

УДК 591

## СТЕРОЛЫ И ИХ ТРАНСПОРТ В РАЗВИТИИ ЖИВОТНЫХ

© 2008 г. А. П. Перевозчиков

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН

197376 Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

Санкт-Петербургский государственный университет

199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

E-mail: [ipp@iem.sp.ru](mailto:ipp@iem.sp.ru)

Поступила в редакцию 02.02.07 г.

Окончательный вариант получен 08.10.07 г.

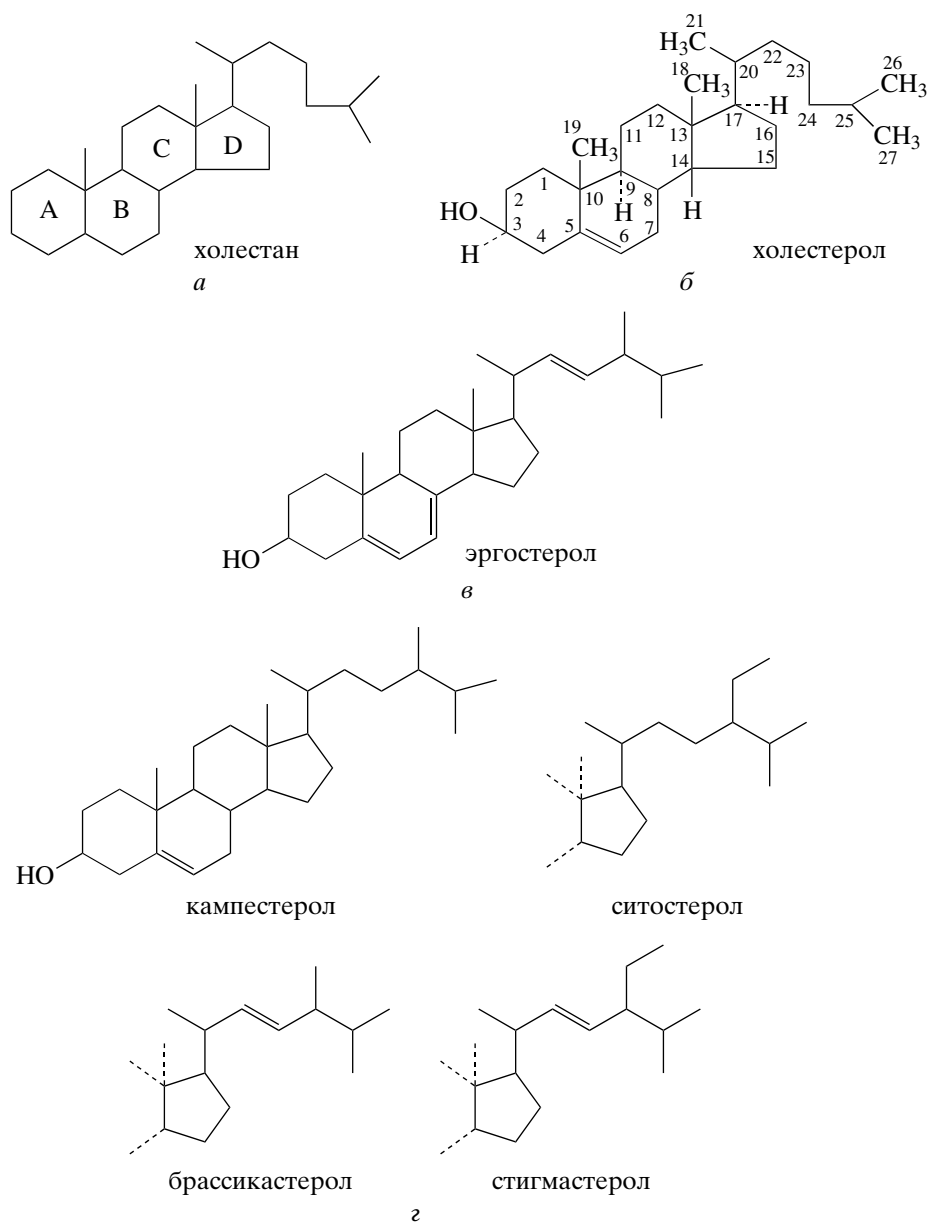
Представлен сравнительный анализ содержания различных стеролов в составе клеток беспозвоночных и позвоночных животных, их происхождения (эндогенные, пищевые источники) и значения для прохождения жизненного цикла. На основании приводимого материала делается предположение об изначально сигнальной роли стеролов (у всех групп многоклеточных животных) в поддержании жизнедеятельности, а затем уже (у позвоночных) об обязательном включении определенных стеролов в качестве пластического компонента в состав клеточных мембран.

*Ключевые слова:* стеролы, холестерин, транспорт стеролов, стероидные гормоны, рецепторы стеролов, аполипофорины, аполипопротеины, развитие беспозвоночных и позвоночных животных.

Благодаря успехам клеточной биологии концепция передачи сигналов между клетками (сигналинг) занимает одно из главных мест и в биологии развития, так как служит для объяснения молекулярных основ гаметогенеза, оплодотворения, раннего развития, морфогенеза и роста зародышей (Gilbert, 2003). Она используется для описания взаимосвязи между процессами клеточной дифференцировки и пролиферации, эмбриональной индукции, клеточных движений и межклеточных взаимодействий, апоптоза и клеточного стресса (Leyton, Quest, 2004). Наряду с действием на клетку паракринных факторов и гормонов белкового происхождения в передаче сигналов, направленных внутрь клеток, могут принимать участие и низкомолекулярные вещества различной химической природы, например ретиноевая кислота и стероиды (Krauss, 2003). Недавно исследователи обратили внимание на липиды, среди которых были идентифицированы молекулы, участвующие в передаче сигналов между клетками (церамиды) (Ceramide ... , 2006). В настоящем обзоре предпринята попытка проанализировать роль стеролов и систем их транспорта в межклеточном сигналинге в ходе развития животных, используя сравнительный подход к оценке вклада стеролов в процессы передачи сигналов у животных, находящихся на разных ступенях эволюционной лестницы. Из-за обилия сведений о функциях стероидных гормонов (специфических полиоксистеролов) в жизнедеятельности животных здесь будут лишь частично затронуты вопросы, необходимые для освещения роли собственно стеролов.

Липиды – энергетически и структурно важные вещества, составляющие значительную часть клеточного материала эукариот (Климов, Никольчева, 1999). В качестве липидов у животных фигурируют глицериды – эфиры жирных кислот и глицерина (ди- и триглицериды), сфингозиды – эфиры жирных кислот и сфингозина, фосфолипиды (главным образом фосфатидилхолин, фосфатидилсерин, фосфоэтаноламин, сфингомиелин, фосфоинозитиды), гликолипиды (цереброзиды, ганглиозиды), стеролы и, по некоторым представлениям, жирные кислоты. Часть липидов является пластическим компонентом клеток и входит в состав различных мембран (сфинголипиды, фосфолипиды и стеролы); другие являются для клеток одними из главных энергетических субстратов (глицериды и жирные кислоты); третьи могут рассматриваться как внутриклеточные сигнальные молекулы – вторичные мессенджеры (фосфоинозитиды). Липиды в больших количествах требуются для образования новых клеток в случаях их массовой пролиферации (например, в процессе морфогенеза) или для обеспечения усиленных физических нагрузок клеток и их производных (мышцы). Для осуществления программ устойчивого (воспроизводимого) развития многоклеточного животного из яйца липиды запасаются в ооците (часто совместно с желточным белком в ходе вителлогенеза) (Rothchild, 2003).

В связи со сказанным выше, липиды должны исправно поставляться к местам их использования или хранения, кроме того, они могут синтезироваться и *in situ*. Итак, источников появления ли-



**Рис. 1.** Химическое строение стеролов и их предшественника: а – молекула холестерана; б – холестерол/холестерин (дана стандартная нумерация позиций атомов углерода в молекуле); в – эргостерол – основной стерол многих грибов; г – различные стеролы растений (показаны в основном различия в боковых цепях – радикалах).

пидов в клетках три: синтез собственных липидных молекул, транспорт их из мест повышенного синтеза, транспорт пищевых липидов.

В последнее время стали различать пластическую (структурную), энергетическую и информационную (сигнальную) роли липидов. Из всех представителей широкого класса липидов (фосфолипиды, гликолипиды, жирные кислоты и их эфиры с глицерином – глицериды или со сфингозином – сфингозиды, а также стеролы) мы остановимся на структурной и сигнальной роли стеролов в жизнедеятельности животных. Как уже говорилось, будут затронуты вопросы участия стеролов в развитии, а также эволюционного из-

менения в спектре и роли стеролов и их производных у многоклеточных животных в широком ряду от простейших беспозвоночных до высших позвоночных.

### СТЕРОЛЫ, ИХ СВОЙСТВА И ВСТРЕЧАЕМОСТЬ В ПРИРОДЕ

*Химическое строение.* Стеролы (или стерины в немецкой терминологии) – ненасыщенные полициклические спирты, в основе своей состоящие из циклопентанпергидрофенантренового ядра и бокового радикала – холестерана (рис. 1, а), 3-й атом углерода которого соединен с гидроксильной группой (холе-

станол); кроме того, в состав молекулы стерола входят различные радикалы (боковые цепи). Наиболее известным представителем стеролов является холестерол (холестерин – от немецк. “cholesterin”), содержащий протяженную боковую цепь, которая присоединяется к 17-му атому циклопентапергидрофенантрена, несущий гидроксильную группу в третьем положении и в целом насчитывающий 27 атомов углерода –  $C_{27}$  (рис. 1, б). Другие стеролы могут отличаться от холестерола (ХС) протяженностью основного бокового радикала, расположением и характером дополнительных радикалов, положением и числом двойных связей в кольцах ядра (рис. 1, в, г). Предшественниками стеролов на начальных этапах цепочки реакций их биосинтеза (всего более 20 этапов) являются линейные углеводородные соединения изопренового ряда (содержат ненасыщенные связи), которые циклизуются и принимают окончательный вид с помощью специфических ферментов. Первоначальным субстратом синтеза ХС (как и ряда других изопреноидов) является ацетил-коэнзим А, а лимитирующим синтез ферментом – фермент начального этапа синтеза –  $\beta$ -гидрокси-метилглутарил-коэнзим А-редуктаза (ГМГ-КоА-редуктаза). Стерола могут окисляться в живых организмах до окистеролов и других кислородосодержащих вариантов – стероидов. Многие специалисты называют стероидами всю многочисленную группу соединений, содержащих в виде ядра молекулу циклопентапергидрофенантрена, что отличает их от других терпеноидов (Климов, Никульчева, 1999; Березов, Коровкин, 2004). Мы для удобства изложения будем придерживаться данного нами определения стеролов и отличать их от других стероидов.

*Структурные свойства холестерола.* Структурные (пластические) свойства ХС из всех стеролов изучены наиболее хорошо. Он составляет около 20% всех липидов плазматической мембраны клеток млекопитающих. Примерно в тех же соотношениях с другими липидами он присутствует в составе клеточных мембран других позвоночных. У всех позвоночных он также входит в состав внутриклеточных мембран. ХС влияет на биофизические параметры мембраны – ее текучесть, от него зависит проницаемость мембраны для потоков различных ионов. ХС является главным (и, по-видимому, единственным) представителем стеролов у всех позвоночных животных и синтезируется, насколько известно, всеми типами их клеток. Кроме того, ХС является субстратом для синтеза желчных кислот, витамина D и стероидных гормонов клетками определенных типов. Однажды синтезировавшись, молекулы ХС практически не разрушаются в организме до составляющих их линейных изопреновых структур. Первичные продукты катаболизма ХС – 7, 12-гидрок-

сихолестеролы (7, 12-ОН-ХС). Эти гидроксистеролы (не содержащие двойных связей в циклическом ядре) образуются в печени и составляют основу для формирования первичных желчных кислот ( $C_{24}$ -ООН): холевой (3, 7, 12-ОН) и хенодесоксихолевой (3, 7-ОН). Первичные желчные кислоты у млекопитающих конъюгируют с таурином и глицином, образуя тауро- и гликохолаты. Через желчные протоки и желчный пузырь конъюгаты первичных желчных кислот попадают в кишечник, где частично диссоциируют. “Освобожденные” первичные холевые кислоты преобразуются (дегидроксилируются по 7-му положению углерода) с помощью кишечных бактерий во вторичные желчные кислоты: дезоксихолевую и литохолевую, которые выводятся из организма в составе фекальных масс совместно со свободным ХС и с еще одним его производным, созданным при помощи кишечных бактерий и восстановленным ХС – копростанолом (Климов, Никульчева, 1999).

*Распространенность стеролов у различных организмов.* У бактерий, как известно, ни ХС, ни другие стеролы не входят в состав клеточных мембран. В то же время представители различных родов бактерий, например кококкобациллы (*Rhodococcus*), актиномицеты (*Mycobacterium*) и многие другие, способны гидролизовать стероидные кольца, таким образом полностью расщепляя стеролы, попавшие в бактериальный организм (Gargile, McChesney, 1974; Smith et al., 1993; Van der Geize et al., 2000).

Некоторые простейшие представители эукариот (одноклеточные организмы) уже способны синтезировать и использовать стеролы для внутренних нужд. Так, трипаносомы (паразитирующие на животных и растениях) в отсутствие поставок стеролов с пищей синтезируют собственный стерол – эргостерол *Trypanosoma brucei* (Coppens, Courtoy, 2000) и *Phytomonas* sp. (Nakamura et al., 1999). Эргостерол синтезируется и клетками дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Shobayashi et al., 2005). Многоклеточные грибы в качестве главного стерола (фунгостерола) клеточных мембран также имеют эргостерол (Zhang et al., 2002) (рис. 1, в).

Многие высшие растения содержат в клеточных мембранах сразу несколько специфичных только для растений типов стеролов (фитостеролов) в следующем примерном соотношении:  $\beta$ -ситостерол ~70%, стигмастерол ~20%, кампестерол ~5% (некоторые растения содержат брассикастерол) (рис. 1, г) (Christie, 2005). Основным стеролом красных водорослей, по-видимому, является ХС.

У различных беспозвоночных животных в клетках могут содержаться целые наборы разнообразных стеролов, причем ХС часто является их минорной составляющей (Kanazawa, 2001). Стерола найдены у различных беспозвоночных Metazoa, начиная с губок и кишечнополостных. Так, для губок в числе прочих (особи отдельных видов могут содержать более ста видов различ-

ных стеролов) характерны станол и аплистерол. У кишечнополостных главными стеролами являются: для Scyphozoa – ХС и 22-дегидро-ХС, для Anthozoa – 24-метил-ХС и 24-метил-ХС (у кишечнополостных также идентифицирован горгостерол). Клетки ряда высших ракообразных (креветки, лангусты) обогащены ХС, хотя у них и особенно у низших представителей этого класса в значительной мере присутствуют и другие типы стеролов. Некоторые моллюски (брюхоногие, головоногие) на фоне широкого спектра стеролов также обогащены ХС, у остальных представителей этих, а также других классов моллюсков содержание разных стеролов может варьировать. Вместе с тем следует отметить, что основной источник происхождения стеролов как у тех, так и у других беспозвоночных, по-видимому, пищевой.

У различных иглокожих в организме содержится до нескольких десятков стеролов (существуют видоспецифичные спектры стеролов). Содержание спектра стеролов у морской звезды *Acanthaster planci*, определенное с помощью газовой-жидкостной хроматографии (1,5% OV-17), представлено ниже (Sato et al., 1980; Kanazawa, 2001).

