

УДК 577.352

ЭВОЛЮЦИОННЫЙ ВЫБОР МЕЖДУ ХОЛЕСТЕРИНОМ И ЭРГОСТЕРИНОМ

© 2024 г. С. С. Соколов^а, С. А. Акимов^б, Ф. Ф. Северин^{а, *}

^аМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119991 Москва, Россия

^бИнститут физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, 119071 Россия

*e-mail: severin@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию 27.04.2024

После доработки 08.05.2024

Принята к печати 14.05.2024

Биосинтез стерина появился на ранних этапах эволюции эукариот. У большинства животных, а также у примитивных грибов, основным стеринном является холестерин. В процессе эволюции грибы приобрели способность синтезировать эргостерин. Путь его биосинтеза более сложен, чем путь биосинтеза холестерина. Тем не менее эволюционный выбор большинства грибов остался именно за эргостерином, и причина этого выбора до сих пор обсуждается. В большинстве работ на эту тему выбор большинства грибов связывают с переходом к жизни на суше и, следовательно, с опасностью обезвоживания клеток. В нашем обзоре мы не соглашаемся с этой точкой зрения. Вероятно, по сравнению с холестерином, эргостерин обладает более выраженными антиоксидантными свойствами. Действительно, наличие трех, а не одной, как у холестерина, двойных связей в структуре молекулы увеличивает вероятность взаимодействия с активными формами кислорода. Возможно, переход к жизни на суше потребовал дополнительной антиоксидантной защиты. Вследствие вышеупомянутых структурных различий молекула холестерина, очевидно, является более гибкой, чем молекула эргостерина. Экспериментальные данные указывают, что это качество обеспечивает более высокую, чем у грибов, гибкость мембран, а также более высокую способность компенсировать нарушения упаковки фосфолипидов мембраны. Возможно, эти качества холестерина для клеток животных оказались важнее, чем антиоксидантные, что и предопределило их эволюционный выбор стерина.

Ключевые слова: холестерин, эргостерин, 7-дегидрохолестерин, эволюция, грибы, животные, трипаносома

DOI: 10.31857/S0233475524050071, **EDN:** cbizib

ВВЕДЕНИЕ

Основная функция стерина — поддержание барьерных свойств плазматической мембраны клетки в различных химических, механических и термических условиях. В то время как основным стеринном большинства животных является холестерин, эволюционным выбором большинства грибов является эргостерин. Причина разницы эволюционного выбора понятна неполностью. Большинство работ, посвященных этому вопросу, называют причиной тонкие физико-химические и биофизические особенности взаимодействия различных стерина с липидами плазматической мембраны, такие как формирование липидных рафтов и способность влиять на текучесть фосфолипидов

мембран [1–3]. Путь биосинтеза холестерина является эволюционно более ранним и менее сложным, чем путь биосинтеза эргостерина. Почему же грибы «выбрали» эргостерин? Считается, что выбор грибов произошел при переходе к жизни на суше и каким-то образом связан с устойчивостью к высушиванию и окислительному стрессу [4]. Мы предполагаем, что причину эволюционного выбора можно объяснить базовыми различиями в свойствах этих двух молекул. Молекула эргостерина содержит три двойных связи, молекула холестерина — всего одну (рис. 1). Следовательно, молекула эргостерина является более жесткой и более способной к взаимодействию с активными формами кислорода (АФК). Рассмотрим, к каким



Рис. 1. Химические структуры стерина: а – эргостерин; б – холестерин; в – 7-дегидрохолестерин.

физиологическим последствиям могут привести эти различия химической структуры стерина.

