

## РОЛЬ ОРГАНЕЛЛ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ У ЖИВОТНЫХ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

*Е.К. Шематорова<sup>1</sup>, И.Ю. Словохотов<sup>1</sup>, Е.Н. Баранова<sup>2</sup>, М.Р. Халилуев<sup>2</sup>,  
О.Г. Бабак<sup>3</sup>, В.Н. Клыков<sup>1</sup>, Д.Г. Шпаковский<sup>1</sup>, С.Г. Спивак<sup>3,4</sup>, Г.В. Шпаковский<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, e-mail: gvs@ibch.ru

<sup>2</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной  
биотехнологии», Москва, e-mail: marat131084@rambler.ru

<sup>3</sup>Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,  
Минск, Беларусь, e-mail: babak\_olga@mail.ru

<sup>4</sup>Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск, Беларусь, e-mail: Sve\_spivak@mail.ru

Гормональные функции стероидов как особого класса химических соединений и основные пути их биосинтеза были вначале выяснены у животных. Биосинтез стероидных гормонов в организме млекопитающих включает окислительное расщепление боковой цепи холестерина с последующим регио- и стереоселективным гидрокселированием, которое осуществляется цитохромами P450 – P450<sub>sc</sub>, P450<sub>c17</sub>, P450<sub>c21</sub>, P450<sub>c11</sub>, P450<sub>c18</sub> и P450<sub>c19</sub> [Payne and Hales, 2004; Miller, 2013]. Этапом, лимитирующим скорость стероидогенеза, является доставка холестерина к внутренней мембране митохондрий – процесс, контролируемый целым рядом белковых факторов [Sewer et al., 2007]. Согласно классической схеме стероидогенеза у животных, ключевую роль в биосинтезе стероидных гормонов играет цитохром P450<sub>sc</sub> (от англ. «side chain cleavage»), который локализован во внутренней мембране митохондрий клеток стероидогенных тканей (прежде всего, коры надпочечников) и, с участием двух других компонентов митохондриальной электронтранспортной цепи, аденодоксина (Ad) и аденодоксинредуктазы (AdR), катализирует реакции 22- и 20-гидрокселирования и реакцию расщепления связи C20–C22 с удалением боковой цепи холестерина и превращением его в прегненолон – общий предшественник всех стероидных гормонов животных. Образовавшийся прегненолон, являющийся прогормоном, покидает митохондрии и попадает в эндоплазматический ретикулум. Здесь дальнейшие стадии стероидогенеза катализируют P450<sub>c17</sub> (осуществляет 17 $\alpha$ -гидрокселирование и лиазную реакцию C17–C20) и P450<sub>c21</sub> (осуществляет 21-гидрокселирование). Помимо перечисленных цитохромов в стероидогенезе в эндоплазматическом ретикулуме участвует 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа / $\Delta^4 \rightarrow \Delta^5$  изомераза (3 $\beta$ -ГСД). На следующем этапе промежуточные продукты синтеза – 11-дезоксикортикостерон и 11-дезоксикортизол – вновь поступают в митохондрии или секретируются в кровь. В митохондриях клеток коры надпочечников под действием P450<sub>c18</sub> (двухстадийное 18-окисление) и P450<sub>c11</sub> (11 $\beta$ -гидрокселирование) из них образуются соответственно два наиболее важных представителя кортикостероидов – альдостерон и кортизол.

Как видно из вышеизложенного, при биосинтезе стероидных гормонов чётко выражен принцип компартментализации. В коре надпочечников цитохромы P450<sub>sc</sub>, P450<sub>c18</sub> и P450<sub>c11</sub> функционируют в митохондриях вместе с FAD-содержащим флавопротеидом аденодоксинредуктазой (AdR) и [2Fe-2S]-ферредоксином (аденодоксин, Ad). Цитохромы P450<sub>c21</sub> и P450<sub>c17</sub> осуществляют гидрокселирование стероидов в эндоплазматическом ретикулуме совместно с FAD/FMN-флавопротеидом NADPH-цитохром P450 редуктазой (CPR). Качественные различия состава ферментов стероидогенеза, содержащихся в различных тканях и субклеточных компартментах, а также их

субстратная специфичность определяют последовательности путей биосинтеза кортико-стероидов, прогестиннов и половых гормонов.