Стерол ацетат	Состав, %
5 $\alpha$ -Холестан-3 $\beta$ -ол	0.1
Холестерол (холестерин)	следы
5 $\alpha$ -Холест-7-ен-3 $\beta$ -ол	6.2
(22E) 5 $\alpha$ -Эргоста-7,22-диен-3 $\beta$ -ол	8.7
Эргост-5-ен-3 $\beta$ -ол	2.9
5 $\alpha$ -Эргост-7-ен-3 $\beta$ -ол	70.0
5 $\alpha$ -Эргоста-7,24(28)-диен-3 $\beta$ -ол	1.4
23,24-Диметил-5- $\alpha$ -холеста-7,22-диен-3 $\beta$ -ол	0.9
23-Деметилакантастерол	0.6
Горгостанол	0.3
Горгостерол	следы
Акантастерол	8.9

В количественном отношении доля стеролов в составе липидов у беспозвоночных сильно уступает таковой липидов у позвоночных (их меньше приблизительно в двадцать раз). Хотя в настоящее время все еще трудно найти полноценные данные о содержании различных стеролов в клетках беспозвоночных, для отдельных организмов эти сведения были опубликованы. Так, у почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans* в большинстве клеток стеролы, по-видимому, вовсе отсутствуют, а в небольшом числе клеточных типов присутствуют лишь в малых количествах (главным образом С4 $\alpha$ -метил-стеролы) (Merris et al., 2004).

Несмотря на то что четкой тенденции в соотношении тех или иных стеролов в сравнительном ряду беспозвоночных (первично- и вторичноротых) выявить не удается, все же можно отметить,

что у линяющих первичноротых организмов (Ecdysozoa) число видов стеролов, найденных в клетках, явно меньше (Feldlaufer et al., 2005; Maurer et al., 2005), чем у губок, радиально-симметричных, первичноротых группы Lophotrochozoa и у низших вторичноротых (иглокожих), в организмах которых найдены широкие спектры стеролов (Kanazawa, 2001; Ponamarenko et al., 2001). Беспозвоночные хордовые (оболочники) чем-то сходны по набору стеролов с иглокожими (содержат до двадцати различных стеролов), хотя преобладающим стеролом (более 44%) является ХС (Schubina et al., 1982; Еляков, Стоник, 1988; Slantchev et al., 2002).

Отдельный вопрос – происхождение стеролов в организме беспозвоночных животных. Стероиды, как уже отмечалось, не только поставляются в организм с пищей, но у ряда животных могут также синтезироваться клетками. Вместе с тем известно, что многие ракообразные (декаподы – креветки, лангусты, омары) не способны синтезировать стеролы (Kanazawa, 2001). Напротив, среди моллюсков к синтезу стеролов, по-видимому, способны брюхоногие и головоногие, а также иглокожие при отсутствии стеролов в пище. Приводятся самые противоречивые данные по поводу синтеза стеролов у разных групп беспозвоночных. Ниже указаны результаты синтеза стеролов *de novo* у морских беспозвоночных (Goad, 1981; Kanazawa, 2001), полученные при инкубации морских животных с радиоактивными ацетатом или мевалонатом.

Тип	Класс	Число сообщений о синтезе стеролов с результатом:	
		положительным	отрицательным
Porifera		6	5
Cnidaria	Anthozoa	5	7
	Scyphozoa	–	1
Nemertini		2	–
	Annelida	7	–
Arthropoda	Crustacea	–	16
	Mollusca	3	–
Mollusca	Gastropoda	27	2
	Bivalvia	6	11
	Cephalopoda	2	4
	Scaphopoda	–	1
Echinodermata	Crinoidea	1	–
	Asteroidea	8	–
	Holothurioidea	7	1
	Echinoidea	7	1
Urochordata	Ophiuroidea	3	–
		4	–

На модельных объектах биологии развития – почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans* и пло-

довой мушке *Drosophila melanogaster* (беспозвоночные группы Ecdysozoa) – получены четкие данные об отсутствии синтеза собственных стеролов (Kurzchalia, Ward, 2003; Christie 2005; Belles et al., 2005). Тем не менее для длительного поддержания червей *C. elegans* на субстрате в лабораторных условиях требуется присутствие хотя бы следовых количеств стеролов, которые могут быть получены с пищей из остатков дрожжей, растений или животных (Kurzchalia, Ward, 2003; Merris et al., 2004). Замена подложки для выращивания нематод с агара на агарозу, не содержащую пищевых примесей, привела к созданию полностью контролируемых условий выращивания *C. elegans*. Было установлено, что в отсутствие стеролов в среде первое поколение червей развивается из яиц до половозрелых особей (Kurzchalia, Ward, 2003). Второе поколение, однако, останавливается в росте на ранней личиночной стадии, и дальнейшее развитие и размножение этих животных прекращается. Добавление на этой стадии в среду для поддержания червей следовых количеств стерола (ХС) приводит к возобновлению развития и к дальнейшему размножению нематоды. Другие авторы сообщают, что присутствие пищевых стеролов необходимо для нормального развития и первого поколения животных, поскольку их отсутствие снижает подвижность животных, вызывает саркопению и уменьшает продолжительность жизни (Merris et al., 2004). Эксперименты с использованием флуоресцентно-меченного аналога ХС – дигидроэргостерола показали, что этот стерол включается в мембраны небольшого числа типов клеток: по-видимому, в состав рафтов (микродоменов плазматических мембран; см. ниже) апикальной поверхности поляризованных клеток эпителия кишечника, экскреторных железистых клеток глотки, сенсорных амфид, нервного кольца, а также в мембраны спермиев и ооцитов. Добавление энантиомера природного ХС в среду для выращивания нематод без стеролов может привести ко включению последнего в состав рафтов, но не снимает блока в развитии нематод, что свидетельствует о других жизненно важных функциях стеролов в этих организмах (Crowder et al., 2001; Kurzchalia, Ward, 2003). В специальных исследованиях было показано, что рафты мембран клеток *C. elegans* могут формироваться и в отсутствие стеролов (Scheel et al., 1999). Добавление стерола к формирующимся в модельных экспериментах мембранам способствует образованию более четко очерченных границ структур рафтов и меняет их планарную подвижность (Kurzchalia, Ward, 2003). Все обнаруживаемые в клетках *C. elegans* стеролы (пять видов; главный из них – С4 $\alpha$ -метил-стерол) представляют собой модифицированные пищевые стеролы. Более того, нематода принципиально не в состоянии изначально синтезировать собствен-

ные стеролы, поскольку у нее отсутствует ряд генов, кодирующих некоторые последовательные этапы в полной цепочке реакций синтеза стеролов (Kurzchalia, Ward, 2003). Таким образом, несмотря на то что стеролы (включая ХС) у нематоды играют малозаметную роль в построении клеточных мембран, они важны для развития и размножения червя, что, по-видимому, связано с другими функциями стеролов.

У насекомых, включая дрозофилу, в организм поступают стеролы пищевого происхождения (фито- и фунгостеролы), а собственные стеролы являются продуктами их модификации (Rietveld et al., 1999; Christie, 2005; Belles et al., 2005). Показано, что ХС (C<sub>27</sub>) у насекомых может образовываться dealкилированием поступающих с пищей более высокомолекулярных фито- или фунгостеролов (C<sub>28</sub>, C<sub>29</sub>), тем не менее в состав рафтов клеточных мембран дрозофилы фитостеролы или эргостерол входят в неизменном виде. ХС у насекомых является минорным стеролом (менее 3% всех стеролов) (Thummel, Chory, 2002); в процентном отношении содержание суммарных стеролов в мембранах дрозофилы по отношению к другим липидам сравнимо с содержанием ХС в мембранах клеток позвоночных (Rietveld et al., 1999). В жизненном цикле плодовой мушки стеролы играют исключительно важную роль, поскольку из ХС, полученного путем dealкилирования пищевых стеролов, в клетках проторакальной железы образуется гормон метаморфоза и линьки экдизон, а затем из экдизона в периферических клетках формируется его функционально активный дериват – 20-гидроксиэкдизон. В связи с этим раннее развитие дрозофилы (и многих других насекомых, использующих экдизон в качестве гормона метаморфоза и линьки) зависит от пищевых стеролов, а их отсутствие или непригодность для дальнейшего синтеза из них экдизона целиком определяют судьбу насекомого (Савицкий и др., 1985; Бондаренко и др., 1989; Лутова и др., 1992; Belles et al., 2005).

Поскольку стеролы в организме животных не расщепляются (за исключением случая синтеза в коже млекопитающих витамина D<sub>3</sub>, при котором происходит одиночный разрыв во втором кольце ХС), а выводятся в окисленной форме с сохранением циклической основы, нет смысла говорить об их использовании в качестве энергетического субстрата. Поэтому следует рассмотреть иную интересующую нас функцию – участие стеролов в процессах передачи сигналов в клетки (сигналинг).

#### УЧАСТИЕ СТЕРОЛОВ В ПЕРЕДАЧЕ СИГНАЛОВ В КЛЕТКИ

*Роль стеролов в формировании и функционировании рафтов.* Результаты многочисленных исследований свидетельствуют, что у животных



Рис. 2. Участок клеточной мембраны позвоночного животного (млекопитающего) (по: Zurzolo et al., 2003).

собственно стеролы (в частности ХС) вряд ли облигатно привлекаются для участия в передаче сигналов внутрь клеток. В целом возможно два варианта их участия в сигналинге: опосредованный (на уровне плазматической мембраны в качестве субстратов для синтеза сигнальных молекул) и непосредственный (в качестве лигандов специфических рецепторов).

К настоящему моменту известно, что мембраны эукариотических клеток не представляются чем-то однородным (вроде жидкокристаллической липидно-белковой структуры), а имеют сложное микродоменное строение. Определенные участки клеточных (и внутриклеточных) мембран – рафты (rafts) обогащены стеролами (у позвоночных – ХС) и сфинголипидами – фосфолипидами на основе сфингозина, содержащими в качестве радикалов насыщенные жирные кислоты (рис. 2). В качестве ассоциированных с этими липидами белков фигурируют “заякоренные” в мембране посредством гликозил-фосфатидилинозитола специфические белки – GPI-“заякоренные” белки. Эти мембранные микродомены (50–70 нм) трудно растворимы в (неионных) детергентах, поскольку молекулы белков и липидов в них очень прочно ассоциированы между собой, хотя сами участки (рафты) могут латерально мигрировать в районах мембраны, содержащих неориентированные фосфолипиды (имеющие в качестве радикалов ненасыщенные жирные кислоты), например фосфатидилхолин, а также низкие концентрации стеролов.

Рафты представляют собой “платформы” для сборки липидных и белковых молекул. Они принимают активное участие в сортировке молекул (белков и липидов), в их транспорте внутрь клетки и таким образом в сигналинге (Zurzolo et al., 2003; Helms, Zurzolo, 2004; Pike, 2004). В отличие от клатринпокрытых участков клеточной мембраны сигналы от рафтов часто передаются внутрь клеток с помощью кавеолинпокрытых везикул – кавеолей. С рафтами и кавеолями избирательно связаны рецепторы ряда важных сигнальных молекул (например рецептор эпидермально-

го фактора роста), определенных вариантов липопротеидных частиц (скавенджер-рецепторы В-типа), а в лимфоцитах млекопитающих с рафтами связаны рецепторы, участвующие в иммунном ответе, и молекулы главного комплекса гистосовместимости класса II (Anderson et al., 2000). С рафтами также ассоциированы внутриклеточные примембранные сигнальные белки киназного семейства src, участвующие в передаче внеклеточного сигнала на актиновый цитоскелет (Anderson et al., 2000). Рафтами обогащены районы плазматической мембраны апикальных частей поляризованных клеток различных многоклеточных животных (сенсорные клетки, клетки кишечного эпителия и т.п.) (Rodriguez-Boulan et al., 2005). Установлено, что для формирования структуры рафтов у многих беспозвоночных животных, грибов и растений привлекаются различные стеролы (например 7-дегидро-ХС, эргостерол, фитостеролы) (Xu et al., 2001), чем, вероятно, может объясняться гетерогенность структур и свойств рафтов у беспозвоночных животных, несущих многочисленные типы стеролов, например у губок, стрекающих и иглокожих. Стеролаи, по-видимому, придают структурам рафтов жесткость и делают более дискретными их границы (Helms, Zurzolo, 2004).

У нематоды *C. elegans*, как уже говорилось, не способной к синтезу стеролов и содержащей их в следовых количествах, в составе клеточных мембран, вероятно, существуют рафты со свойствами, отличными от стеролосодержащих (Scheel et al., 1999). Недавно в специальных исследованиях, проведенных *in vitro*, было показано, что в сравнении с другими стеролами ХС является наиболее оптимальным при взаимодействии со сфинголипидами для образования рафтов в клеточных и внутриклеточных мембранах животных клеток (Li et al., 2003). Исследования роли и значения стеролов в рафтах, а также изучение сложной мозаичной структуры плазматической мембраны эукариотических клеток далеки от завершения.

Любопытные эксперименты были проведены с культивируемыми мутантными клетками млекопитающих – СНО (производными клеток яич-

ника китайского хомячка). Эти клетки синтезировали очень мало ХС и медленно росли, но могли включать в рафты сходный с ХС фитостерол, присутствующий в культуральной среде, – кампестерол (Xu et al., 2005). Добавление ингибитора синтеза ХС к клеткам, росшим в присутствии фитостерола, и вовсе тормозило их жизнеспособность, но положение спасало добавление экзогенных порций ХС или его оптического изомера (энантиомера). Таким образом, даже для роста клеток млекопитающих *in vitro* необходим ХС, функция которого в данном случае продолжает оставаться до конца неясной.

*Регуляция ХС своей внутриклеточной концентрации.* Другой вариант опосредованного участия стеролов в сигналинге, на примере ХС, направлен на регуляцию своей внутриклеточной концентрации по принципу отрицательной обратной связи. ХС участвует в поддержании собственной внутриклеточной концентрации благодаря тесному взаимодействию белка внутриклеточных мембран SREBP2 (sterol regulatory element binding protein) с белком SCAP (SREBP cleavage activating protein) (Shimano, 2001). При низких концентрациях ХС в клетке молекулы SREBP2 в комплексе со SCAP двигаются вдоль мембран из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи, благодаря “заякориванию” в мембранах SREBP за счет двух трансмембранных районов. В ходе перемещения комплекса белков SREBP2 и SCAP в этих мембранах происходит последовательное расщепление трансмембранных районов SREBP2 двумя сайтспецифичными протеазами, вследствие чего N-концевой район SREBP2 (обладающий свойствами транскрипционного фактора со следующей структурой: основной ДНК-связывающий домен, спираль-петля-спираль, лейциновая “молния” – basicHLHZip) получает возможность перейти в цитоплазму и транслоцироваться в ядро. Там он взаимодействует со специфичными *цис*-элементами SRE (sterol regulatory element), локализованными, в частности, в промоторах гена начального этапа синтеза ХС – ГМГ-КоА-редуктазы – и гена рецептора внеклеточных липопротеидных частиц низкой плотности, переносящих ХС в клетку (см. ниже). Освободившийся от SREBP SCAP возвращается назад в мембрану эндоплазматического ретикулума, где связывается с очередной молекулой SREBP. Внутриклеточная концентрация ХС вследствие активации генов синтеза ХС и его транспорта в клетку возрастает. В молекуле SCAP имеется особый домен, взаимодействующий с участком внутриклеточной мембраны (самостоятельно или с помощью белка-посредника), обогащенной ХС. При избытках ХС в клетке таких участков в мембранах появляется много, так что при встрече с ними ХС-сенсорный домен SCAP задерживает или вовсе блокирует движение всего комплекса SREBP-SCAP в мем-

брану аппарата Гольджи и таким образом препятствует протеолизу мембраносвязанного SREBP2 и образованию его ядерной активной формы. Работа генов, ответственных за продукцию внутриклеточного ХС и транспорта его в клетку, в отсутствие активного ядерного SREBP угнетается, и внутриклеточная концентрация ХС понижается. До сих пор неясны детали взаимодействия ХС с ХС-сенсорным районом белка SCAP: полагают, что при этом взаимодействии изменяется конформация SCAP, что приводит к блокировке миграции комплекса SREBP/SCAP (Brown et al., 2002). Значение гена *Srebp2* для развития млекопитающих, по-видимому, очень велико, поскольку зародыши мышей-нокаутов по гену *Srebp2* погибают на 8-й день после зачатия (Shimano, 2001).

У беспозвоночных с секвенированным геномом (*C. elegans*, *D. melanogaster*) было также обнаружено по одному гену, гомологичному *Srebp* млекопитающих, однако у дрозофилы белковый продукт экспрессии такого гена, как было установлено, регулирует экспрессию генов ферментов синтеза насыщенных жирных кислот и фосфатидилэтаноламина (Dobrosotskaya et al., 2002; Seegmiller et al., 2002), а у нематоды белковый аналог SREBP регулирует уровень фосфатидилэтаноламина (McKay et al., 2003; Ashrafi et al., 2003).

*Участие окисленных форм стеролов в сигналинге.* Одна из форм участия ХС в сигналинге в клетках позвоночных животных может быть направлена на удаление из них (и далее из организма) его окисленных производных. Естественный ход метаболизма ХС (и других стеролов) в клетках, повышение его концентрации во внеклеточных жидкостях (в системе циркуляции) сопровождается ферментативным или неферментативным его окислением. В этом случае к боковым радикалам или к атомам углерода в кольцах стероидного ядра добавляются дополнительные кислородосодержащие группы: гидроксильные, оксо-, эпокси- или карбонильные (рис. 3). То же самое можно, по-видимому, предполагать и в отношении других стеролов. Поскольку стеролы не могут расщепляться в организме многоклеточных животных, то их окисление биологически оправдано, так как служит первым шагом для удаления стеролов из организма. Оксистеролы – более полярные соединения и, следовательно, уже частично растворимы в водной фазе, что облегчает их транспорт из “периферийных” тканей (у высших животных) по системе циркуляции в печень и далее (в виде желчных кислот) из организма (Schroepfer, 2000).

Ферментативное окисление ХС осуществляется с помощью суперсемейства цитохрома P-450 (монооксигеназ), ферменты которого окисляют многие липофильные агенты, как синтезированные в организме, так и являющиеся ксенобиоти-

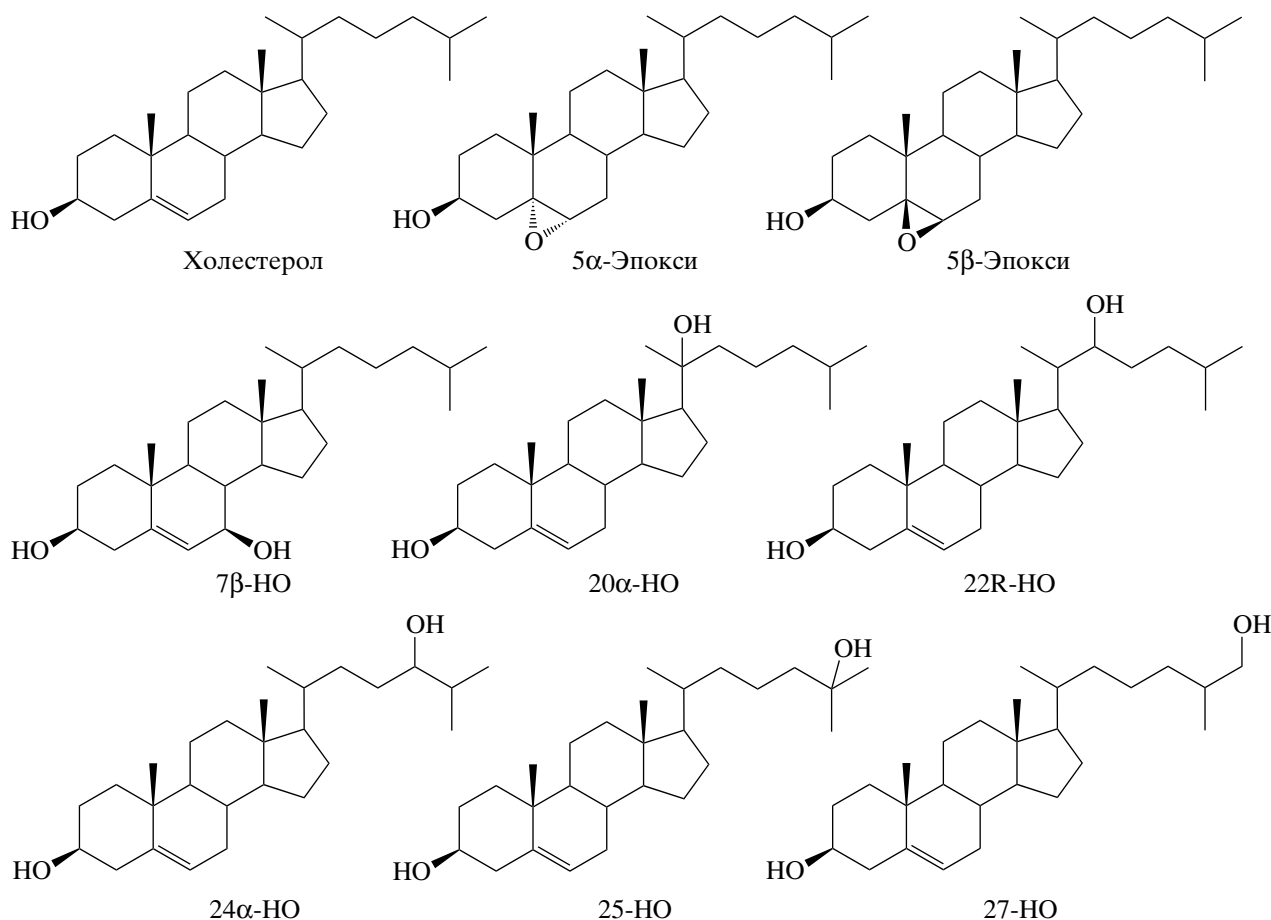


Рис. 3. Окисленные формы холестерина, встречающиеся в организме позвоночных (млекопитающих).

ками, с целью их биотрансформации. Смыслом ее является инактивация и удаление растворимых в водной фазе (частично или полностью) окисленных (полярных) липофильных молекул из организма. Среди ферментов суперсемейства P-450-монооксигеназ встречаются такие, которые специфически окисляют стеролы, включая ХС (например 7- $\alpha$ -холестерингидроксилаза-Сур7А – фермент первоначального этапа окисления ХС). Кроме окисления, стеролы могут подвергаться и другим химическим превращениям: укорочению радикалов боковой цепи или добавлению новых радикалов и т.д. Нужно также иметь в виду, что окисление стеролов может происходить еще и другими неучтенными способами, и эти разнообразные окистеролы следует удалять из организма, поскольку они являются крайне нежелательными активными агентами и провоцируют различные дисфункции и аномалии (например воспаление, апоптоз, малигнизацию и атерогенез у млекопитающих) (Schroepfer, 2000; Bjorkhem, Diczfalusi, 2002; Rusinol et al., 2004). Системы транспорта окистеролов в организме изучены недостаточно, но, по-видимому, они транспортируют-

ся в составе липопротеинов (см. ниже) так же, как ХС и его эфиры.

Попадая в клетки, окисленные формы ХС и их производные взаимодействуют с **ядерными рецепторами**, являющимися активируемыми факторами транскрипции, которые в неактивном состоянии часто локализованы в цитоплазме. К настоящему времени описано большое число (объединенных в надсемейство) ядерных рецепторов, каждый из которых специфически взаимодействует с низкомолекулярными природными и синтетическими липофильными (гидрофобными) углеродосодержащими молекулами, что активизирует его транскрипционную активность. Среди ядерных рецепторов выделяют большой класс (суперсемейство) стероид-тиреоид-ретиноидных рецепторов, к которому относятся и интересующие нас белковые молекулы. Для ряда ядерных рецепторов лиганды еще не охарактеризованы, и в этом случае такие рецепторы называются орфанами (от англ. “orphan” – сирота) (Olefsky, 2001; Tsuguchika, 2003). Показано, что в клетках печени млекопитающих (мышей) окисленные формы ХС – оксихолестеролы, содержащие гидроксигрупп-



пы в большой боковой цепи: 22ОН-ХС, 24ОН-ХС, 25ОН-ХС и 27ОН-ХС (один из их оптических изомеров или оба), – а также 7-оксихолестеролы (хотя и в меньшей степени) способны взаимодействовать со специфическими ядерными рецепторами  $\alpha, \beta$ -LXR (liver X receptor) (Hu, Lala, 2002; Antonio et al., 2003; Crestani et al., 2004). Активированные лигандами LXR-рецепторы функционируют в ядрах клеток в виде гетеродимеров, объединяясь в пары с одной из форм ретиноидного рецептора (RXR). В клетках “периферийных” тканей LXR/RXR активируют транскрипцию генов, белковые продукты которых участвуют в удалении излишков ХС, а также его окисленных форм, а в клетках печени эти факторы активируют транскрипцию генов белков, участвующих в дальнейшей конвертации окисленных форм ХС в желчные кислоты (поскольку там главная мишень LXR – ген фермента 7- $\alpha$ -холестерингидроксилазы). В свете сказанного выше к важным мишеням LXR/RXR относятся гены белков, принимающих активное участие в “обратном” транспорте ХС из клеток периферийных тканей в печень, – ABC-A1-транспортера (белка, переносящего эфиры ХС) и аполиipoproteина Е. Две разные формы LXR,  $\alpha$  и  $\beta$ , по-разному распространены в клетках ряда тканей (печень, почки, жировая ткань, макрофаги), и нарушение их функционирования является одной из причин развития атеросклероза у млекопитающих. У мышей-нокауты по гену  $\alpha$ -LXR сильно изменяется способность контролировать обратный транспорт ХС из периферических клеток в печень (Wagner et al., 2003). Одним из важнейших белков, действующих кооперативно с LXR, который также относится к классу ядерных рецепторов, является орфановый ядерный рецептор LRH-1 (Liver Receptor Homolog-1). Этот рецептор действует как активатор тех же генов, что активируются (часто одновременно) с помощью LXR/RXR или функционально сходных с ними, т.е. как агонист, правда LRH-1 действует в виде мономера (Luo et al., 2001). Одной из мишеней LRH-1 в клетках печени и яичника млекопитающих является ген скавенджер-рецептора В-типа (“мусорщик”, SR-B1) (Schoonjans et al., 2002). Нужно иметь в виду, что для удаления ХС из клеток организм прибегает как к активации ABC-A1-транспортера, так и SR-B1 (способного работать в двух направлениях по транспорту ХС). Кроме того, фактор транскрипции LRH-1 играет важную роль в синтезе стероидных гормонов, о чем будет сказано ниже (Fayard et al., 2004).

Принципиальную роль в регуляции метаболизма желчных кислот играет фарнезил-Х-рецептор (FXR), который в виде гетеродимера FXR/RXR может модифицировать экспрессию упомянутого выше гена LRH-1 и гена еще одного орфанового ядерного рецептора – HNF4. Все эти взаимодействия в конечном счете приводят к сба-

лансированной регуляции продукции и выведению желчных кислот в зависимости от потребностей организма (Crestani et al., 2004; Malerod et al., 2005).

## СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ ПОЗВОНОЧНЫХ

*Свойства и роль гормонов в жизнедеятельности организмов.* Стероидные гормоны также являются продуктами окисления стеролов, однако отличных от тех, что в конечном счете трансформируются в желчные кислоты у млекопитающих. В организме позвоночных стероидные гормоны синтезируются в специальных стероидогенных клетках, в качестве субстрата для их синтеза используется ХС (Parker, 1993; Березов, Коровкин, 2004). Стероидные гормоны позвоночных в отличие от ХС лишены протяженной боковой цепи (в позиции С17), вместо этого они в указанной позиции содержат дополнительные карбонильные либо оксигруппы или несут по другим позициям небольшие радикалы, включающие атомы углерода и кислорода. Кроме того, возможно добавление групп ОН к атомам углерода стероидного ядра в позициях С11, 13, 18 (в позиции 3 у стероидов часто вместо гидроксильной группы ОН присутствует кетогруппа С=О). Ненасыщенная связь в стерольных кольцах у этих стероидов меняет координаты; могут появляться дополнительные ненасыщенные связи и метильные группы.

Новосинтезированные гормоны недолговечны: у позвоночных в организме они существуют 60–90 мин, и продукты их дальнейшего окисления в печени (7- $\alpha$ -кетостеролы) затем выводятся с мочой. У млекопитающих имеется большая группа стероидных гормонов – главным образом кортикоиды, синтезирующиеся в корковом слое надпочечников, и половые стероиды, образующиеся в яичниках, семенниках и плаценте (Parker, 1993; Березов, Коровкин, 2004). Кроме того, у млекопитающих стероидные гормоны могут синтезироваться стероидогенными клетками жировой ткани и головного мозга. В головном мозгу нет специфических для синтеза стероидов железистых структур или центров, стероидогенные клетки встречаются у млекопитающих в коре больших полушарий, гиппокампе, обнаружены они также в продолговатом мозгу (Biggio et al., 2002; Shibuya et al., 2003). Для образования половых и кортикальных стероидных гормонов в организме млекопитающего важна реализация основной сигнальной цепочки в виде гипоталамус – гипофиз – стероидогенные ткани за счет деятельности соответственно кортикотропин- и гонадотропин-рилизинг гормонов, а также адренокортикотропного, лютеинизирующего и фолликуло-стимулирующего гормонов.

При сравнении биохимических свойств и строения стероидных гормонов со свойствами и струк-

турой оксистеролов животных можно заметить, что все они являются сходными биологически активными соединениями, содержащими гидроксид- или оксо/кетогруппы либо в стероидном ядре, либо (а также) в боковых радикалах. Активность стероидов выражается в чрезвычайно важных для организма эффектах, и их содержание поэтому должно строго регулироваться во избежание серьезных последствий.

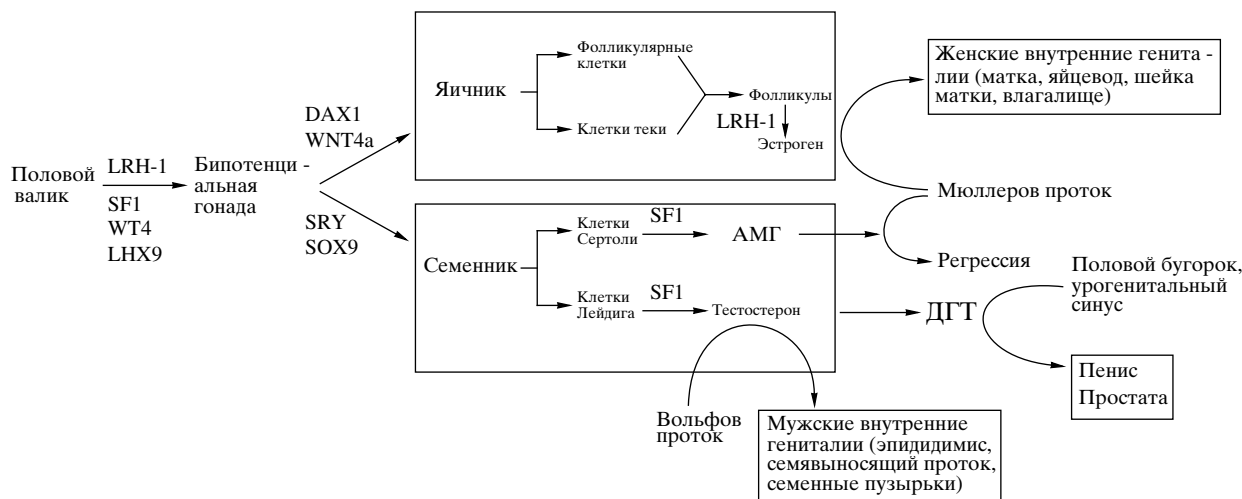
Роль и функции стероидных гормонов позвоночных в детерминации пола, метаморфозе, реакциях врожденного иммунитета, ответе клеток на стресс и при апоптозе настолько хорошо и подробно изучены, что мы не будем на этом останавливаться. Стероидные гормоны взаимодействуют в цитоплазме клеток с водорастворимыми стероидными рецепторами – членами того же суперсемейства ядерных рецепторов, к которому относятся рецепторы оксистеролов, но с другими специфическими характеристиками (Olefsky, 2001). Эти рецепторы также являются факторами транскрипции с ДНК-связывающим цинкцингерным доменом Cys<sub>4</sub>-типа. При взаимодействии с лигандами рецепторы стероидных гормонов гомодимеризуются, транслоцируются в ядро и активируют множество разнообразных генов, что может приводить к обширным изменениям в развивающемся организме (метаморфоз, гаметогенез, половое развитие и т.п.). Стероидные рецепторы взаимодействуют со своими лигандами (стероидными гормонами) с более высокой аффинностью (имеют более низкую константу диссоциации), чем оксистеролы со своими рецепторами (LXR/RXR).

