.V. Tuganova, A.V. Kotsyuruba // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 1996. – Vol. 1. – P. 129-135.

NEW CONCEPTS OF PHARMACODYNAMICS OF ECDYSTEROIDS

A.V. Shchulkin, E.N. Yakusheva, V.V. Davydov, V.N. Darmograi

In the review possible mechanisms of action of ecdysteroids in an organism of mammals are discussed: introduction in the lipid membrane; interaction with the special membrane receptors; interaction with the regulatory site of the receptors of the different molecules; activation nonspecial adaptation program.

Key words: *ecdysteroids, pharmacodynamics.*

Шулькин Алексей Владимирович – аспирант кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.
E-mail: alekseishulkin@rambler.ru.

Якушева Елена Николаевна – д.м.н., доц., зав. кафедрой фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.
Тел.: 8 (4912) 46-08-60 (раб.)
E-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru.