

УДК 615.324:593.96

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ГОЛОТУРИЙ**Солодкова О.А., Зенкина В.Г.***ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»**Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, e-mail: solodkova@bk.ru*

В последние годы все большее развитие получают исследования, направленные на изучение биологически активных веществ, выделенных из морских гидробионтов, создание на их основе фармакологических препаратов и биологически активных добавок к пище. Голотурии является источником биологически активных веществ – тритерпеновых гликозидов – голотоксинов. Эти соединения содержатся в незначительных количествах во всех органах и тканях животных, а в преднерестовый период их количественное содержание резко возрастает в гонадах самок. Являясь продуктами смешанного генеза, тритерпеновые гликозиды биосинтезируются как из углеводных, так и из тритерпеновых предшественников, что определяет сложность их химического строения. Тритерпеновые гликозиды зарекомендовали себя соединениями, обладающими широким спектром биологических эффектов, включая антигрибковую, противовоспалительную, гемолитическую, цитотоксическую и иммуномодулирующую активности.

Ключевые слова: морские гидробионты, биологически активные вещества, тритерпеновые гликозиды

BIOLOGICAL EFFECTS OF SEA CUCUMBERS**Solodkova O.A., Zenkina V.G.***Pacific state medical university, Vladivostok, e-mail: solodkova@bk.ru*

In recent years, increasingly developed research aimed at studying the biologically active substances isolated from marine aquatic, building on their basis of pharmacological agents and biologically active additives to food. Sea cucumber is a source of biologically active substances – triterpene glycosides – holotoxins. These compounds are present in small quantities in all organs and tissues of animals, and in the pre-spawning period, their quantitative content increases dramatically in the gonads of females. The products of mixed origin, triterpene glycosides biosynthesized from carbohydrate and triterpenoid precursors that determines the complexity of their chemical structure. triterpene glycosides proved to compounds possessing a wide spectrum of biological effects, including anti-fungal, anti-inflammatory, hemolytic, cytotoxic and immunomodulatory activity.

Keywords: marine aquatic, biologically active substances, triterpene glycosides

На фоне снижения эффективности традиционных методов терапии заболеваний, роста устойчивости патогенных микроорганизмов к имеющимся лекарственным средствам продолжает оставаться актуальной разработка новых лекарственных препаратов и пищевых продуктов с лечебными свойствами природного происхождения [2, 3, 5, 9, 10].

Главными биологическими источниками природных соединений долгое время являлись высшие наземные растения и почвенные микроорганизмы. Изучение морских организмов заметно расширило число известных природных соединений. Если общее число изученных природных соединений не превышает 120–150 тыс., то в морских организмах было открыто около 20 тыс. таких веществ [11].

В последние годы все большее развитие получают исследования, направленные на изучение биологически активных веществ (БАВ), выделенных из морских гидробионтов, создание на их основе фармакологических препаратов и биологически активных добавок к пище. Уникальность морских БАВ связана с условиями существования гидробионтов в водной среде,

характеризующейся высоким содержанием соли, низким освещением или полным его отсутствием, высоким давлением и необычно высокими или низкими температурами [1, 12].

Благодаря адаптации к разнообразным факторам окружающей среды ряд морских животных и растений выработал способность к продукции уникальных вторичных метаболитов, многие из которых обладают экстремально высокой фармакологической активностью. Источниками новых фармакологических соединений морского происхождения могут быть представители царства бактерий, цианобактерий и протистов, а также нескольких типов беспозвоночных: губки, мшанки, моллюски, иглокожие и подтипа оболочники [12].

Как природные источники морские гидробионты характеризуются не только разнообразием, высокой эффективностью содержащихся в них БАВ, отсутствием отрицательных свойств, но и широкой, успешно воспроизводимой сырьевой базой [1, 6]. Одним из основных преимуществ БАВ морских организмов является то, что иммунная система человека менее чувствительна к БАВ морских животных, а следовательно,

они медленнее разрушаются и дают более выраженный эффект [14, 17].

Перспективным источником в технологии производства БАД являются морские гидробионты: ракообразные, моллюски, иглокожие (голотурии, морские ежи и др.). Главное отличие иглокожих от многих наземных и водных организмов в существенном разнообразии метаболитов, среди которых большая часть представлена функциональными соединениями, такими как каротиноиды, фосфолипиды, сапонины, полиненасыщенные жирные кислоты класса омега три, омега шесть [6].

Наиболее изученными представителями голотурий являются трепанг дальневосточный и кукумария японская. В последние годы спрос на трепанга возрос в нашей стране и за рубежом благодаря его уникальным целебным свойствам. Эти свойства объясняются наличием в тканях трепанга три-терпеновых гликозидов (ТГ), свойственных растениям (женьшень, заманиха, элеутерококк). Именно поэтому трепанг получил свое название «морской женьшень». Голотурии являются единственными известными представителями животного царства, продуцирующими ТГ. Эти соединения содержатся в незначительных количествах во всех органах и тканях животных, а в преднерестовый период их содержание резко возрастает в гонадах самок [6, 9, 10, 11, 18].

Данные по активности и биологической роли гликозидов голотурий приводятся в ряде обзоров. От растительных ТГ они отличаются весьма существенно: и типом три-терпенового агликона, и моносакхаридным составом, и наличием сульфатных групп. Являясь продуктами смешанного генеза, ТГ биосинтезируются как из углеводных, так и из тритерпеновых предшественников, что определяет сложность их химического строения [4, 8]. Тритерпеновые гликозиды голотурий по структуре агликона являются производными ланостерина и относятся к голостановому ряду. Из разных видов голотурий к настоящему времени выделено более 70 гликозидов с установленной полной структурой. Агликонами этих веществ являются различные окисленные производные голостана, а углеводные цепи присоединены в положении С-3 этих агликонов. Гликозиды голотурий взаимодействуют с биологическими и модельными мембранами, содержащими природные стерины, с образованием гликозид-стериновых проводящих комплексов, резко увеличивающих мембранную проницаемость. Харак-

тер изменения мембранной проницаемости зависит от дозы гликозида в растворе и вида стерина в мембране. Интересно, что гликозиды голотурий наиболее эффективно действуют на мембраны, содержащие холестерин. Гликозиды из голотурий, обитающих в морях Тихого, Индийского и Атлантического океанов, обладают высокой мембранолитической и цитотоксической активностью [8, 13, 15, 16].

Тритерпеновый гликозид кукумариозид А2-2, выделенный из дальневосточной голотурии *Cucumaria japonica*, в наномолярных концентрациях обладает иммуностимулирующим действием, которое выражается, главным образом, в активации клеточного звена иммунитета: усиливается адгезия, распластывание и подвижность макрофагов, фагоцитоз и формирование активных форм кислорода, увеличивается скорость пролиферации лимфоцитов, количество антителобразующих клеток селезенки, индуцируется синтез некоторых цитокинов. Кукумариозид А2-2 в субтоксических иммуномодулирующих концентрациях способен активировать резкий и обратимый вход ионов кальция в клетки из внеклеточного пространства. Мембранными мишенями действия гликозида являются пуриновые рецепторы P2X семейства (P2X1 и P2X4 типы), обеспечивающие Ca^{2+} -проводимость в мембране макрофагов. Иммуномодулирующий эффект обусловлен действием кукумариозид А2-2 в качестве аллостерического модулятора пуриновых рецепторов, связываясь с ними, усиливая ответ клеток на АТФ [7, 17].

Кукумариозиды из *Cucumaria japonica* оказывают выраженное адьювантное действие, вызывая увеличение количества антител при действии корпускулярной ключевой вакцины, а также усиливают защитное действие вакцины. Кукумариозид оказывает неспецифическое протективное антибактериальное действие по отношению к целому ряду грамотрицательных микроорганизмов. Кукумариозид из *Cucumaria japonica* также обладает противовирусным действием, которое обусловлено двумя механизмами. Во-первых, усиливается взаимодействие Т- и В-лимфоцитов и гуморальный иммунный ответ у животных, стимулируется пролиферация стволовых клеток, а также противовирусная защита на стадии взаимодействия вирус – клетка [14].

Показано, что сырой кукумариозид из *Cucumaria japonica* в минимальной иммуномодулирующей дозе (0,05 мкг/кг) вызы-

вает задержку митоза клеток печени крысы на 28 и 32 ч после гепатэктомии, а на 40 и 44 ч – компенсаторное усиление митотической активности. Авторы полагают, что ТГ можно рассматривать как вещества, способные регулировать пролиферативные процессы [17].

Было показано, что голотоксин А1 в дозах 1,25 и 2,50 мг/кг при четырехкратном внутривенном введении мышам ингибирует рост солидной формы опухоли Эрлиха и саркомы-37 на 37–65% и 13–53% соответственно. Активные гликозиды реализуют свое противоопухолевое действие двумя путями: прямым ингибированием пролиферации опухолевых клеток и опосредованно – через иммунобиологические реакции организма. В связи с этим гликозиды и их синтетические аналоги, сочетающие прямое цитотоксическое действие на опухолевые клетки с иммуномодулирующей активностью, представляют большой интерес как потенциальные противоопухолевые агенты [6].

Голотоксин А₁, выделенный из дальневосточного трепанга, ингибирует мейотическое созревание ооцитов трепанга и транспорт ионов Са через плазматические мембраны, что обусловлено увеличением микровязкости липидного бислоя мембран [18].

Сумма кукумариозидов из *Cucumaria japonica* оказывают сильное мембранотропное действие на любые клеточные и модельные мембраны, содержащие Δ^5 -стерины. Эти соединения проявляют ихтиотоксическое действие, имеют антифунгальные и цитотоксические свойства в основе которых лежит образование комплекса с холестерином мембран клеток-мишеней, образование одиночных ионных каналов и более крупных пор, а также нарушение мембранной проницаемости [8].

Общее свойство ТГ заключено в гемолитической активности за счет способности взаимодействовать с эритроцитами, в результате чего клеточная мембрана становится проницаемой для гемоглобина. Анализ данных литературы свидетельствует о том, что ТГ являются высокотоксичными при непосредственном воздействии на красные кровяные клетки (эритроциты), например, при внутривенном введении. Так, голотурин А из *Holothuria mexicana* применяется в медицинской практике в тех случаях, когда необходимо провести быстрый и полный гемолиз. При пероральном введении токсичность тритерпеновых гликозидов значи-

тельно снижается, а небольшое количество не может в этом случае нанести какой-либо вред [13, 14].

Кукумариозид, выделенный из голотурии *Cucumaria japonica*, при длительном применении во время беременности не обладает тератогенностью, а также не оказывает влияние на постнатальное развитие потомства [3, 18].

Проведены экспериментальные исследования действия экстракта (содержащий ТГ не менее 550 мкг/см³) и гидролизата (содержащий ТГ не менее 100 мкг/см³) из дальневосточной голотурии *Cucumaria japonica* на морфофункциональное состояние надпочечников при остром и хроническом холодовом стрессе. При однократном холодом воздействием у крыс, получавших экстракт (ЭКЯ) и гидролизат (ГКЯ) из кукумари японской, отсутствует гипертрофия клеток коры надпочечников и сохраняется их высокая митотическая активность, при этом концентрация кортизола в крови достоверно ниже, по сравнению со стресс-контролем. Согласно литературным данным, ТГ обладают кортикостероидподобным действием. Предполагают, что предварительное получение животными данных пищевых добавок, содержащих ТГ, сопровождается уменьшением степени активации гипоталамо-адренальной системы, характерной для стресса, уменьшением выхода в кровь глюкокортикоидов. Отсутствие выраженного функционального напряжения при остром стрессе также подтверждалось меньшей степенью делипоидизации коркового вещества, ширина липидного слоя коры надпочечников достоверно выше, чем в группе стресс-контрольных крыс [9]. При многократных стрессовых воздействиях крыс, получавших ЭКЯ и ГКЯ, сохраняется гипертрофия ядер и цитоплазмы адреноренальных клеток коры надпочечников, содержание липидов в коре надпочечников в эксперименте нормализуется и не отличается от интактных крыс. Установлено, что развитие стрессорной реакции после предварительного приема БАВ из морских гидробионтов, содержащих тритерпеновые гликозиды, сопровождалось менее выраженными колебаниями основных количественных параметров функциональных элементов коры надпочечника, что способствовало стабилизации уровня кортизола в крови, ограничением стрессовой реакции в стадии тревоги, формированию более выраженной стадии резистентности и задержкой наступления стадии истощения общего адаптационного

синдрома. Сохраняя резервные возможности секреторных клеток и, очевидно, компонентов микроциркуляторного русла ТГ из кукумарии японской, повышают устойчивость коры надпочечника к действию экстремальных факторов и оказывают адаптогенный эффект на уровне организма [10].

Проведено экспериментальное исследование влияния ЭКЯ и ГКЯ на эстральный цикл животных. Выявлено, что пищевые добавки не вызывают каких-либо отклонений в эстральном цикле, его общей продолжительности и длительности отдельных стадий, а также не оказывают отрицательного влияния на качественный состав влагалищных мазков. У половозрелых экспериментальных крыс с установившимися эстральными циклами (получавших ЭКЯ и ГКЯ с 3,5 до 5,5 месяцев) обнаружены достоверные отличия в соотношении количества некоторых структурных компонентов органа. Число «молодых» атретических фолликулов сократилось на 38,8–51,4% в обеих экспериментальных группах как в эструсе, так и в диэструсе по сравнению с интактными самками. Автор считает, что снижение количества атретизирующихся фолликулов в данных экспериментальных группах связано с блокадой апоптогенного фермента, активизирующегося возрастающим уровнем кальция и/или магния, в связи с изменением проницаемости биологических мембран для ионов Ca^{2+} . Следовательно, происходит более медленный «расход» генеративных элементов. Несколько иная картина наблюдается в количественном составе структурных элементов в яичниках крыс, получавших пищевые добавки в неполовозрелом возрасте. Результаты исследований выявили достоверное уменьшение количества атретизирующихся фолликулов в диэструсе и увеличение растущих фолликулов в обеих экспериментальных группах в стадию эструса. Факт резкого увеличения растущих везикулярных фолликулов может быть объяснен переходом фолликулов предыдущих классов в последующие, следовательно, происходит естественный, свойственный эстральному циклу процесс. Однако не исключено, что определенная часть антральных фолликулов является фолликулами, «возвращенными» из состояния ранней атрезии. Следовательно, происходит закономерный процесс: при уменьшении одних стероидпродуцирующих структур увеличивается количество других. Применение пищевых добавок с ТГ у андрогенизированных крыс привело к чрезмерной стеро-

идоподобной стимуляции фолликулогенеза с образованием фолликулярных кист и кист желтого тела [18]. Таким образом, лечебно-профилактические добавки, содержащие ТГ, обладают целенаправленным действием на морфологические структуры яичников крыс, главным образом, на атретизирующиеся фолликулы [3].

Заключение

В последние десятилетия происходит активное освоение морских ресурсов в качестве источников новых биологически активных веществ. Разнообразие морских природных соединений достаточно высоко. Причем каждый год число известных морских природных соединений увеличивается. Биохимическое разнообразие является следствием высокого биологического разнообразия в морях и океанах.

Результаты многочисленных исследований убеждают, что соединения, выделенные из морских гидробионтов, обладают широким спектром биологических эффектов, включая антикоагулянтную, иммуномодулирующую, антиопухолевую, антибактериальную, антигрибковую и противовирусную, противовоспалительную, антиоксидантную, иммуномодулирующую и стресс-протективную активности, и рекомендуются в качестве лекарств и биопрепаратов для комплексной профилактики и вспомогательного лечения широкого круга заболеваний.