ХС во всех исследованных случаях является единственным природным субстратом для синтеза стероидных гормонов позвоночных. У позвоночных он может синтезироваться в стероидогенных клетках так же, как и в клетках других типов, но основным источником ХС – это транспорт его из печени в клетки других типов тканей в виде эфира (ЭХС) в составе липопротеиновых частиц (известно, что более 80% всего ХС взрослого организма млекопитающего синтезируется в печени – Климов, Никульчева, 1999).

В стероидогенных клетках позвоночных животных происходит деэстерификация ЭХС специфической гормоночувствительной липопротеинлипазой, а затем свободный ХС транспортируется на внутреннюю митохондриальную мембрану в комплексе с белками-переносчиками StAR (stress acute regulatory protein) или родственным им MLN64 (metastatic lymph node 64) (Soccio, Breslow, 2003). На внутренней мембране митохондрий с помощью цитохромов P-450 в энергозависимой манере сначала осуществляется удаление длинной боковой цепи ХС (с помощью десмолазы, или P450scC/Cyp11A1), затем происходит добавление

кислородобогатых радикалов, а потом с помощью других ферментов (гидроксистероиддегидрогеназ, гидроксилаз, лиаз, ароматазы и т.п.) осуществляется конвертация прегненолона в прогестерон, в результате из прегненолона и прогестерона образуются кортикоиды, андрогены и эстрогены.

Чрезвычайно интересно, что у позвоночных такой важный процесс, как детерминация пола, происходит под контролем половых гормонов (Parker et al., 1999; Ohno, 1999; Gilbert, 2003). Баланс половых стероидных гормонов непосредственно детерминирует пол гермафродитных рыб и ряда пресмыкающихся (черепахи, аллигаторы, крокодилы). У последних на соотношение половых гормонов влияет активность фермента P-450-ароматазы, конвертирующей тестостерон в эстрогены. Активность P-450-ароматазы у них зависит от температуры инкубации яиц, в которых развиваются зародыши (Gilbert, 2003; Temperature ... , 2004). У всех позвоночных такие важные процессы, как гаметогенез и формирование гениталий, в раннем развитии находятся под строгим контролем специфических для стероидогенеза транскрипционных факторов, к которым относятся некоторые упомянутые выше ядерные рецепторы (Parker et al., 1999; Val et al., 2003). У млекопитающих в детерминации пола важную роль играют два близкородственных ядерных рецептора – SF-1 (Steroidogenic Factor-1) и ранее упоминавшийся LRH-1, относящиеся к семейству транскрипционных факторов, гомологичных белку FTZ-F1 дрозофилы, который активируется в раннем развитии плодовой мушки геном сегментационной полярности *Fushi tarazu* (Val et al., 2003; Fayard et al., 2004). Роли этих двух белков в формировании как яичников, так и семенников млекопитающих часто перекрываются: они узнают в промоторах генов сходные *цис*-регуляторные последовательности, что указывает на их определенную функциональную взаимозаменяемость. Напомним, что в печени LRH-1 также является функциональным агонистом рецептора LXR, принимающим участие в активации цепочки процессов, приводящих к удалению ряда оксистеролов из организма (активация гена 7- $\alpha$ -гидроксистеролазы). В зачатках гонад LRH-1 более активен, чем в печени, и контролирует ряд генов, принимающих участие в стероидогенезе. Эти гены также являются мишенями действия и SF-1, правда время и место действия SF-1 отличаются от таковых для LRH-1 (рис. 4). Это гены следующих белков: P450scC, P450-17- $\alpha$ -гидроксистеролазы, P450-ароматазы и StAR (Falender et al., 2003; Fayard et al., 2004; Pezzi et al., 2004; Mandelson et al., 2005). Функционально LRH-1, по-видимому, более важен для процессов оогенеза, будучи активен в клетках гранулезы (где происходит превращение андрогенов в эстрогены), хотя он выявля-



**Рис. 4.** Участие близкородственных ядерных рецепторов SF1 и LHR-1 в детерминации пола млекопитающих (по: Gilbert, 2003, с модификациями).

LHX9, WT1, DAX1, SRY, SOX9 – транскрипционные факторы, участвующие в детерминации пола на разных стадиях формирования мужских и женских гонад (SRY и SOX9 детерминируют мужской пол, DAX1 – женский); WNT4a – ростовой фактор, АМГ – антимюллеров гормон, ДГТ – дигидротестостерон.

ется также и в определенных типах клеток семенников (Falender et al., 2003; Fayard et al., 2004). Стероидогенный фактор SF-1 функционально активен в ходе сперматогенеза, хотя обнаруживается также в определенных типах клеток яичника (особенно на ранних стадиях оогенеза и после рождения) (Val et al., 2003; Mandelson et al., 2005). Так, в формирующемся яичнике мыши SF-1 активен в клетках теки (где предпочтительно синтезируются прегненолон и тестостерон) и в меньшей степени в клетках гранулезы (в которых из тестостерона с помощью ароматазы образуется эстроген), а LHR-1 – только в клетках гранулезы (и здесь он контролирует активность ароматазы) (Falender et al., 2003). В семенниках зародыша крысы наблюдаются интересные временные и тканевые паттерны экспрессии генов этих двух факторов. Если ген *LHR-1* активен в половых клетках на разных этапах сперматогенеза (в пахитенных сперматоцитах и круглых сперматиде) и в клетках Лейдига, участвуя в регуляции экспрессии гена ароматазы, то ген *SF-1* у крыс – в клетках Сертоли формирующихся семенников, а в половых клетках не активен (Pezzi et al., 2004). Интересно, что гены этих двух ядерных рецепторов по-разному регулируются женским половым гормоном эстрадиолом, продуцируемым в плаценте. Кроме того, имеются данные о том, что определенные оксистеролы могут стимулировать активность SF1 (правда, нет твердых доказательств того, что оксистеролы являются лигандами этих рецепторов) (Lala et al., 1997). Важность этих двух ядерных рецепторов для эмбрионального развития также различна. Мыши-нокауты по гену *SF-1* рождаются с неразвитыми

надпочечниками и имеют рудиментарные нефункциональные гонады; у них возможна реверсия пола (с мужского на женский). Если новорожденным мышатам-нокаутам не инъецировать стероидные гормоны, они погибают вскоре после рождения. Мыши-нокауты по гену *LHR-1* – летали и погибают уже в раннем эмбриогенезе (Val et al., 2003; Fayard et al., 2004).

*Распространение стероидных половых гормонов у позвоночных животных.* Сравнительный анализ выявления стероидных гормонов у различных животных свидетельствует о том, что эволюционно “взрыв численности” видов стероидных гормонов приурочен к возникновению позвоночных (Ohno, 1999; Baker, 2001, 2003). Спектр стероидов, фигурирующих в качестве главных и второстепенных стероидных гормонов у позвоночных, в дальнейшем также эволюционирует. Так, если у костистых рыб в качестве главного мужского полового гормона (андрогена) фигурирует 11-кетотестостерон, то у земноводных и млекопитающих главными андрогенами являются 5 $\alpha$ -дигидротестостерон и тестостерон (Baker, 2001). Для прояснения вопроса об эволюционном времени появления стероидных гормонов “нового поколения” (в сравнении с экдизоидами) был использован молекулярно-биологический анализ геномов хордовых (включая позвоночных) и беспозвоночных (включая вторичноротых, первичноротых и кишечнополостных) животных на содержание в них генов рецепторов различных стероидных гормонов. Анализ геномов животных, выполненный методом ПЦР с использованием вырожденных праймеров, показал, что нуклеотидные последовательности, родственные генам

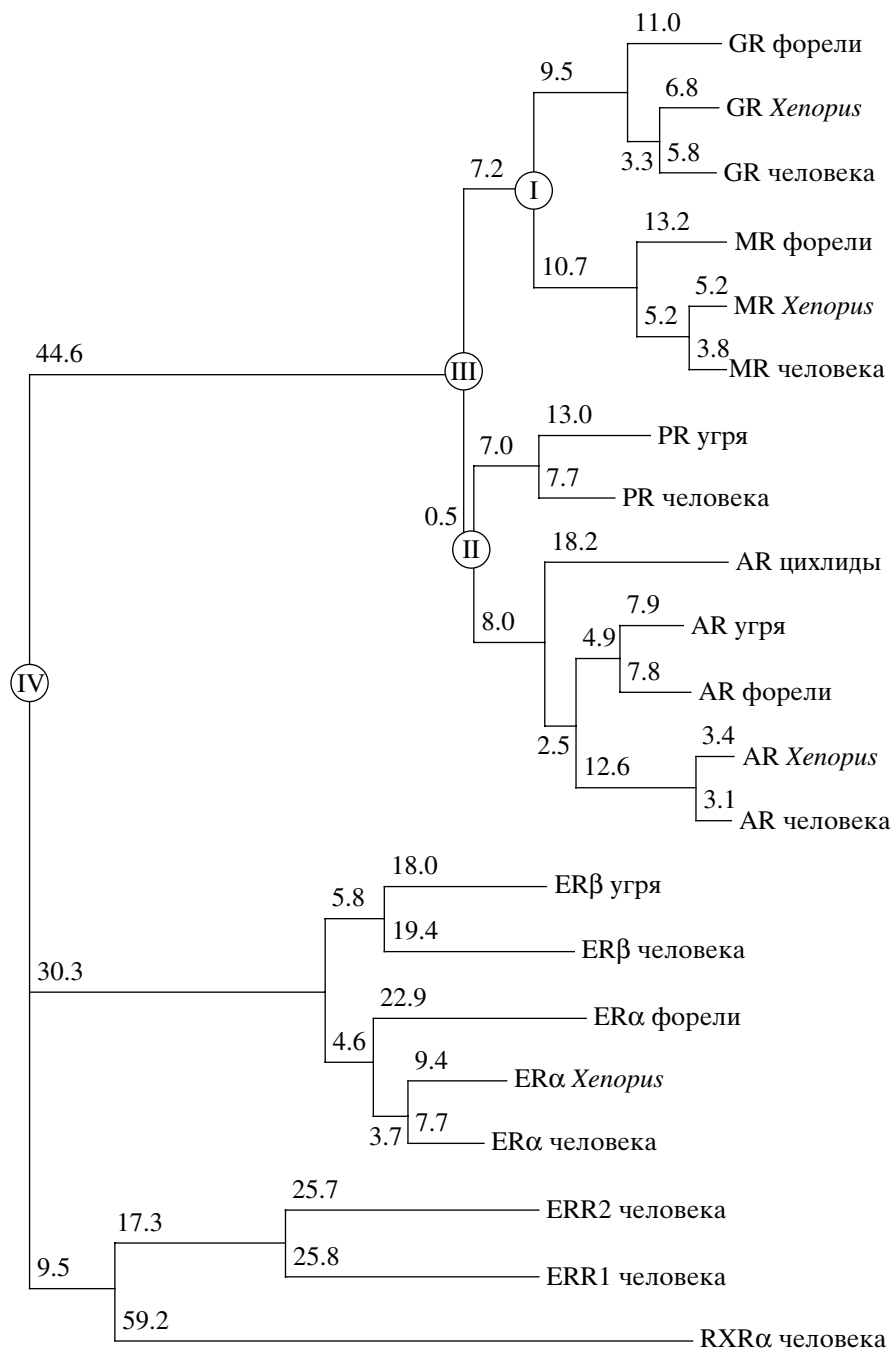
рецепторов глюкокортикоидов, андрогенов, эстрогенов и прогестерона, присутствуют в геномах низших позвоночных – акул и костистых рыб (Baker, 2001). Приводятся данные о клонировании гена прогестеронового рецептора у миноги (Thornton et al., 2003). Нуклеотидная последовательность, родственная гену прогестеронового рецептора, была найдена также в геноме миксины (Baker, 2003). В геномах беспозвоночных не было обнаружено близкородственных аналогов генов рецепторов ни кортикальных, ни половых стероидных гормонов, за исключением моллюска *Aplysia californica* (Thornton et al., 2003). Вместе с тем в геномах ланцетника (Cephalochordata) и оболочника (Urochordata) были обнаружены гены, сходные с таковыми эстрогеновых рецепторов позвоночных. Эти данные позволяют говорить о появлении и распространении генов стероидных рецепторов у хордовых в раннем кембрии. Полученные результаты дали возможность построить филогенетическое древо генов стероидных рецепторов (рис. 5). Самым удивительным выводом из анализа представленной филогении оказалось то, что эстрогеновый рецептор следует отнести к наиболее древним из всех анализируемых рецепторов стероидов, близким к ядерным рецепторам линейных изопреноидов, например ретиноидному рецептору RXR, хотя синтез эстрогена в цепочке биохимических превращений стероидных гормонов позвоночных стоит на последнем месте. Для объяснения такого результата приводятся данные о том, что из всех стероидных рецепторов он наименее специфичный (более примитивный) и может взаимодействовать с целым спектром лигандов (Baker, 2001). По-видимому, эволюция стероидных рецепторов осуществлялась вслед за сложившейся цепочкой биохимических реакций последовательного синтеза стероидов и как бы наоборот, от конечного звена цепочки – к началу. Эволюционное закрепление биохимической цепочки синтеза стероидов могло стать движущей силой в появлении генов новых рецепторов, последовательно соответствующих (вверх по цепочке) стероидным предшественникам эстрадиола. Паттерны генов филогенетического древа стероидных рецепторов свидетельствуют о двух волнах дубликации исходных генов в ранней эволюции стероидных рецепторов. Возможно, эти дубликации отражают события, связанные с дубликацией целых геномов в ранней эволюционной истории позвоночных.

#### СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Существуют обширные литературные сведения по направленному действию гормонов позвоночных на развитие беспозвоночных, главным образом половых гормонов (тестостерона, эстро-

генов) или их аналогов, добавленных в водную среду, в которой содержатся (морские) беспозвоночные. Данные, полученные из этих экспериментов, важны не только для оценки фундаментальной значимости стеролов в развитии беспозвоночных животных, но и для оценки степени загрязнения окружающей среды и ее токсического влияния на репродукцию этих организмов (Oehlmann, Schulte-Oehlmann, 2003; DeFur, 2004). Половые гормоны позвоночных в целом ряде случаев стимулируют процессы репродукции беспозвоночных (включая процессы созревания гамет, вителлогенеза, формирования пола и т.д.) так же, как они это делают у природных хозяев. В то же время антагонисты (специфические ингибиторы) стероидных гормонов позвоночных, так же как и у природных хозяев, нарушают указанные процессы. Добавление антагонистов действия эстрогена, эстрогеноподобных соединений 4-октилфенола, бисфенола А, в среду для развития зародышей брюхоногих моллюсков *Marisa cornuarietis* и *Nucella lapillus* вызывает чрезмерное разрастание репродуктивных органов (Oehlmann, Schulte-Oehlmann, 2003). Присутствие этих же соединений в морской воде, в которой происходит развитие зародышей морских ежей *Strongylocentrotus purpuratus* и *Lytechinus anamesus*, приводит к значительным отклонениям от нормального развития, а то и к его остановке. Выдерживание личинок этих животных (плутеусов) с синтетическими половыми гормонами (аналогами эстрогена и прогестерона) вызывает ответную реакцию развивающихся организмов иглокожих, которая, однако, не адекватна той, что имеет место у позвоночных (Roerke et al., 2005).

То, что многие морские беспозвоночные реагируют на синтетические стероиды, их аналоги или половые стероидные гормоны позвоночных (в различных концентрациях) изменением параметров жизненного цикла, репродукции или аномалиями репродуктивных органов, указывает на вероятность существования у них собственных стероидов, обладающих свойствами гормонов. Действительно, в настоящее время появился ряд данных, указывающих на существование у морских беспозвоночных организмов стероидов, аналогичных половым гормонам позвоночных, а также ферментов, способствующих синтезу стероидов из стеролов. У представителей первичноротых группы Ecdysozoa (ракообразные – Decapoda, Copropoda), у животных другой группы первичноротых Lophotrochozoa (моллюски – Gastropoda, Cephalopoda) и даже у кишечнополостных (кораллы – Anthozoa) обнаружены стероиды, по структуре сходные с половыми гормонами позвоночных (главным образом с эстрадиолом, но также и с тестостероном и некоторыми другими стероидами) (Kanazawa, 2001; Pernet, Ancil, 2002; Oehlmann, Schulte-Oehlmann, 2003; Tarrant, 2005).



**Рис. 5.** Филогенетическое древо стероидных рецепторов позвоночных, построенное на основании молекулярно-генетического анализа генов стероидных рецепторов (по: Baker, 2003, с изменениями).

Действительно, у беспозвоночных животных обеих упомянутых групп первичноротых, а также у вторичноротых (иглокожих) показана возможность синтеза стероидов из присутствующих в их организме стеролов, обнаружены и ферменты некоторых этапов синтеза (Oehlmann, Schulte-Oehlmann, 2003). Вместе с тем получить полноценные доказательства функционирования обнаруженных стероидов как гормонов в манере, сходной с поло-

выми гормонами позвоночных, у этих животных пока не удастся. Так, у ракообразных (креветки), которые имеют одновременно гормоны, свойственные членистоногим (экдизоиды), и аналоги половых гормонов позвоночных (эстроген), не нашли связь действия эстрогенов с важнейшими этапами оогенеза (например с вителлогенезом) (Tsukimura, 2001). Очевидным свидетельством в пользу функционально активных стероидов мог-

ло бы явиться обнаружение у них соответствующих стероидных рецепторов. Однако, несмотря на некоторые малоубедительные свидетельства существования стероидных рецепторов для речного рака и осьминога (Di Cosmo et al., 2002; Paolucci et al., 2002), получить доказательства существования функционально активного белка, охарактеризовать ген, гомологичный гену, например, рецептора эстрадиола позвоночных, до сих пор не удается. Успех в этом отношении был достигнут лишь для моллюска *Aplysia californica*, у которого обнаружен ген, гомологичный таковому рецептору эстрадиола позвоночных (Thornton et al., 2003). Ни у кораллов, ни у ряда обследованных первичноротых беспозвоночных искомые стероидные рецепторы выявлены не были (Escriva et al., 1997; Thornton et al., 2003). Кроме всего прочего, остается неясным, насколько образование (или поступление в организм?) стероидов, сходных по свойствам со стероидными гормонами высших животных, у (морских) беспозвоночных регулярно и какую роль они играют в их жизни. Можно предположить, что образование стероидных гормонов у указанных беспозвоночных, которые не способны к синтезу стеролов *de novo* (высшие раки, брюхоногие моллюски), может быть нерегулярным и зависеть от поставок пищевых стеролов, с последующим превращением их путем деалкилирования в ХС, служащий единственным известным субстратом для синтеза стероидов. По-видимому, стероидные гормоны, сходные с половыми гормонами позвоночных, не являются облигатными регуляторными факторами для беспозвоночных.

В отличие от морских (водных) Ecdysozoa многочисленные попытки охарактеризовать эндогенные стероидные гормоны у нематоды *C. elegans* (у сухопутного организма, стоящего, по современному представлению, у начала филогенетического древа Ecdysozoa) оказались безрезультатными. Вместе с тем существуют вполне определенные указания на важность стероидов для реализации жизненного цикла нематод (см. выше, а также: Chitwood, 1999). В опытах с энантиомером, зеркально симметричным стерическим аналогом природного ХС, было показано, что добавляемый с пищей природный стерол играет некую регуляторную роль в прохождении червем личиночных стадий (Crowder et al., 2001). Возможно, что изменение конформации у энантиомера в сравнении с природным ХС препятствует его взаимодействию с ферментами в биохимической цепочке синтеза стероидов. Еще одним указанием на возможность синтеза стероидов *C. elegans* является обнаружение в ее геноме кандидатных генов синтеза стероидов – 80 генов белков группы цитохрома P-450 и 17 генов эстрадиолдегидрогеназ. Следует все же отметить,

что из всех ферментов группы цитохрома P-450, локализующихся в цитоплазматических компартаментах (например в эндоплазматической сети) и в митохондриях, в синтезе стероидов участвуют только митохондриальные, а у нематоды в митохондриях обнаружен только один из представителей ферментов группы цитохрома P-450. У плодовой мушки *D. melanogaster* (классический пример Ecdysozoa) гены, ортологичные стероидным рецепторам позвоночных, не найдены (Escriva et al., 1997; Thornton et al., 2003).

Как и у многих других представителей членистоногих, прохождение личинкой дрозифилы стадий линьки и метаморфоза регулируют стероидные гормоны – экдизоиды (собственно у насекомых – экдизон и его производное 20-гидрокси-экдизон). Как уже упоминалось выше, экдизон синтезируется у насекомых непосредственно из ХС, который, по-видимому, образуется в кишечнике деалкилированием поступающего в организм какого-то сходного с ХС по структуре фитостерола. Экдизон действует (в виде 20-гидроксиэкдизона) в импульсной манере на стадиях линек совместно с ювенильным гормоном, а на стадии метаморфоза – самостоятельно (Gilbert, 2003). Было также показано, что помимо проторакальной железы экдизон синтезируется в фолликулах дрозифилы в ходе оогенеза, роль его в этом случае еще мало охарактеризована (Buszczak et al., 1999; Roth et al., 2004). В манере, присущей всем стероидным гормонам, он взаимодействует в цитоплазме со своим рецептором (фактором транскрипции, относящимся к группе ядерных рецепторов), который в отличие от стероидных рецепторов млекопитающих при активации лигандом не гомодимеризуется, а образует гетеродимерную пару с ретиноидным рецептором RXR (Buszczak et al., 1999). Синтез экдизона в стероидогенных клетках осуществляется в внутренней мембране митохондрий, как у млекопитающих. У *D. melanogaster* описан белок Start1, имеющий гомологию с белками StAR и MLN64 млекопитающих (Roth et al., 2004). Все они имеют общий ХС-связывающий START-домен, кроме того, Start1 и MLN64 имеют общий трансмембранный домен с четырьмя спиральными участками (Soccio, Breslow, 2003). Назначение Start1 то же, что и StAR и MLN64, – доставлять деэстерифицированный ХС из цитоплазмы на внутримитохондриальную мембрану к месту синтеза стероидов. К слову сказать, у *C. elegans* также найдены гены, аналогичные гену *StAR* млекопитающих, правда, белковые продукты этих генов участвуют в запасании и хранении других липидов (Kurzchalia, Ward, 2003). В митохондриях дрозифилы обнаружено два фермента группы цитохрома P-450, требующихся для продукции экдизона. Поскольку в ходе синтеза стероидов белки StAR-семей-

ства индуцируются при транспорте ХС в митохондрии, повышенную активность кодирующих их генов в клетках можно рассматривать как указание на происходящий в клетках стероидогенез. Не является исключением и ген *Start1*. Несмотря на то что на определенном низком уровне его экспрессия наблюдается почти во всех тканях личинки, максимальная активность этого гена имеет место только в стероидогенных клетках. В экспериментах по гибридизации *in situ* с использованием антисмысловой РНК *Start1* в качестве зонда для гибридизации с зародышами дрозофилы, а также методом Нозерн-блот-гибридизации удалось показать, что ген *Start1* эффективно экспрессируется в клетках проторакальных желез насекомого в манере, напоминающей волны синтеза экдизона в этих клетках. В других клетках личинок дрозофилы такой экспрессии этого гена не наблюдается. Сама экспрессия гена *Start1* по принципу обратной связи стимулируется продукцией экдизона, однако самым интересным оказался факт его высокой экспрессии в яичниках двухдневной мухи на стадии 10 яичевых камер преимущественно в питающих клетках (трофоцитах). В ходе эмбрионального развития иРНК *Start1* выявляется в синцитиальной бластодерме, что свидетельствует о ее запасании в ооцитах в виде РНК – продукта экспрессии гена материнского эффекта (Roth et al., 2004). Эти данные соответствуют упомянутым выше наблюдениям о синтезе экдизона в яичниках насекомого и о его предпологаемой роли в оогенезе (возможно, и в раннем развитии) дрозофилы.

Так как других стероидных гормонов (кроме экдизона и 20-гидроксиэкдизона) у насекомых не было найдено, можно предположить, что у этих животных в сравнении с позвоночными спектр стероидных гормонов не развит.

Поскольку насекомые отряда Diptera являются эволюционно высшими представителями насекомых и класс насекомых – наиболее эволюционно продвинутой среди всех Ecdysozoa, а нематода относится к низшим представителям этой группы – круглым червям, логично было бы предположить, что необходимость в появлении экдизоидов впервые возникает на отрезке эволюции между примитивными и высшими представителями животных этой группы, к которой относят и насекомых, и круглых червей. Стероидных гормонов, сходных с таковыми позвоночных, у этих животных достоверно не обнаружено, на основании чего, а также на основании данных об отсутствии генов стероидных рецепторов в геномах *D. melanogaster* и *C. elegans* было выдвинуто предположение об особом экдизоидном направлении эволюции стероидов у Ecdysozoa (Thornton et al., 2003), которое, по-видимому, является ошибочным, поскольку у многих ракообразных наряду с

экдизоидами недавно были выявлены стероиды, аналогичные стероидам позвоночных (см. выше).

У отдельных представителей другой группы первичноротых (Lophotrochozoa), например у различных моллюсков, как уже отмечалось выше, получены указания на возможность функционирования стероидных гормонов, аналогичных гормонам позвоночных.

Что касается низших вторичноротых (иглокожие), то, хотя стероидные гормоны (родственные половым гормонам позвоночных) и их регулярное воздействие на репродуктивные функции у этих животных описаны достаточно давно (Goad, 1981; Schoenmakers, Dieleman, 1981), в новейших исследованиях также отмечается существование у них многочисленных оксистеролов, которые не являются копиями стероидных гормонов позвоночных и биологические функции которых совершенно непонятны (Ponamarenko et al., 2001).

Таким образом, способность организмов того или иного вида беспозвоночных к синтезу стероидов, по-видимому, не строго коррелирует с появлением их крупных эволюционных порядков: радиально-симметричных, билатеральных, первичноротых (Ecdysozoa, Lophotrochozoa), вторичноротых, – а зависит от образования в организме (или поступления в организм) ХС или какого-то близкого к нему по структуре стерола. Скорее всего, систематическим признаком следует считать постоянное присутствие в организме животного стерола – наиболее удобного субстрата для синтеза стероидов, что характерно для всех позвоночных; вместе с тем следует учитывать и то, что способность стероидов функционировать в качестве гормонов зависит также от вида взаимодействующих с ними ядерных рецепторов, структуры которых, по-видимому, эволюционируют параллельно и независимо от свойств стероидов (Escriva et al., 1997).

#### СИСТЕМЫ ТРАНСПОРТА СТЕРОЛОВ У ЖИВОТНЫХ И ИХ ВКЛАД В СИГНАЛИНГ

Для образования стероидных гормонов и обеспечения их действия на клетки-мишени большое значение имеют процессы транспорта липидов. Во-первых, это транспорт ХС к местам синтеза стероидных гормонов как у беспозвоночных (насекомых) (Lee et al., 2003), так и у позвоночных (Ishii et al., 2002; Connelly, Williams, 2003). Во-вторых, это доставка новосинтезированных молекул стероидных гормонов к клеткам-мишеням их воздействия. Стероидные гормоны у позвоночных плохо растворяются и переносятся по крови с помощью специальных стероидопереносящих белков-глобулинов (два-три типа), проникают через плазматическую мембрану клеток путем диффузии и взаимодействуют с упомянутыми выше сте-

роидными рецепторами, удерживаемыми в неактивном состоянии в цитоплазме, например в виде комплекса с белком теплового шока Hsp90. Существует небольшое число работ, посвященных этому вопросу (Parker, 1993; Климов, Никульчева, 1999), гораздо больше известно о транспорте стеролов, в частности, использующихся в качестве субстрата для синтеза стероидных гормонов. Стероиды, включая ХС и ЭХС, не растворимы в водной среде и транспортируются в биологических жидкостях (у позвоночных главным образом по крови) в составе специфических липопротеиновых частиц. У беспозвоночных также идентифицированы липопротеиновые частицы, которые менее избирательны в отношении различных липидов и транспортируют во внеклеточной среде как стеролы, так и стероиды (например экдизоиды у членистоногих).

*Транспорт стеролов у позвоночных.* Имеются существенные отличия как в липидном составе, так и в белковом спектре липопротеиновых частиц беспозвоночных и позвоночных животных; тем не менее отмечается некая общность в их физико-химических свойствах и биологических функциях. Гораздо больше общих биологических свойств и физико-химических характеристик существует у липопротеиновых частиц самих позвоночных (начиная с миног); можно даже говорить о гомологии генов, кодирующих отдельные белки этих липопротеинов, соответственно малые и большой аполипопротеины. Различают липопротеины высокой плотности – ЛПВП (главная белковая составляющая – белок аполипопротеин А-I, апоА-I), липопротеины низкой плотности – ЛПНП (главная белковая составляющая – крупноразмерный белок аполипопротеин В, апоВ), липопротеины очень низкой плотности – ЛПОНП и хиломикроны (несут следующие белки: большой-апоВ и малые аполипопротеины, в частности апоЕ и апоА-I). Если ЛПНП обогащены в большей степени ХС и ЭХС, а ЛПВП – фосфолипидами и ЭХС, то хиломикроны (и их ремнанты), а также ЛПОНП – пищевыми триглицеридами и ХС (Климов, Никульчева, 1999). Свободные жирные кислоты у позвоночных транспортируются по крови в комплексе с сывороточным альбумином. В транспорте липидов функции липопротеиновых частиц распределяются следующим образом: ЛПНП поставляют ХС и фосфолипиды из печени в различные “периферийные” клетки, ЛПОНП и хиломикроны транспортируют из кишечника в клетки организма (печени, жировой ткани и др.) пищевые липиды (главным образом триглицериды, но также ХС), ЛПВП забирают ХС и фосфолипиды из клеток “периферических” тканей (попутно эстерифицируют ХС в ЭХС) и транспортируют ХС в печень, частично разгружаясь по пути (с помощью

ЭХС-переносящего белка) на также поступающих в печень ЛПОНП и ЛПНП. Накопление химически модифицированных ЛПНП в стенках артерий человека ведет к атеросклерозу (модифицированные ЛПНП – атерогенные липопротеины), чему препятствуют действующие в высоких концентрациях частицы ЛПВП (антиатерогенные липопротеины) (Климов, Никульчева, 1999).

По всей вероятности, гены малых аполипопротеинов (соответственно названию белков – *apoA1*, *apoAII*, *apoAIV*, *apoE*, *apoC1*, *apoCIII* и ряд других) позвоночных являются эволюционно новыми приобретениями высших животных (в отличие от гена *apoB*) и появляются, по-видимому, у хордовых, имеющих сформированные структуры головы (головного мозга), – Craniata. Белки, гомологичные аполипопротеинам высших животных, достоверно выявляются в системе циркуляции низших позвоночных, начиная с миног (Pontes et al., 1987; Babin et al. 1997). В то же время ген большого аполипопротеина В (главной белковой составляющей ЛПНП) – *apoB* имеет значительную гомологию с геном основных белков липопротеинов насекомых и таким образом, по всей вероятности, весьма консервативен (Babin et al., 1999).