ЗАЩИТА ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Стерины являются самыми гидрофобными липидами биологических мембран. Из общих соображений понятно, что взаимодействие с АФК приводит к появлению гидрофильных групп в структурах молекул стерина. Это подтверждается экспериментальными данными. Так, например, при обработке клеток дрожжей синглетным кислородом в их плазматических мембранах накапливаются окисленные, полярные производные эргостерина [5]. Насколько такие модификации могут повлиять на барьерные свойства мембран? На языке теории упругости мембран увеличение гидрофильности мембранного компонента при сохранении или уменьшении объема его гидрофобной части эквивалентно увеличению его спонтанной кривизны [6, 7]. При прочих равных условиях мембраны, монослои которых имеют большую спонтанную кривизну (более положительную или менее отрицательную), менее стабильны по отношению к образованию в них сквозных пор [8–10]. Увеличение гидрофильности молекулы стерина, очевидно, также приведет к ее релокации из глубины фосфолипидного бислоя к поверхности. Такое перемещение может нарушить упаковку фосфолипидов и повысить вероятность образования в мембране проводящих дефектов. Тем не менее, в случае наличия достаточного количества неокисленных молекул стерина, такое нарушение будет скомпенсировано. Методами молекулярной динамики это было подтверждено для холестерин-содержащих мембран [11]. Подобная компенсация экспериментально наблюдалась для модельных мембран, сформированных из смеси диолеилфосфатидилхолина (ДОФХ), холестерина и лизолипидов. В мембранах, сформированных из ДОФХ и лизолипидов, обычно интенсивно образуются сквозные поры при концентрации

лизолипидов 5 мол. %. Это связано с положительной спонтанной кривизной лизолипидов [6, 7], способствующей образованию пор [8–10]. Однако, если в мембране имеется холестерин с большой по абсолютной величине отрицательной спонтанной кривизной, то образование пор в присутствии лизолипидов существенно подавляется за счет компенсации положительной спонтанной кривизны лизолипидов отрицательной спонтанной кривизной холестерина. Так, относительно стабильные мембраны могут быть сформированы из смеси холестерин–лизолипид 1:1 [12]. Таким образом, вероятнее всего, окисление небольшой доли общего стерина мембраны не сильно отразится на ее проницаемости для гидрофильных молекул. В то же время взаимодействие стерина с АФК может приводить к нейтрализации АФК. Это указывает на то, что стерины плазматических мембран могут защищать мембраны от АФК, и у эргостерина это свойство, вероятно, более выражено, чем у холестерина.

Эти общие соображения подтверждаются экспериментальными наблюдениями. Было показано, что эргостерин исключительно эффективно защищает клетки дрожжей и искусственные липосомы от *трет*-бутилгидропероксида [13]. Авторы работы на основании данных молекулярного моделирования предполагают, что эта эффективность объясняется уникальной особенностью молекулы эргостерина осуществлять электронный и протонный транспорт. Это достаточно сложное объяснение не исключает и более простого: три двойные связи в молекуле эргостерина более эффективно реагируют с АФК, чем одна в молекуле холестерина. Косвенное подтверждение этому следует из недавней работы, где показано, что 7-дегидрохолестерин защищает клетки млекопитающих от ферроптоза [14]. Ферроптоз – форма запрограммированной клеточной смерти, причиной которой является окислительное повреждение липидов плазматической мембраны. 7-Дегидрохолестерин – промежуточное вещество в биосинтезе холестерина, в результате некоторых мутаций клетки млекопитающих накапливают его вместо холестерина

(синдром Смита—Лемли—Опитца [15]). Молекула 7-дегидрохолестерина содержит две двойных связи, а не одну, как молекула холестерина (рис. 1). Вероятно, эта разница и определяет его более сильные антиоксидантные свойства.

Еще один довод в пользу того, что эргостерин — более сильный антиоксидант, чем холестерин, представлен в работе [16], в которой авторы сконструировали штаммы дрожжей, производящих холестерин вместо эргостерина. Оказалось, что такие штаммы чувствительны к широкому спектру природных стрессов.

Наконец, на модельных мембранах, липосомах, был произведен сравнительный анализ антиоксидантных свойств трех стеринов, структуры которых представлены на рис. 1. Было показано, что эргостерин лучше защищает липиды от индуцированного железом и аскорбатом окисления, чем 7-дегидрохолестерин. Также было показано, что из трех стеринов холестерин является наименее эффективным антиоксидантом в этой экспериментальной системе [17]. Независимо было показано, что эргостерин лучше, чем холестерин, защищает фосфолипиды липосом от окислительного повреждения, индуцированного добавкой железа и аскорбата [18].