В отличие от животных и дрожжей, у которых практически единственными стеринами (стероидными липидами) являются соответственно холестерин и эргостерин, в растениях присутствуют по крайней мере четыре вида фитостеринов:  $\beta$ -ситостерин, кампестерин, стигмастерин и холестерин. Поскольку гомологи генов, кодирующих CYP11A1 (P450<sub>scs</sub>) и другие митохондриальные цитохромы P450 (клан 'mito CYP') во всех уже многочисленных просеквенированных геномах растений так и не обнаружены, начальный этап описанной выше классической схемы биосинтеза стероидных гормонов должен осуществляться в растениях каким-то другим путём. Действительно, от кампестерина ведёт своё начало путь биосинтеза brassinosterоидов – фитогормонов, которые участвуют в регуляции роста и развития растений. В то же время, недавно у различных видов растений был обнаружен целый ряд стероидных гормонов животных (прегненолон сульфат, прогестерон, 17-гидроксипрогестерон, 16-дегидропрогестерон, андростендион) [Simerský et al., 2009; Pauli et al., 2010], митохондриальные адренодоксинподобные ферредоксины MFDX1 и MFDX2 и структурный гомолог адренодоксин-редуктазы MFDR [Шематорова и др., 2014], мембранные рецепторы прогестерона [Yang et al., 2005], а также гомологи белков, ответственных за доставку холестерина в митохондрии клеток животных. Все эти данные указывают на то, что помимо уже довольно хорошо охарактеризованной к настоящему времени brassinosterоидной системы, растения сохранили и некоторые элементы классической схемы биосинтеза стероидных гормонов, свойственной животным – по первому, и, по-видимому, наиболее древнему гормону в этом ряду, эту регуляторную систему можно назвать «прогестероновой» [Shpakovski et al., 2017]. Решающую роль в доказательстве существования у растений этой гормональной системы сыграли результаты, полученные нами на трансгенных растениях табака, наперстянки и томата, экспрессирующих кДНК гена CYP11A1 млекопитающих, который кодирует уже упоминавшийся ключевой фермент стероидогенеза животных цитохром P450 холестерингидроксилазу/20,22-лиазу или P450<sub>scs</sub>, отсутствующий у представителей царства растений [Спивак и др., 2009; Спивак и др., 2010; Шематорова и др., 2014; Shpakovski et al., 2017]. Мы показали, что значительное (в 3–5 раз) повышение в этих трансгенных растениях уровня эндогенного прогестерона приводит к таким гормональным эффектам, как ускорение процессов роста и развития растений, существенное повышение их устойчивости к абиотическим и биотическим стрессам. Формирование вышеупомянутых успешных фенотипов у полученных трансгенных растений семейства Паслёновые, экспрессирующих кДНК цитохрома P450<sub>scs</sub> (CYP11A1) млекопитающих, подразумевает, что прогестерон можно считать очень древним биорегулятором растительных клеток и, пожалуй, первым настоящим гормонов, общим для растений и животных. Нами также установлено, что и у растений сохраняется принцип компартментализации: по крайней мере некоторые (вероятнее всего, начальные) стадии стероидогенеза могут осуществляться в митохондриях: зрелый цитохром CYP11A1, как и P450<sub>scs</sub> у животных, локализуется во внутренней митохондриальной мембране, конкурируя за место в ней с нативными белками растений. В результате происходят существенные изменения в этих органеллах: исследование ультраструктурной организации клеток мезофилла семядольных листьев контрольных и трансгенных растений табака и томата показало, что у последних наблюдалось существенное изменение размера, формы и структурной организации митохондрий. По сравнению с диким типом, митохондрии в клетках мезофилла трансгенных растений, экспрессирующих кДНК CYP11A1 цитохрома P450<sub>scs</sub>, отличаются существенно меньшим размером и большей гранулированностью [Shpakovski et al., 2017]. В качестве партнёров CYP11A1 выявлены адренодоксинподобные [2Fe-2S] ферредоксины растений MFDX1 и MFDX2, которые участвуют в переносе электронов при реакциях гидроксилирования, формируя электронтранспортную цепь [Шематорова и др., 2014]. Полу-