К настоящему моменту описано несколько видов рецепторов липопротеиновых частиц. Рецептор ЛПНП – рЛПНП относится к классическим рецепторам эндцитозного пути. Его назначение – акцептировать ЛПНП и после интернализации клетками комплекса рецептора с лигандом освобождаться от доставляемых в клетки липидов и белковых составляющих в эндосомах и возвращаться на клеточные мембраны. В организме человека мутации гена рЛПНП ведут к наследственной гиперхолестеринемии (и далее к атеросклерозу). Рецепторы ЛПОНП относятся к тому же семейству, что и рЛПНП (семейство белков, родственных рЛПНП). Их несколько видов, одни из них локализованы преимущественно на клетках головного мозга, другие – на клетках печени. Некоторые из них называются апоЕ-рецепторы. Недавно были описаны рецепторы для ЛПВП, впервые они были найдены у макрофагов и получили название SR-B1 (см. выше). Они забирают ЭХС и фосфолипиды у ЛПВП и транспортируют их внутрь клеток, причем сами частицы ЛПВП при этом клетками, по данным целого ряда исследований, не интернализуются (Ishii et al., 2002; Connolly, Williams, 2003). Справедливости ради следует упомянуть, что существуют и альтернативные данные о ретроэндцитозе ЛПВП с помощью этих рецепторов (Pagler et al., 2006).

Стероидогенные клетки высших позвоночных на своей поверхности имеют большое количество SR-B1, в меньшей степени – рецепторы ЛПНП и апоЕ. Таким образом, главный источник поступ-



ления ХС для синтеза стероидных гормонов – это поставки его в ЛПВП-частицах в виде ЭХС через рецепторы SR-B1. Ко второстепенным источникам следует отнести поставки ХС через рецепторы других липопротеинов, а также внутренний ресурс – ХС, синтезированный *in situ* в стероидогенных клетках. Ведущая роль в поступлении ХС в клетки для стероидогенеза у млекопитающих принадлежит главной белковой составляющей ЛПВП – аполипопротеину А-I (Plump et al., 1996). Мыши-нокауты по генам *apoA1* или *SR-B1* имеют значительные нарушения стероидогенеза в половых железах и надпочечниках в ходе эмбрионального развития, отличаются после рождения небольшими размерами; их главные кровеносные сосуды подвержены атеросклеротическим повреждениям (Connelly, Williams, 2003). Правда, столь драматические изменения не касаются жизненно важных функций мышей, что, по-видимому, свидетельствует о наличии обходных резервных путей в поставках ХС в стероидогенные клетки, которые не сразу, но со временем налаживаются в компенсаторной манере, благодаря наличию на стероидогенных клетках рецепторов для липопротеиновых частиц различных типов. Серьезные нарушения появляются у мышей-нокаутов по гену *StAR* (кодирующему белок, транспортирующий внутриклеточный ХС на митохондриальную мембрану в стероидогенных клетках). У таких мышей (самцов и самок) выявлялись дисфункции формирующихся гонад, а у самцов наблюдалась реверсия пола. Кроме того, у нокаутных мышей отсутствует также нормальная структура надпочечников, и они погибают вскоре после рождения (Ishii et al., 2002). Более тяжелые и необратимые нарушения стероидогенеза возникают у мышей-нокаутов одновременно по генам *apoA1* и *StAR* (двойных нокаутов). При этом выживают после рождения только те дважды нокаутированные мыши, которым сделали инъекции стероидных гормонов, да и то только около 40% таких особей (Ishii et al., 2002).

Картина синтеза стероидов в головном мозгу, по всей вероятности, та же самая, поскольку все участники транспорта ХС в стероидогенные клетки, компоненты его внутриклеточного транспорта и ферменты синтеза стероидных гормонов в мозгу присутствуют (Mellon et al., 2001). Следует только помнить, что вследствие гематоэнцефалического барьера ХС из других мест организма млекопитающего попасть в мозг не может, поэтому мозг должен обходиться своими ресурсами ХС для синтеза нейростероидов (Bjorkhem, Meaneu, 2004).

Как уже говорилось, ЛПВП – главные липопротеиды транспорта ХС, необходимого для синтеза стероидных гормонов в стероидогенные клетки. Синтез стероидов у высших животных

обеспечивается на 80–90% за счет ХС, транспортируемого в клетки к месту синтеза. Их синтез начинается еще в период эмбриогенеза в гонадах и надпочечниках и важен для детерминации пола и нормального развития. У млекопитающих стероидогенез происходит также и в плаценте. Вопрос в том, откуда в стероидогенные клетки транспортируется ХС? Поскольку формирующаяся печень зародыша до определенного момента времени еще не является основным источником ХС (как у взрослого организма), то этот вопрос не является праздным. Ведущим моментом в образовании липопротеиновых частиц, транспортирующих ХС, является синтез их белковой основы. Ген главной белковой составляющей ЛПВП – *apoA1* в раннем развитии млекопитающих экспрессируется сначала в желточном мешке, затем в тонком кишечнике и надпочечниках, а позднее в печени; его экспрессия происходит также в мозгу и плаценте (Воробьев, Перевозчиков, 1992; Mockel et al., 1994; Richardson et al., 1996). Поскольку образование апоА-I инициирует и образование функционально активных липопротеиновых частиц высокой плотности, нельзя исключить, что ХС может поставляться в составе ЛПВП к месту синтеза гормонов (к гонадам и надпочечникам) из ближайших районов, где происходит экспрессия гена *apoA1*, а именно из клеток, соседствующих с эмбриональными стероидогенными клетками. Впоследствии, при налаживании транспорта пищевых ресурсов в зародыш из организма матери через плаценту, пупочную артерию и кишечник, а также передачу печени функции кроветворения, основным источником ХС в организме зародыша становится материнский организм (плацента) и собственная печень. Эта рабочая гипотеза взята нами за основу для анализа методом гибридизации *in situ* мест экспрессии гена *apoA1* в эмбриональном развитии человека и мыши. Наши исследования на ранних эмбрионах человека (Воробьев, Перевозчиков, 1992) и предварительные результаты по анализу экспрессии гена *apoA1* у зародышей мыши указывают на возможность формирования частиц ЛПВП в районах раннего стероидогенеза – в зачатках половых желез и надпочечников. Кроме того, экспрессию гена *apoA1* мы наблюдали также в отдельных районах эмбриональной ЦНС человека и эмбрионального головного мозга мышей (Воробьев, Перевозчиков, 1992; Лапиков и др., 2007). Следовательно, формирующиеся районы синтеза стероидных гормонов (зачатки гонад, надпочечников), кластеры стероидогенных клеток (отдельные районы головного мозга), могут на ранних этапах развития, по-видимому, рассматриваться как автономные территории в отношении ресурсов ХС и поставки его к местам синтеза гормонов. Таким образом, ткане- и стадиеспецифическая регуля-

ция экспрессии гена *aroAI* у высших животных может в значительной мере определять начальные этапы образования стероидных гормонов в различных отделах организма (половые железы, надпочечники и мозг).

*Транспорт стеролов у беспозвоночных.* Как уже отмечалось, многие беспозвоночные не способны к синтезу стеролов и потребляют с пищей фунго- или фитостеролы, являющиеся субстратами для синтеза собственных стеролов.

У беспозвоночных более всего изучены липопротеины насекомых – липофорины (Babin et al., 1999; Canovoso et al., 2001; Van der Horst et al., 2002). В отличие от липопротеинов позвоночных их липидная составляющая представлена главным образом диацилглицеролом, жирными кислотами, фосфоинозидами, каратиноидами и стеролами. Липофорины переносят стеролы из кишечника в жировое тело (место хранения липидов) и далее по всему организму. Кроме того, в липофоринах транспортируется и экдизон (а также его производное – 20-гидроксиэкдизон)\*.

Существуют липофорины высокой и низкой плотности (соответственно ЛФВП и ЛФНП). Главными белковыми составляющими ЛФВП и двумя из трех белковых составляющих ЛФНП являются аполипофорины I и II. У взрослых насекомых аполипофорины I и II продуцируются в жировом теле в виде общего предшественника, родственного большему аполипопротеину – апоВ млекопитающих и большой субъединице микросомного триглицеридпереносящего белка человека (Babin et al., 1999). У насекомых также продуцируется еще один аполипофорин с небольшой молекулярной массой – аполипофорин III, кодируемый собственным геном, не гомологичным гену предшественника аполипофоринов I-II и не имеющим также гомологии ни с одним из генов малых аполипопротеинов позвоночных (однако гомологичный гену печеночной липопротеинлипазы) (Van Antwerpen et al., 1998; Halwani et al., 2001). После протеолитического расщепления общего предшественника аполипофорины I и II формируют с липидами липофорины высокой плотности – ЛФВП, которые способны взаимодействовать с клетками (жирового тела) через рецепторы, родственные семейству рецепторов ЛПНП позвоночных – рЛПНП (Van der Horst et al., 2002). Вместе с тем липопротеины насекомого могут поставлять липиды (в частности диацилглицерол как энергетический субстрат) в летательную мышцу насекомого без участия рецептороопосредованного эндоцитоза так, что липофорины высокой плотности, соединяясь с липидированным аполипофорином III, образуют липофорины

низкой плотности – ЛФНП, контактирующие с плазматической мембраной летательной мышцы. При этом сами аполипофорины через плазматическую мембрану не проникают. Диацилглицерол, переносимый по гемолимфе в составе ЛПНП, вблизи поверхности летательной мышцы гидролизует с помощью мышечной липофоринолипазы, после чего освободившиеся жирные кислоты и липиды проникают через плазматическую мембрану в цитоплазму, аполипофорин III диссоциирует с освободившейся липопротеиновой частицей (которая регенерирует в ЛФВП) и обе составляющие возвращаются к жировому телу насекомого, которое служит липидным депо (являясь одновременным аналогом печени и жировой ткани позвоночных) (Van Antwerpen et al., 1998; Canovoso et al., 2001).

Таким образом, аполипофорины являются, по сути, челночными, обменными белками липидного транспорта, чем-то напоминающими обменные аполипопротеины млекопитающих (апоА-I млекопитающих транспортирует ХС в стероидогенные клетки в составе ЛПВП и также, по-видимому, в клетки не проникает) (Narayanaswami, Ryan, 2000; Connelly, Williams, 2003). Интересно, что не имеющие структурной гомологии аполипофорин III и малые аполипопротеины млекопитающих (апоЕ, апоА-I, апоСIII), характеризующиеся упомянутыми обменными свойствами, могут заменять друг друга в искусственных гибридных липопротеиновых частицах. Установлено, что аполипофорин III и апоЕ несут кластеры сходно организованных амфипатных аминокислотных последовательностей в полипептидных структурах, подтверждая их возможное общее функциональное назначение (Fisher et al., 1999; Narayanaswami, Ryan, 2000; Van der Horst et al., 2002; Chetty et al., 2003).

Аполипофорин III насекомых весьма интересен и тем, что в малолипидированной (или в свободной) форме выполняет защитные для организма насекомого функции (начиная с личиночных стадий), предохраняя его от бактериальной или фунгальной инфекции, т.е. играет важную роль во врожденном иммунитете (гуморальном и клеточном) (Niere et al., 1999; Dettlof et al., 2001). Он стимулирует выработку в клетках жирового тела антимикробных пептидов и индуцирует фагоцитарную активность и другие проявления клеточного иммунитета у гемоцитов (Dettlof et al., 2001). В этой связи интересно, что апоА-I млекопитающих, как было недавно установлено, также играет вполне определенную роль в регуляции врожденного иммунитета, взаимодействует с бактериальным эндотоксином и участвует в его детоксификации (Ma et al., 2004).

\* Имеются сведения, что ЛПВП млекопитающих также способны транспортировать стероидные гормоны.

Недавно было показано, что липопротеиновые частицы (липофорины) насекомых принимают участие в регуляции раннего развития *D. melanogaster*. Один из главных морфогенов в развитии дрозодилы белок Hedgehog, обладающий выраженным проксимальным и дистальным действием на клетки-мишени, по крайней мере, один из своих эффектов (дистальный) реализует через липофорины, взаимодействующие с этим морфогеном через ХС, ковалентно присоединяемый к С-концу образующегося в ходе протеолитического созревания биологически активного N-фрагмента Hedgehog (Panakova et al., 2005). Известно также, что Hedgehog (вероятно, тоже благодаря ковалентно связанному с ним ХС) взаимодействует с рафтами клеточных мембран дрозодилы, что может соответствовать его известному “проксимальному” эффекту в качестве морфогена (Rietveld et al., 1999).

Интересно, что у *C. elegans*, у которой не найдено активного аналога Hedgehog дрозодилы, тем не менее обнаружено десять генов, кодирующих белки, имеющие С-концевые районы, сходные с таковыми процессированного Hedgehog (Aspöck et al., 1999). Несмотря на отсутствие каких-либо сообщений о факте присоединения ХС к таким белкам нематоды, было установлено, что один из них играет важную роль в регуляции личинки (Kurzchalia, Ward, 2003).

Липопротеиновые частицы дрозодилы могут также специфически взаимодействовать и с другим важным морфогеном (семейства Wnt) – Wingless, но уже через остаток пальмитиновой кислоты, сцепленной ковалентно с N-концом белка. Остаток пальмитиновой кислоты также соединен с N-концом белка Hedgehog, что обеспечивает его дополнительное взаимодействие с липофорином (Panakova et al., 2005). Внутриклеточный пальмитилированный Wingless может включаться в состав рафтов (у дрозодилы), что, по-видимому, обеспечивает возможность его дальнейшей секреции и функционирования как морфогена (Zhai et al., 2004).

*Транспорт стеролов и стероидных гормонов в ооциты и вителлогенез.* Важность стеролов (и стероидов), запасаемых в ооците, трудно переоценить. Без сомнения, стеролы, так же как и другие липиды, необходимы для построения мембран растущего зародыша. Ооциты высших насекомых содержат большие запасы липидов (до 40% сухого веса), которые пополняются главным образом с помощью липофоринов. Более 90% липидов доставляются к фолликулам в виде ЛФНП, где до 90% диацилглицерола, по-видимому, расщепляется фолликулярной липопротеинлипазой и затем адсорбируется ооцитом, а оставшаяся часть липидов в ассоциации с процессированны-

ми липазой ЛФОВП (липофорины очень высокой плотности) поглощается ооцитом с помощью эндоцитоза и хранится в составе упомянутых липофоринов в связанном с желтком виде. Кроме того, имеются определенные данные о запасании стероидных гормонов в ходе оогенеза как у позвоночных, так и беспозвоночных.

Ярким примером запасания стеролов (а также фосфолипидов) в ооцитах животных является доставка их в комплексе с белками желтка. Вителлогенин – высоко консервативный крупный гликозилированный и фосфорилированный белок, образующий комплекс с липидами (гликофосфопротеолипид) (Chen et al., 1997). Вителлогенин вырабатывается в жировом теле у насекомых, в гепатопанкреасе у ракообразных, в фолликулярных клетках целого ряда беспозвоночных (включая насекомых), в печени (или в фолликулярных клетках) у позвоночных, транспортируется в комплексе с липидами к ооцитам, а затем поглощается ооцитами с помощью мембранных рецепторов – представителей суперсемейства рЛПНП (Schonbaum et al., 1995; Sappington et al., 1996). У многих беспозвоночных и позвоночных (за исключением высших насекомых и млекопитающих) вителлогенин – основной предшественник белков желтка, при расщеплении которого образуются два разных по размерам желточных белка (вителлины) ооцитов. У значительной части представителей насекомых гены вителлогенина и предшественника аполипофоринов I, II проявляют гомологию между собой и сходны с геном *apoV* позвоночных, они также гомологичны, правда в меньшей степени, некоторым белкам системы свертывания крови млекопитающих – фактору фон Виллебранда (von Willebrand factor) (Babin et al., 1999; Sappington, 2002).

У кровососущих высших насекомых (москиты) вместо вителлогенина происходит образование особого желточного белка в жировом теле, что целиком определяется поступлением в организм белков крови хозяина (Attardo et al., 2005). Аналогичная ситуация наблюдается и у клещей.