ГИБКОСТЬ МЕМБРАН

Простое сравнение структурных формул холестерина и эргостерина (рис. 1) указывает на то, что молекула эргостерина является более жесткой и эргостерин должен сильнее упорядочивать окружающие липиды, поскольку дополнительные двойные связи ограничивают его молекулярную подвижность, в то время как молекула является практически плоской. То, что молекула эргостерина является более жесткой, подтверждается методами молекулярной динамики [19, 20]. Можно предположить, что молекулярная жесткость не является эволюционным преимуществом эргостерина. Механическая устойчивость оболочки клетки, как правило, обеспечивается клеточной стенкой либо цитоскелетом, прилегающим к плазматической мембране. В то же время из общих соображений следует, что повышение жесткости и упорядоченности липидного бислоя может приводить к увеличению его хрупкости. Это подтверждено экспериментально: методом атомной силовой микроскопии было показано, что в некоторых условиях модельные холестерин-содержащие мембраны более устойчивы к механической нагрузке, чем эргостерин-содержащие [21]. Также было показано, что холестерин-содержащие

мембраны являются более гибкими, чем мембраны, содержащие эргостерин [22].

Можно предположить, что гибкость плазматической мембраны важна при фибробластоподобном движении клеток — в этой ситуации на переднем крае клетки образуются динамичные выросты (ruffles). Кроме того, гибкость мембраны, очевидно, важна при отпочковывании везикул. Косвенное подтверждение этому следует из анализа физиологии простейшего животного *Trypanosoma brucei*. Это одноклеточный организм, ведущий паразитический образ жизни. В отличие от большинства животных, его основным стеринном является эргостерин. Возможно, в процессе сложного жизненного цикла трипаносом — переходы из мухи це-це в млекопитающих и обратно — клетки испытывают окислительный стресс, защитой от которого является эргостерин плазматической мембраны. В то же время клетки этого животного очень жесткие, движение осуществляется за счет жгутика. Считается, что жесткость обеспечивается тубулиновым цитоскелетом, прилегающим к плазматической мембране [23]. Интересно, что основным путем эндоцитоза трипаносом является не классический, основанный на простой инвагинации мембраны, а клатрин-зависимый [24]. Палочкоподобные молекулы белка клатрина образуют конструкцию, способную деформировать жесткий участок плазматической мембраны и придать ему сферическую форму везикулы [25, 26]. Отметим, что для дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* клатрин-зависимый путь также является жизненно важным: дрожжи являются классическим экспериментальным организмом для изучения этого пути.

ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН ДЛЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Известно, что холестерин обладает уникальной способностью поддерживать порядок упаковки фосфолипидов мембраны, при этом лишь незначительно затрудняя их диффузию [1]. Это свойство, видимо, объясняет его более высокую, чем у эргостерина, способность препятствовать проникновению амфифильных органических веществ через мембрану [27]. Мы предполагаем, что эту разницу проницаемости холестерин- и эргостерин-содержащих мембран можно по крайней мере частично объяснить разницей в жесткости молекул стеринов, обусловленной различным количеством двойных связей в этих молекулах. В молекуле 7-дегидрохолестерина имеется две двойных связи, и в этом смысле 7-дегидрохолестерин занимает промежуточное положение между холестерином и эргостерином. Для 7-дегидрохолестерина было показано,

что двойная связь, дополнительная к единственной двойной связи холестерина, ограничивает относительную подвижность стериновых колец по сравнению с холестерином. В модельных мембранах, в которых образуются жидкоупорядоченные домены, замена холестерина на 7-дегидрохолестерин приводила к качественному изменению характера латерального взаимодействия доменов. В мембранах, содержащих холестерин, домены сливались практически при каждом столкновении, а в мембранах, содержащих 7-дегидрохолестерин, домены практически никогда не сливались, но слипались, образуя протяженные агрегаты сцепленных доменов круглой формы [3]. В работе [28] такое изменение динамики ансамбля доменов объяснялось различием спонтанной кривизны холестерина и 7-дегидрохолестерина. Предполагалось, что ограничение относительной подвижности стериновых колец в 7-дегидрохолестерине за счет дополнительной двойной связи приводит к уменьшению эффективного объема гидрофобной части молекулы 7-дегидрохолестерина по сравнению с холестерином, что эквивалентно большей спонтанной кривизне 7-дегидрохолестерина. В молекуле эргостерина наличие еще одной двойной связи в «хвосте», очевидно, должно приводить к дополнительному снижению молекулярной подвижности и эффективного объема гидрофобной части молекулы. Как следствие, спонтанная кривизна эргостерина должна быть еще выше, чем 7-дегидрохолестерина и, тем более, холестерина. В липидных мембранах с большей спонтанной кривизной липидных монослоев легче и чаще образуются сквозные поры и дефекты, что позволяет объяснить более высокую проницаемость мембран, содержащих эргостерин.

УСТОЙЧИВОСТЬ К ВЫСЫХАНИЮ

Известно, что эволюционный переход грибов от холестерина к эргостерину произошел при их переходе к жизни на суше [4]. На основании этого можно сделать предположение, что клетки с эргостерин-содержащими мембранами особо устойчивы к высыханию. Действительно, мутации в пути биосинтеза эргостерина вызывают чувствительность к высыханию у клеток дрожжей *S. cerevisiae* [4]. Такие мутанты вместо эргостерина накапливают различные интермедиаты его биосинтеза, ни один из которых не может сравниться с эргостерином в плане защиты от высыхания. В то же время показано, что снижение проницаемости фосфолипидного бислоя для воды снижается эргостерином и холестерином в одинаковой степени [27]. То, что эволюционный выбор не был

продиктован устойчивостью к высыханию, также подтверждается опытами по устойчивости дрожжей к гиперосмотическому стрессу. Этот вид стресса по своей природе близок к стрессу от высыхания: в обоих случаях происходит обезвоживание клеток. Показано, что при гиперосмотическом стрессе дрожжи снижают содержание стерина в плазматической мембране. Если же различные мутации не позволяют осуществить снижение, то клетки дрожжей становятся чувствительными к этому стрессу [29]. Наши данные указывают на то, что, в одинаковой степени для холестерина и эргостерина, увеличенная стеринном жесткость плазматической мембраны может привести к ее повреждению, если после гиперосмотической среды клетка окажется в среде с низким содержанием осмолита [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно предположить, что эволюционный выбор наземных грибов в пользу эргостерина не продиктован устойчивостью к высыханию. Резюмируя, вышеприведенные соображения указывают на то, что отказ грибов от холестерина в пользу эргостерина основан на более выраженных антиоксидантных свойствах последнего. Действительно, переход к жизни на суше подразумевает увеличение контакта с АФК. Выбор же большинства животных в пользу холестерина, видимо, связан с тем, что, по сравнению с эргостерином, холестерин сильнее снижает проницаемость мембран для органических молекул, а также — в меньшей степени — увеличивает механическую жесткость мембран.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-14-00172).

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mouritsen O.G., Zuckermann M.J. 2004. What's so special about cholesterol? *Lipids*. **39**, 1101–1113.
2. Miao L., Nielsen M., Thewalt J., Ipsen J.H., Bloom M., Zuckermann M.J., Mouritsen O.G. 2002. From lanosterol to cholesterol: Structural evolution and differential effects on lipid bilayers. *Biophys. J.* **82**, 1429–1444.

3. Staneva G., Chachaty C., Wolf C., Quinn P.J. 2010. Comparison of the liquid-ordered bilayer phases containing cholesterol or 7-dehydrocholesterol in modeling Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J. Lip. Res.* **51**, 1810–1822.
4. Dupont S., Lemetais G., Ferreira T., Cayot P., Gervais P., Beney L. 2012. Ergosterol biosynthesis: A fungal pathway for life on land? *Evolution*. **66**, 2961–2968.
5. Böcking T., Barrow K.D., Netting A.G., Chilcott T.C., Coster H.G., Höfer M. 2000. Effects of singlet oxygen on membrane sterols in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur. J. Biochem.* **267**, 1607–1618.
6. Fuller N., Rand R.P. 2001. The influence of lysolipids on the spontaneous curvature and bending elasticity of phospholipid membranes. *Biophys. J.* **81**, 243–254.
7. Kollmitzer B., Heftberger P., Rappolt M., Pabst G. 2013. Monolayer spontaneous curvature of raft-forming membrane lipids. *Soft Matter*. **9**, 10877–10884.
8. Tazawa K., Yamazaki M. 2023. Effect of monolayer spontaneous curvature on constant tension-induced pore formation in lipid bilayers. *J. Chem. Phys.* **158**, 081101.
9. Chernomordik L.V., Melikyan G.B., Dubrovina N.I., Abidor I.G., Chizmadzhev Y.A. 1984. Solvent-free bilayers from squalene solutions of phospholipids. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **12**, 155–166.
10. Rice A., Zimmerberg J., Pastor R.W. 2023. Initiation and evolution of pores formed by influenza fusion peptides probed by lysolipid inclusion. *Biophys. J.* **122**, 1018–1032.
11. Neto A.J., Cordeiro R.M. 2016. Molecular simulations of the effects of phospholipid and cholesterol peroxidation on lipid membrane properties. *Biochim. Biophys. Acta*. **1858**, 2191–2198.
12. Карпунин Д.В., Акимов С.А., Фролов В.А. 2005. Формирование пор в плоских липидных мембранах, содержащих лизолипиды и холестерин. *Биол. мембраны*. **22**, 429–432.
13. Dupont S., Fleurat-Lessard P., Cruz R.G., Lafarge C., Grangeteau C., Yahou F., Gerbeau-Pissot P., Abrahão Júnior O., Gervais P., Simon-Plas F., Cayot P., Beney L. 2021. Antioxidant properties of ergosterol and its role in yeast resistance to oxidation. *Antioxidants*. **10**, 1024.
14. Li Y., Ran Q., Duan Q., Jin J., Wang Y., Yu L., Wang C., Zhu Z., Chen X., Weng X., Li Z., Wang J., Wu Q., Wang H., Tian H., Song S., Shan Z., Zhai Z., Qin H., Chen S., Fang L., Yin H., Zhou H., Jiang X., Wang P. 2024. 7-Dehydrocholesterol dictates ferroptosis sensitivity. *Nature*. **626**, 411–418.
15. Porter F.D. 2008. Smith–Lemli–Opitz syndrome: Pathogenesis, diagnosis and management. *Eur. J. Human Genetics*. **16**, 535–541.
16. Kono Y., Ishibashi Y., Fukuda S., Higuchi T., Tani M. 2023. Simultaneous structural replacement of the sphingoid long-chain base and sterol in budding yeast. *FEBS J.* **290**, 5605–5627.
17. Wiseman H. 1993. Vitamin D is a membrane antioxidant. Ability to inhibit iron-dependent lipid peroxidation in liposomes compared to cholesterol, ergosterol and tamoxifen and relevance to anticancer action. *FEBS Lett.* **326**, 285–288.
18. Wiseman H., Cannon M., Arnstein H.R., Halliwell B. 1990. Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen introduced into liposomes: Similarity to cholesterol and ergosterol. *FEBS Lett.* **274**, 107–110.
19. Bagiński M., Tempczyk A., Borowski E. 1989. Comparative conformational analysis of cholesterol and ergosterol by molecular mechanics. *Eur. Biophys. J.* **17**, 159–166.
20. Melo M.N., Ingólfsson H.I., Marrink S.J. 2015. Parameters for Martini sterols and hopanoids based on a virtual-site description. *J. Chem. Phys.* **143**, 243152.
21. Galván-Hernández A., Kobayashi N., Hernández-Cobos J., Antillón A., Nakabayashi S., Ortega-Blake I. 2020. Morphology and dynamics of domains in ergosterol or cholesterol containing membranes. *Biochim. Biophys. Acta*. **1862**, 183101.
22. Henriksen J., Rowat A.C., Ipsen J.H. 2004. Vesicle fluctuation analysis of the effects of sterols on membrane bending rigidity. *Eur. Biophys. J.* **33**, 732–741.
23. Kohl L., Gull K. 1998. Molecular architecture of the trypanosome cytoskeleton. *Mol. Biochem. Parasitol.* **93**, 1–9.
24. Allen C.L., Goulding D., Field M.C. 2003. Clathrin-mediated endocytosis is essential in *Trypanosoma brucei*. *EMBO J.* **22**, 4991–5002.
25. Johannes L., Lamaze C. 2002. Clathrin-dependent or not: Is it still the question? *Traffic*. **3**, 443–451.
26. Simons K., Ikonen E. 1997. Functional rafts in cell membranes. *Nature*. **387**, 569–572.
27. Frallicciardi J., Melcer J., Siginou P., Marrink S.J., Poolman B. 2022. Membrane thickness, lipid phase and sterol type are determining factors in the permeability of membranes to small solutes. *Nat. Commun.* **13**, 1605.
28. Staneva G., Osipenko D.S., Galimzyanov T.R., Pavlov K.V., Akimov S.A. 2016. Metabolic precursor of cholesterol causes formation of chained aggregates of liquid-ordered domains. *Langmuir*. **32**, 1591–1600.
29. Montañés F.M., Pascual-Ahuir A., Proft M. 2011. Repression of ergosterol biosynthesis is essential for stress resistance and is mediated by the Hog1 MAP kinase and the Mot3 and Rox1 transcription factors. *Mol. Microbiol.* **79**, 1008–1023.
30. Sokolov S.S., Popova M.M., Pohl P., Horner A., Akimov S.A., Kireeva N.A., Knorre D.A., Batishchev O.V., Severin F.F. 2022. Structural role of plasma membrane sterols in osmotic stress tolerance of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Membranes*. **12**, 1278.