Список литературы

1. Беседнова Н.Н., Запорожец Т.С. Модификаторы биологического ответа организма из морских гидробионтов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2006. – № 3. – С. 15–18.
2. Запорожец Т.С., Ермакова С.П., Звягинцева Т.Н., Беседнова Н.Н. Противоопухолевые эффекты сульфатированных полисахаридов из морских водорослей // Успехи современной биологии. – 2013. – Т. 133, № 4. – С. 378–391.
3. Зенкина В.Г., Каредина В.С., Солодкова О.А., Юферева А.Л. Яичники крыс под воздействием тритерпеновых гликозидов из кукумарии японской // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 2. – С. 53–54.
4. Кривошапко О.Н., Попов А.М., Артюков А.А., Костецкий Э.Я. Особенности корректирующего действия полярных липидов и биоантиоксидантов из морских гидробионтов при нарушениях липидного и углеводного обмена // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58, № 2. – С. 189–198.
5. Кузнецова Т.А., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. и др. Исследование пребиотического потенциала биологически активных веществ из морских гидробионтов и разработка новых продуктов функционального питания // Вестник ДВО РАН. – 2011. – № 2. – С. 147–150.
6. Перцова А.Д. Биологически активные вещества дальневосточного трепанга // Научные труды Дальневосточного государственного технического рыбохозяйственного университета. – 2013. – Т. 30, № 9. – С. 137–139.
7. Пислягин Е.А., Юрченко Е.А., Горпенченко Т.Ю. и др. Взаимодействие тритерпенового гликозида кукумарии гликозида А2-2 с мембранными рецепторами макрофагов мыши //

Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 12. – С. 116–120.

8. Попов А.М. Противоопухолевая активность вторичных метаболитов морских гидробионтов // Биофармацевтический журнал. – 2012. – Т. 4, № 4. – С. 3–26.

9. Солодкова О.А., Зенкина В.Г. Использование гидролизата кукумарии японской в профилактике нарушений, связанных со стрессом // Современные наукоемкие технологии. – 2009. – № 9. – С. 9–13.

10. Солодкова О.А., Зенкина В.Г., Каредина В.С. Влияние экстракта кукумарии японской на структуру надпочечников белых крыс при холодовом стрессе // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8. – С. 419–423.

11. Стоник В.А. Морские природные соединения. Путь к новым лекарственным препаратам // Acta naturae. – 2009. – № 2. – С. 16–27.

12. Хотимченко Ю.С. Биологически активные вещества из морских гидробионтов – источник новых фармацевтических субстанций и лекарств // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010. – № 2. – С. 5–9.

13. Aminin D.L., Zaporozhets T.S., Andryjashchenko P.V. et al. Radioprotective properties of cumaside, a complex of triterpene glycosides from the sea cucumber *Cucumaria japonica* and cholesterol // Natural Product Communications. – 2011. – Vol. 6, № 5. – P. 587–592.

14. Aminin D.L., Gorpenchenko T.Y., Bulgakov V.P. et al. Triterpene glycoside cucumarioside A2-2 from sea cucumber stimulates mouse immune cell adhesion, spreading, and motility // Journal of Medicinal Food. – 2011. – Vol. 14, № 6. – P. 594–600.

15. Antonov A.S., Avilov S.A., Kalinovsky A.I. et al. Triterpene glycosides from Antarctic sea cucumbers III. Structures of liouvillosides A4 and A5, two minor disulphated tetraosides containing 3-O-methylquinovose as terminal monosaccharide units from the sea cucumber *Staurocucumis liouvillei* (Vaney) // Natural Product Research. – 2011. – Vol. 25, № 14. – P. 1324–1333.

16. Kalinin V.I., Ivanchina N.V., Krasokhin V.B. et al. Glycosides from marine sponges (Porifera, Demospongiae): structures, taxonomical distribution, biological activities and biological roles // Marine Drugs. – 2012. – Vol. 10, № 8. – P. 1671–1710.

17. Pislyagin E.A., Gladkikh R.V., Kapustina I.I. et al. Interaction of holothurian triterpene glycoside with biomembranes of mouse immune cells // International Immunopharmacology. – 2012. – Vol. 14, № 1. – P. 1–8.

18. Zenkina V.G., Karedina V.S., Solodkova O.A., Yufereva A.L. The Morphological particularities of gonad of androgenless rats // European journal of natural history. – 2008. – № 4. – P. 53–54.