У других высших насекомых (Diptera) вителлогенин также не продуцируется (ген вителлогенина в геноме отсутствует), а его заменяют так называемые “белки желтка” (yolk proteins – Yp1, Yp2, Yp3), весьма сходные с липопротеинлипазой позвоночных, однако не проявляющие присущей ей ферментативной активности (White, Bownes, 1997; Sappington, 2002). Эти же белки в качестве минорных компонентов входят в состав белков желтка ооцитов тех насекомых, которые продуцируют вителлогенин (Sappington, 2002). Поглощение белков желтка ооцитами насекомых осуществляется с помощью мембранных рецепторов, гомологичных рецептору вителлогенина и соответственно рецепторам суперсемейства

рЛПНП позвоночных (Schonbaum et al., 1995). Регуляция вителлогенеза у насекомых (по всей вероятности, и у других членистоногих) осуществляется под контролем стероидных гормонов – экдизоидов, доставляемых к местам продукции вителлогенина или его аналогов (жировое тело, фолликулярные клетки) также в составе липофиринов. Кроме того, экдизоиды могут, по-видимому, запасаться и ооцитом в процессе вителлогенеза высших насекомых.

В ходе оогенеза позвоночных в ооциты наряду с вителлогенином в качестве транспортеров липидов поступают и липопротеиновые частицы (ЛПОНП), причем для эндоцитоза используются одни и те же рецепторы (суперсемейства рЛПНП) (Schneider, 1992; Jacobsen et al., 1995). У плацентарных млекопитающих (Eutheria), не продуцирующих вителлогенин, основным поставщиком липидов (включая ХС) из материнского организма в ранние зародыши, по-видимому, являются липопротеиновые частицы – ЛПВП плаценты (содержащие апоА-I), поглощаемые клетками зародыша с помощью эндоцитоза также благодаря рецептору суперсемейства рЛПНП кубилину (Kozyraki, 2001; Rothchild, 2003).

В последнее время появились данные о важной роли желточных стероидных гормонов в регуляции пола у позвоночных. У пресмыкающихся и птиц с желтком яиц наряду с ХС ассоциированы также и некоторые половые стероидные гормоны. Поскольку они обнаруживаются еще в неоплодотворенных яйцах на заключительном этапе вителлогенеза, есть основания считать, что они материнского происхождения и попадают в ооцит в ходе оогенеза (Lipar, Ketterson, 2000; Lovern, Wide, 2003). Распределение стероидных половых гормонов в различных ооцитах имеет неслучайный характер и, как полагают некоторые авторы, связано с формированием пола не только у рептилий с температурной регуляцией пола, но и у животных с генетической детерминацией пола. У ящерицы *Anolis carolinensis* с генетической детерминацией пола у яиц, из которых развиваются самцы, тестостерон ассоциирован с желтком в большей степени, чем у яиц, из которых развиваются самки животных (Lovern, Wide, 2003).

Заканчивая обзор о роли стеролов и систем их транспорта в развитии животных можно отметить следующее.

1. В целом прослеживается четкая эволюционная тенденция: постепенно из всего множества разнообразных стеролов, входящих в состав тканей многоклеточных животных, ХС (начиная с хордовых беспозвоночных) становится главным, а затем и единственным (у позвоночных) стеролом. Позвоночные способны синтезировать ХС в достаточных количествах, им нет необходимости потреблять его с пищей. ХС является структур-

ным материалом для синтеза клеточных мембран и субстратом для синтеза стероидных гормонов, необходимых для регуляции репродуктивных и других жизненно важных функций организма.

2. У беспозвоночных существует множество разнообразных стеролов, некоторые из которых могут синтезироваться в организме, но большая их часть – это модификация пищевых фито- или фунгостеролов. У целого ряда беспозвоночных синтеза стеролов *de novo* вовсе не происходит (у нематод, насекомых), а источник стеролов организма – пища; пищевые стеролы затем могут модифицироваться для нужд организма (например, из фито- или фунгостеролов у насекомых в результате деалкилирования образуется ХС – субстрат для синтеза стероидного гормона экдизона).

3. Вследствие небольшого содержания в клетках беспозвоночных стеролов вряд ли они играют значительную структурную роль в клеточных мембранах. Стероиды служат пластическим материалом, существенным для мембран лишь некоторых типов (поляризованных) клеток. Вместе с тем подвижные микродомены мембран (рафты) нельзя рассматривать как исключительно структурные образования. Роль рафтов в сигналинге эукариот еще предстоит оценить, а наличие стеролов в составе рафтов беспозвоночных животных – функционально охарактеризовать. В связи с этим представляется, что в эволюционном плане сигнальная функция стеролов предшествовала становлению структурной. Одно из важных свойств стеролов беспозвоночных – служить субстратом для синтеза стероидов, как присущих собственно беспозвоночным (членистоногим), так и, возможно, аналогичных стероидным гормонам позвоночных.

4. Окисленные варианты стеролов являются биологически активными молекулами (в избытках подлежащие немедленному выведению из организма) и могут использоваться в процессах физиологической деятельности организма как сигнальные молекулы. Ядерные рецепторы, активируемые окисленными стеролами как лигандами, или/и их функциональные аналоги принимают активное участие в регуляции баланса стеролов в организме и в репродуктивных процессах. Сами стеролы (ХС) используются как субстрат для синтеза стероидных гормонов (специфических окистеролов).

5. Эволюция спектра стероидных гормонов у позвоночных, важных для репродуктивной активности и детерминации пола, отражена в эволюции их рецепторов, функции генов которых эволюционно закрепляются в направлении, обратном направлению цепочки биохимических превращений этих гормонов (от эстрогена к прегненолону).

6. Липопротеиновые частицы беспозвоночных, служащие основным средством транспорта

липидов (не исключая стероиды), играют также важную роль в регуляции развития, перенося морфогены (Hedgehog, Wingless) к местам их функционирования.

7. У позвоночных в сравнении с беспозвоночными спектр липопротеинов, ответственных за внеклеточный транспорт стеролов, расширяется, а отдельные классы липопротеинов функционально специализируются, например, появляется возможность регуляции синтеза стероидных гормонов на уровне активности аполипопротеина А-I – главного белка липопротеинов высокой плотности.

8. Стероиды запасаются в ходе вителлогенеза в ооцитах, поступая в них в составе липопротеиновых частиц и в комплексе с вителлогенином через рецепторы суперсемейства рЛПНП. В случае плацентарных млекопитающих транспорт ХС из плаценты в зародыш осуществляется также в составе липопротеиновых частиц. Как для беспозвоночных, так и для позвоночных показана возможность запасания стероидных гормонов в яйцеклетке.

Автор глубоко признателен А.Д. Денисенко, А.К. Дондуа, Б.В. Миссюлю и С.В. Орлову за критические замечания и ценные пожелания, высказанные по ходу подготовки рукописи к печати, а Д.П. Канайкину и Д.А. Могиленко – за помощь в подготовке иллюстративного материала.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М.: Медицина, 2004. 704 с.
- Бондаренко Л.В., Лучникова Е.М., Инге-Вечтомов С.Г. Влияние на плодовитость самок дрозофилы метаболизма стероидов в эколого-генетической системе дрожжи-дрозофила // Онтогенез. 1989. Т. 20. С. 141–148.
- Воробьев Е.В., Перевозчиков А.П. Исследование экспрессии гена аполипопротеина А-I на ранних стадиях эмбриогенеза человека методом гибридизации *in situ* // Там же. 1992. Т. 23. С. 469–478.
- Еляков Г.Б., Стоник В.А. Стероиды морских организмов / Под ред. Камерницкого А.В. М.: Наука, 1988. 208 с.
- Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. Руководство для врачей. СПб.: Питер, 1999. 500 с.
- Лапиков И.А., Виленская Е.Г., Орлов С.В., Перевозчиков А.П. Возможное участие продуктов экспрессии гена аполипопротеина А-I в формировании стероидогенных клеток в ходе морфогенеза головного мозга зародышей мышей C57Bl/6 // Матер. симпозиум. “Клеточные, молекулярные и эволюционные аспекты морфогенеза” / Под ред. Белоусова Л. В. М.: Тов-во науч. изданий КМК, 2007. С. 104–106.
- Лутова Л.А., Левашина Е.А., Бондаренко Л.В. и др. Мутанты высших растений по биосинтезу стероидов // Генетика. 1992. Т. 28. С. 129–136.
- Савицкий В.В., Лучникова Е.М., Инге-Вечтомов С.Г. Влияние метаболизма стероидов в системе дрожжи-дрозофила на частоту радиационно-индуцированной анеуплоидии в ооцитах *Drosophila melanogaster* // Там же. 1985. Т. 21. С. 1135–1142.
- Anderson H.A., Hitbold E.M., Roche P.A. Concentration of MHC class II molecules in lipid rafts facilitates antigen presentation // Nat. Immunol. 2000. V. 1. P. 156–162.
- Antonio V., Janvier B., Brouillet A. et al. Oxysterol and 9-cis-retinoic acid stimulate the group IIA secretory phospholipase A2 gene in rat smooth-muscle cells // Biochem. J. 2003. V. 376. P. 351–360.
- Ashrafi K., Chang F.Y., Watts J.L. et al. Genome-wide RNAi analysis of *Caenorhabditis elegans* fat regulatory genes // Nature. 2003. V. 421. P. 220–221.
- Aspöck G., Kagoshima H., Niklaus G., Burglin T.R. *Caenorhabditis elegans* has scores of hedgehog-related genes: sequence and expression analysis // Genome Res. 1999. V. 9. P. 909–923.
- Attardo G.M., Hansen I.A., Raikhel A.S. Nutritional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: Implications for anaerobiosis // Insect Biochem. Mol. Biol. 2005. V. 35. P. 661–675.
- Babin P.J., Thisse C., Durliat M. et al. Both apolipoprotein E and A-I genes are present in a nonmammalian vertebrate and are highly expressed during embryonic development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 8622–8627.
- Babin P.J., Bogerd J., Kooiman F.P. et al. Apolipoprotein II/I, apolipoprotein B, vitellogenin, and microsomal triglyceride transfer protein genes are derived from a common ancestor // J. Mol. Evol. 1999. V. 49. P. 150–160.
- Baker M.E. Adrenal and sex steroid receptor evolution: environmental implications // J. Mol. Endocrinol. 2001. V. 26. P. 119–125.
- Baker M.E. Evolution of adrenal and sex steroid action in vertebrates: a ligand-based mechanism for complexity // BioEssays. 2003. V. 25. P. 396–400.
- Belles X., Martin D., Piulachs M.-D. The mevalonate pathway and the synthesis of juvenile hormone in insects // Ann. Rev. Entomol. 2005. V. 50. P. 181–199.
- Biggio G., Purdy R., Bradley R. et al. Neurosteroids and brain function, 46. San Diego: Academic Press, 2002. 288 p.
- Bjorkhem I., Diczfalusi U. Oxysterols: friends, foes or just fellow passengers? // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2002. V. 22. P. 734–742.
- Bjorkhem I., Meaney S. Brain cholesterol: secret life behind a barrier // Ibid. 2004. V. 24. P. 806–815.
- Brown A.J., Sun L., Feramisco J.D. et al. Cholesterol addition to ER membranes alters conformation of SCAP, the SREBP escort protein that regulates cholesterol metabolism // Mol. Cell. 2002. V. 10. P. 237–245.
- Buszczak M., Freeman M.R., Carlson J.R. et al. Ecdysone response genes govern egg chamber development during midoogenesis in *Drosophila* // Development. 1999. V. 126. P. 4581–4589.

- Canavoso L.E., Jouni Z.E., Karnas K.J. et al. Fat metabolism in insects // *Ann. Rev. Nutr.* 2001. V. 21. P. 23–46.
- Ceramide signaling pathway // [www.biocarta.com/pathfiles/m\\_ceramidePathway.asp](http://www.biocarta.com/pathfiles/m_ceramidePathway.asp). 2006.
- Chen J.-S., Sappington T.W., Raikhel A.S. Extensive sequence conservation among insect, nematode, and vertebrate vitellogenins reveals ancient common ancestry // *J. Mol. Evol.* 1997. V. 44. P. 440–451.
- Chetty P.S., Arrese E.L., Rodriguez V., Soulages J.L. Role of helices and loops in the ability of apolipoprotein III to interact with native lipoproteins and form discoidal lipoprotein complexes // *Biochemistry*. 2003. V. 42. P. 15061–15067.
- Chitwood D.J. Biochemistry and function of nematode sterols // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1999. V. 34. P. 273–284.
- Christie W.W. Sterols and sterol esters: structure, occurrence, biochemistry and analysis // [www.lipidlibrary.co.uk/Lipids/sterols](http://www.lipidlibrary.co.uk/Lipids/sterols). 2005.
- Connelly M.A., Williams D.L. SR-BI and cholesterol uptake into steroidogenic cells // *Trends Endocrinol. Metabol.* 2003. V. 14. P. 467–472.
- Coppens I., Courtoy P.J. The adaptative mechanisms of *Trypanosoma brucei* for sterol homeostasis in its different life-cycle environments // *Ann. Rev. Microbiol.* 2000. V. 54. P. 129–156.
- Crestani M., De Fabiani E., Caruso D. et al. LXR (liver X receptor) and HNF-4 (hepatocyte nuclear factor-4): key regulators in reverse cholesterol transport // *Biochem. Soc. Trans.* 2004. V. 32. P. 92–96.
- Crowder C.M., Westover E.J., Kumar A.S. et al. Enantiospecificity of cholesterol function *in vivo* // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 44369–44372.
- DeFur P. Use and role of invertebrate models in endocrine disruptor research and testing // *ILAR J.* 2004. V. 45. P. 484–493.
- Dettlof M., Wittwer D., Weise C., Wiesner A. Lipophorin of lower density is formed during immune responses in the lepidopteran insect *Galleria mellonella* // *Cell Tiss. Res.* 2001. V. 306. P. 449–458.
- Di Cosmo A., Di Cristo C., Paolucci M. A estradiol-17 $\beta$  receptor in the reproductive system of the female of *Octopus vulgaris*: characterization and immunolocalization // *Mol. Reprod. Devel.* 2002. V. 61. P. 367–375.
- Dobrosotskaya I.Y., Seegmiller A.C., Brown M.S. et al. Regulation of SREBP processing and membrane lipid production by phospholipids in *Drosophila* // *Science*. 2002. V. 296. P. 879–883.
- Escriva H., Safi R., Hanni C. et al. Ligand binding was acquired during evolution of nuclear receptors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 6803–6808.
- Falender A.E., Lanz R., Malenfant D. Differential expression of steroidogenic factor-1 and FTF/LRH-1 in the rodent ovary // *Endocrinology*. 2003. V. 144. P. 3598–3610.
- Fayard E., Auwerx J., Schoonjans K. LRH-1: an orphan nuclear receptor involved in development, metabolism and steroidogenesis // *Trends Cell Biol.* 2004. V. 14. P. 250–260.
- Feldlaufer M.F., Svoboda J.A., Aldrich J.R., Lusby W.R. The neutral sterols of *Megalotomus quinquespinosus* (say) (Hemiptera: Alydidae) and identification of makisterone as the major free ecdysteroid // *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 2005. V. 3. P. 423–430.
- Fisher C.A., Kiss R.S., Francis G.A. et al. Human apolipoprotein E N-terminal domain displacement of apolipoprotein III from insect low density lipoprotein create a receptor – competent hybrid lipoprotein // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 1999. V. 122. P. 447–451.
- Gargile N.L., McChesney J.D. Microbiological sterol conversions: utilization of selected mutants // *Appl. Microbiol.* 1974. V. 27. P. 991–994.
- Gilbert S. Developmental biology. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2003. 859 p.
- Goad L.J. Sterol biosynthesis and metabolism in marine invertebrates // *Pure Appl. Chem.* 1981. V. 51. P. 837–852.
- Halwani A.E., Niven D.F., Dunph G.B. Apolipoprotein III in the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2001. V. 48. P. 135–143.
- Helms J.B., Zurzolo C. Lipids as targeting signals: Lipid rafts and intracellular trafficking // *Traffic*. 2004. V. 5. P. 247–254.
- Hu X., Lala D.S. Liver X receptors // *Curr. Med. Chem. Immun. Endocrinol. Metab. Agents*. 2002. V. 2. P. 49–55.
- Ishii T., Hasegawa T., Pai C.-I. et al. The roles of circulating high-density lipoproteins and trophic hormones in the phenotype of knockout mice lacking the steroidogenic acute regulatory protein // *Mol. Endocrinol.* 2002. V. 16. P. 2297–2309.
- Jacobsen L., Hermann M., Vieira P.M. et al. The chicken oocyte receptor for lipoprotein deposition recognizes  $\alpha_2$ -macroglobulin // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 6468–6475.
- Kanazawa A. Sterols in marine invertebrates // *Fish. Sci.* 2001. V. 67. P. 997–1007.
- Kozyraki R. Cubilin, a multifunctional epithelial receptor: an overview // *J. Mol. Med.* 2001. V. 79. P. 161–167.
- Krauss G. Biochemistry of signal transduction and regulation. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. 542 p.
- Kurzchalia T.V., Ward S. Why do worms need cholesterol? // *Nat. Cell Biol.* 2003. V. 5. P. 684–688.
- Lala D., Syka P.M., Lazarchik S. et al. Activation of the orphan nuclear receptor steroidogenic factor 1 by oxysterols // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 4895–4900.
- Lee C.S., Han J.H., Kim B.S. et al. Wax moth, *Galleria mellonella*, high density lipophorin receptor: alternative splicing, tissue-specific expression, and developmental regulation // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2003. V. 33. P. 761–771.
- Leyton L., Quest A.F.G. Supramolecular complex formation in cell signaling and disease: an update on a recurrent theme in cell life and death // *Biol. Res.* 2004. V. 37. P. 29–43.
- Li X.-M., Momsen M.M., Brockman H.L., Brown R.E. Sterol structure and sphingomyelin acyl chain length modulate lateral packing elasticity and detergent solubility in model membranes // *Biophys. J.* 2003. V. 85. P. 3788–3801.
- Lipar J.L., Ketterson E.D. Maternally derived yolk testosterone enhances the development of the hatching muscle in the red-winged blackbird *Agelaius phoeniceus* // *Proc. R. Soc. L. B.* 2000. V. 267. P. 2005–2010.