Evolutionary Choice between Cholesterol and Ergosterol

© 2024 г. S. S. Sokolov¹, S. A. Akimov², F. F. Severin², *

¹*Lomonosov Moscow State University, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow, 119991 Russia*

²*Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

*e-mail: severin@belozersky.msu.ru

Sterol biosynthesis has evolved early in the history of eukaryotes. In most animals, as well as in primitive fungi, the main sterol is cholesterol. During the process of evolution, fungi acquired the ability to synthesize ergosterol. The pathway of its biosynthesis is more complex than the one of cholesterol biosynthesis. However, the evolutionary choice of most fungi was ergosterol, and the reason for this choice is still debated. In the majority of the works on this issue, the choice of most fungi is associated with the transition to life on land, and, consequently, the danger of cell dehydration. In our review we oppose this point of view. Probably, compared to cholesterol, ergosterol has more pronounced antioxidant properties. Indeed, the presence of three double bonds in the structure of the ergosterol molecule, as compared to one in cholesterol, relatively increases the likelihood of interaction with reactive oxygen species. Perhaps, the transition to life on land required additional antioxidant protection. Due to the aforementioned structural differences, the molecule of cholesterol is apparently more flexible than that of ergosterol. Experimental data indicate that this feature provides greater membrane flexibility as compared to fungal membranes, as well as a greater ability to compensate for disturbances in the packing of membrane phospholipids. Presumably, for animal cells these qualities turned out to be relatively more important than antioxidant ones, which predetermined their evolutionary choice of sterol.

Keywords: cholesterol, ergosterol, 7-dehydrocholesterol, evolution, fungi, animals, trypanosome