ченные результаты свидетельствуют об определённом сходстве путей биосинтеза стероидных соединений и систем стероидного регулирования у растений и животных и могут быть использованы в новых биотехнологиях для сельского хозяйства и фармакологии.

Данная работа осуществлялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках инициативного проекта № 18-04-01262 и совместного российско-белорусского исследовательского проекта № 18-54-00038.

#### Литература

Спивак С.Г., Бердичевец И.Н., Литвиновская Р.П., Драч С.В., Картель Н.А., Шпаковский Г.В. Некоторые особенности метаболизма стероидов в трансгенных растениях табака *Nicotiana tabacum*, несущих кДНК *CYP11A1* цитохрома P450<sub>SCC</sub> из коры надпочечников быка // Биоорганическая химия. – 2010. – Т. 36, № 2. – С. 241–250.

Спивак С.Г., Бердичевец И.Н., Ярмолинский Д.Г., Манешина Т.В., Шпаковский Г.В., Картель Н.А. Создание и характеристика трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L., экспрессирующих кДНК *CYP11A1* цитохрома P450<sub>SCC</sub> // Генетика. – 2009. – Т. 45, № 9. – С. 1217–1224.

Шематорова Е.К., Словохотов И.Ю., Халилуев М.Р., Бердичевец И.Н., Баранова Е.Н., Бабак О.Г., Шпаковский Д.Г., Спивак С.Г., Шпаковский Г.В. Митохондрии как возможное место инициации синтеза стероидных гормонов в растениях. Журнал стресс-физиологии и биохимии. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 85–97.

Miller W.L. Steroid hormone synthesis in mitochondria // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2013. – V. 379, N 1–2. – P. 62–73.

Pauli G.F., Friesen J.B., Gödecke T., Farnsworth N.R., Glodny B. Occurrence of progesterone and related animal steroids in two higher plants // Journal of Natural Products. – 2010. – V. 73. – N 3. – P. 338–345.

Payne A.H., Hales D.B. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones // Endocr. Rev. – 2004. – V. 25, N 6. – P. 947–970.

Sewer M.B., Dammer E.B., Jagarlapudi S. Transcriptional regulation of adrenocortical steroidogenic gene expression // Drug Metabol. Rev., 2007. – V. 39. – N 2–3. – P. 371–388.

Shpakovski G.V., Spivak S.G., Berdichevets I.N., Babak O.G., Kubrak S.V., Kilchevsky A.V., Aralov A.V., Slovokhotov I.Yu., Shpakovski D.G., Baranova E.N., Khaliluev M.R., Shematorova E.K. A key enzyme of animal steroidogenesis can function in plants enhancing their immunity and accelerating the processes of growth and development // BMC Plant Biology. – 2017. – V. 17. – Suppl 1: 189. – P. 119–131. PMID: 29143658.

Simerský R., Novák O., Morris D.A., Pouzar V., Strnad M. Identification and quantification of several mammalian steroid hormones in plants by UPLC-MS/MS // Journal of Plant Growth Regulation. – 2009. – V. 28. – N 3. – P. 125–136.

Yang X.H., Xu Z.H., Xue H.W. Arabidopsis membrane steroid binding protein 1 is involved in inhibition of cell elongation // Plant Cell. – 2005. – V. 17. – N 1. – P. 116–131.