- Lovern M.B., Wade J. Sex steroids in green anoles (*Anolis carolinensis*): uncoupled maternal plasma and yolk follicle concentrations, potential embryonic steroidogenesis, and evolutionary implications // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2003. V. 134. P. 109–115.
- Luo Y., Liang C.-P., Tall A.R. The orphan nuclear receptor LRH-1 potentiates the sterol-mediated induction of the human *CETP* gene by liver X receptor // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 27. P. 24767–24773.
- Ma J., Liao X.-L., Lou B., Wu M.-P. Role of apolipoprotein A-I in protecting against endotoxin toxicity // *Acta Biochim. Biophys. Sinica.* 2004. V. 36. P. 419–424.
- Malerod L., Sporstol M., Juvet L.K. et al. Bile acids reduce SR-BI expression in hepatocytes by a pathway involving FXR/RXR, SHP, and LRH-1 // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2005. V. 336. P. 1096–1105.
- Mandelson C.R., Jiang B., Shelton J.M. et al. Transcriptional regulation of aromatase in placenta and ovary // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2005. V. 95. P. 25–33.
- Maurer P., Royer C., Mauchamp B. et al. Occurrence of 28- and 27-Carbon ecdysteroids and sterols in developing worker pupae of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (reich) (Hymenoptera, formicidae: Attini) // *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 2005. V. 16. P. 1–9.
- McKay R.M., McKay J.P., Avery L., Graf J.M. *C. elegans*: a model for exploring the genetics of fat storage // *Devel. Cell.* 2003. V. 4. P. 131–142.
- Mellon S.H., Griffin L.D., Compagnone N.A. Biosynthesis and action of neurosteroids // *Brain Res. Rev.* 2001. V. 37. P. 3–12.
- Merris M., Kraeft J., Tint G.S., Lenard J. Long-term effect of sterol depletion in *C. elegans*: sterol content of synchronized wild-type and mutant population // *J. Lipid Res.* 2004. V. 45. P. 2044–2051.
- Mockel B., Zinke H., Flash R. et al. Expression of apolipoprotein A-I in porcine brain endothelium *in vitro* // *J. Neurochem.* 1994. V. 62. P. 788–798.
- Nakamura C.V., Waldow L., Pelegrinello S.R. et al. Fatty acid and sterol composition of three phytomonas species // *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1999. V. 94. P. 519–525.
- Narayanaswami V., Ryan R.O. Molecular basis of exchangeable apolipoprotein function // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1483. P. 15–36.
- Niere M., Meisslitzer C., Dettloff M. et al. Insect immune activation by recombinant *Galleria mellonella* apolipoprotein III(1) // *Ibid.* 1999. V. 1433. P. 16–26.
- Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U. Endocrine disruption in invertebrates // *Pure Appl. Chem.* 2003. V. 75. P. 2207–2218.
- Ohno S. The one-to-four rule and paralogues of sex-determining genes // *Cell. Mol. Life Sci.* 1999. V. 55. P. 824–830.
- Olefsky J. Nuclear receptors // *Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 36863–36864.
- Pagler T.A., Rhode S., Neuhofer A. et al. SR-BI-mediated high density lipoprotein (HDL) endocytosis leads to HDL resecretion facilitating cholesterol efflux // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 11193–11204.
- Panakova D., Sprong H., Marois E. Lipoprotein particles are required for Hedgehog and Wingless signaling // *Nature.* 2005. V. 435. P. 58–65.
- Paolucci M., Di Cristo C., Di Cosmo A. Immunological evidence for progesterone and estradiol receptors in the freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes* // *Mol. Reprod. Devel.* 2002. V. 63. P. 55–62.
- Parker M.G. Steroid hormone action (frontiers in molecular biology). Oxford: Univer. Press, 1993. 230 p.
- Parker K.L., Schimmer B.P., Schedl A. Genes essential for early events in gonadal development // *Cell. Mol. Life Sci.* 1999. V. 55. P. 831–838.
- Pernet V., Ancil M. Annual variations and sex-related differences of estradiol-17b levels in the anthozoan *Renilla koelikeri* // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2002. V. 129. P. 63–68.
- Pezzi V., Sirianni R., Chimento A. et al. Differential expression of steroidogenic factor-1 / adrenal 4 binding protein and liver receptor homolog-1 (LRH-1)/fetoprotein transcription factor in the rat testis: LRH-1 as a potential regulator of testicular aromatase expression // *Endocrinology.* 2004. V. 145. P. 2186–2196.
- Pike L.J. Lipid rafts: heterogeneity on the high seas // *Biochem. J.* 2004. V. 378. P. 281–292.
- Plump A.S., Erickson S.K., Weng W. et al. Apolipoprotein A-I is required for cholesteryl ester accumulation in steroidogenic cells and for normal adrenal steroid production // *J. Clin. Invest.* 1996. V. 97. P. 2660–2671.
- Ponamarenko L.P., Kalinovskiy A.I., Moiseenko O.P., Stonik V.A. Free sterols from the holoturians *Synapta maculata*, *Cladolabes bifurcatus* and *Cucumaria* sp. // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 2001. V. 128. P. 53–62.
- Pontes M., Xu X., Graham D. et al. cDNA sequences of two apolipoproteins from lamprey // *Biochemistry.* 1987. V. 26. P. 1611–1617.
- Richardson B., Palgunachari M.N., Anantharamaiah G.M. et al. Human placental tissue expresses a novel 22.7 kDa apolipoprotein A-I-like protein // *Ibid.* 1996. V. 35. P. 7580–7585.
- Rietveld A., Neutz S., Simons K., Eaton S. Association of sterol- and glycosylphosphatidylinositol-linked proteins with *Drosophila* raft lipid microdomains // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 12049–12054.
- Rodriguez-Boulan E., Kreitzer G., Musch A. Organization of vesicular trafficking in epithelia // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2005. V. 6. P. 233–247.
- Roepke T.A., Snyder M.J., Cherr G.N. Estradiol and endocrine disrupting compounds adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations // *Aquat Toxicol.* 2005. V. 71. P. 155–173.
- Roth G.E., Gierl M.S., Vollborn L. et al. The *Drosophila* gene *Start1*: a putative cholesterol transporter and key regulator of ecdysteroid synthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. P. 1601–1606.
- Rothchild I. The yolkless egg and the evolution of eutherian viviparity // *Biol. Reprod.* 2003. V. 68. P. 337–357.
- Rusinol A.E., Thewke D., Liu J. et al. AKT/protein kinase B regulation of BCL family members during oxysterol-induced apoptosis // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 1392–1399.



- Sappington T.W.* The major yolk proteins of higher *Diptera* are homologs of a class of minor yolk proteins in *Leptodoptera* // *J. Mol. Evol.* 2002. V. 55. P. 470–475.
- Sappington T.W., Kokoza V.A., Cho W.-L., Raikhel A.S.* Molecular characterization of the mosquito vitellogenin receptor reveals unexpected high homology to the *Drosophila* yolk protein receptor // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 8934–8939.
- Sato S., Ikekawa N., Kanazawa A., Ando I.* Identification of 23-demethylacanthasterol in an asteroid, *Acanthaster planci* // *Steroid.* 1980. V. 36. P. 65–71.
- Scheel J., Srinivasan J., Honnert U. et al.* Involvement of caveolin-1 in meiotic cell-cycle progression in *Caenorhabditis elegans* // *Nat. Cell Biol.* 1999. V. 1. P. 127–129.
- Schneider W.J.* Lipoprotein receptor in oocyte growth // *Clin. Investig.* 1992. V. 70. P. 380–390.
- Schoenmakers H.J.N., Dieleman S.J.* Progesterone and estrone levels in the ovaries, pyloric ceca, and perivisceral fluid during the annual reproductive cycle of starfish, *Asterias rubens* // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1981. V. 43. P. 63–70.
- Schonbaum C.P., Lee S., Mahowald A.P.* The *Drosophila* yolkless gene encodes a vitellogenin receptor belonging to the low density lipoprotein receptor superfamily // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. P. 1485–1489.
- Schoonjans K., Annicotte J.-S., Huby T. et al.* Liver receptor homolog 1 controls the expression of scavenger receptor class B type 1 // *EMBO Rep.* 2002. V. 3. P. 1181–1187.
- Schroepfer G.J.* Oxysterols: modulators of cholesterol metabolism and other processes // *Physiol. Rev.* 2000. V. 80. P. 361–554.
- Seegmiller A.C., Dobrosotskaya I.Y., Goldstein J.L. et al.* The SREBP pathway in *Drosophila*: regulation by palmitate, not sterols // *Devel. Cell.* 2002. V. 2. P. 229–238.
- Shibuya K., Takata N., Hojo Y. et al.* Hippocampal cytochrome P450s synthesize brain neurosteroids which are paracrine neuromodulators of synaptic signal transduction // *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. V. 1619. P. 301–316.
- Shimano H.* Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes // *Prog. Lipid Res.* 2001. V. 40. P. 439–452.
- Shobayashi M., Mitsueda S., Ago M. et al.* Effects of culture conditions on ergosterol biosynthesis by *Saccharomyces cerevisiae* // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005. V. 69. P. 2381–2388.
- Shubina L.K., Moskovkina T.V., Stonik V.A., Elyakov G.B.* Steroid alcohols from the ascidian *Halocynthia aurantium* // *Chem. Natl. Comp.* 1982. V. 17. P. 418–422.
- Slantchev K., Yalcin F., Ersoz T. et al.* Composition of lipophilic extracts from two tunicates, *Styela* sp. and *Phallusia* sp. from the eastern mediterranean // *Z. Naturforsch.* 2002. V. 57. P. 534–540.
- Smith M., Zahnley J., Pfeifer D., Goff D.* Growth and cholesterol oxidation by *Mycobacterium* species in Tween 80 medium // *Appl. Environ. Microbiol.* 1993. V. 59. P. 1425–1429.
- Soccio R.E., Breslow J.L.* StAR-related lipid transfer (START) proteins: mediators of intracellular lipid metabolism // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 22183–22186.
- Tarrant A.M.* Endocrine-like signaling in *Cnidarians*: Current understanding and implications for ecophysiology // *Integrat. Comp. Biol.* 2005. V. 45. P. 202–214.
- Temperature-dependent sex determination in vertebrates / Eds Valenzuela N., Lance V. Washington: Smithsonian books, 2004. 304 p.
- Thornton J.W., Need E., Crews D.* Resurrecting the ancestral steroid receptor: ancient origin of estrogen signaling // *Science.* 2003. V. 301. P. 1714–1717.
- Thummel C.S., Chory J.* Steroid signaling in plants and insects – common themes, different pathways // *Genes Devel.* 2002. V. 16. P. 3113–3129.
- Tsuguchika K.* Pathways and networks of nuclear receptors and modeling of syndrome X // *Chem.-BioInform. J.* 2003. V. 3. P. 130–156.
- Tsukimura B.* Crustacean vitellogenesis: its role in oocyte development // *Amer. Zool.* 2001. V. 41. №. 3. P. 465–476.
- Val P., Lefrançois-Martinez A.-M., Veysierre G., Martinez A.* SF-1 a key player in the development and differentiation of steroidogenic tissues // *Nucl. Recept.* 2003. V. 1. P. 1–23.
- Van Antwerpen R., Salvador K., Tolman K., Gentry C.* Uptake of lipids by developing oocytes of the hawkmoth *Manduca sexta*. The possible role of lipoprotein lipase // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1998. V. 28. P. 399–408.
- Van der Geize R., Hessels G.I., van Gerwen R. et al.* Targeted disruption of the *kstD* gene encoding a 3-ketosteroid D1-dehydrogenase isoenzyme of *Rhodococcus erythropolis* strain SQ1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. V. 66. P. 2029–2036.
- Van der Horst D.J., van Hoof D., van Marrewijk W.J.A., Rodenburg K.W.* Alternative lipid mobilization: The insect shuttle system // *Mol. Cell. Biochem.* 2002. V. 239. P. 113–119.
- Wagner B.L., Valledor A.F., Chao G. et al.* Promoter-specific roles for liver X receptor / corepressor complexes in the regulation of ABCA1 and SREBP1 gene expression // *Mol. Cell. Biol.* 2003. V. 23. P. 5780–5789.
- White N.M., Bownes M.* Cloning and characterization of three *Musca domestica* yolk protein genes // *Insect Mol. Biol.* 1997. V. 6. P. 329–341.
- Xu X., Bittman R., Duportail G. et al.* Effect of the structure of natural sterols and sphingolipids on the formation of ordered sphingolipid / sterol domains (rafts). Comparison of cholesterol to plant, fungal, and disease-associated sterols and comparison of sphingomyelin, cerebrosides, and ceramide // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 33540–33546.
- Xu F., Rychnovsky S.D., Belani J.D. et al.* Dual roles for cholesterol in mammalian cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 14551–14556.
- Zhai L., Chaturvedi D., Cumberledge S.* *Drosophila* wnt-1 undergoes a hydrophobic modification and is targeted to lipid rafts, a process that requires porcupine // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 33220–33227.
- Zhang Y., Mills C.L., Nair M.G.* Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant compounds from the mycelia of the edible mushroom *Grifola frondosa* // *J. Agric. Food Chem.* 2002. V. 50. P. 7581–7585.
- Zurzolo C., van Meer G., Major S.* The order of rafts // *EMBO Rep.* 2003. V. 4. P. 1117–1121.



## **Sterols and Their Transport in Animal Development**

**A. P. Perevozchikov**

*Research Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences,  
ul. akademika Pavlova 12, St. Petersburg, 197376 Russia*

*St. Petersburg State University, Universitetskaya nab. 7/9, St. Petersburg, 199034 Russia  
e-mail: ipp@iem.sp.ru*

**Abstract**—The cellular content of different sterols in invertebrates and vertebrates as well as their origin (endogenous and food sources) and significance for the life cycle are comparatively reviewed. The initial signaling role of sterols in the vital activity (in all multicellular animals) and later obligatory incorporation of certain sterols in cell membranes as a plastic components (in vertebrates) are proposed based on the presented data.

*Key words:* sterols, cholesterol, sterol transport, steroid hormones, sterol receptors, apolipoporphins, apolipoproteins, development of invertebrates and vertebrates.