

ВНЕГЕНОМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПРОГЕСТЕРОНА

© А. А. Токмаков,¹ Я. Фуками

Кобе Университет, Исследовательский центр геномики окружающей среды,
Лаборатория молекулярной биологии, Япония;
¹ электронный адрес: tokmak@phoenix.kobe-u.ac.jp

Быстрые, не зависящие от транскрипции эффекты прогестерона, называемые внегеномными, были зарегистрированы в различных типах клеток, тканях, органах и видах животных. В ряде биологических систем внегеномные эффекты прогестерона и ассоциированные с ними внутриклеточные сигнальные каскады были детально охарактеризованы на молекулярном уровне. В настоящем обзоре обобщены данные относительно роли прогестерона в регуляции таких биологических функций и процессов, как мейотическое созревание ооцитов рыб и лягушек; рост и пролиферация нормальных и трансформированных клеток молочной железы; сократительная активность миометрия матки; пролиферация, выживание и функциональная активность гранулезных клеток яичника; капацитация, подвижность и акросомная реакция сперматозоидов; иммунная функция Т-лимфоцитов; активность и выживание клеток центральной нервной системы. Представлены результаты исследований, подтверждающих функционирование нескольких типов рецепторных белков, включая классические ядерные рецепторы прогестерона (PR), мембранные прогестинные рецепторы (mPR), мембранные компоненты прогестеронового рецептора (PGRMC), а также рецепторы GABA и окситоцина в качестве рецепторов, опосредующих внегеномные эффекты стероида.

Ключевые слова: внегеномные эффекты, прогестерон, рецепторы, сигнальные каскады.

Принятые сокращения: ПГ — прогестерон; cAMP — циклический аденозин монофосфат; GABA — гамма-аминомасляная кислота; IP 3 — инозитол трифосфат; MAPK — митогенактивируемая протеинкиназа; mPR — мембранные прогестинные рецепторы; PGRMC — мембранные компоненты прогестеронового рецептора; PI3K — фосфоинозитол-3-киназа; PIP3 — фосфатидилинозитол-3-фосфат; PLC — фосфолипаза C; PKA, PKB и PKC — протеинкиназы A, B и C; PR — классические ядерные рецепторы прогестерона.

Результаты целого ряда исследований позволяют с достоверностью утверждать, что прогестерон (ПГ) является универсальным модулятором клеточных функций, который задействует два принципиально различных механизма передачи внутриклеточного сигнала. С одной стороны, ПГ способен активировать транскрипцию генов-мишеней, с другой — вызывает быструю стимуляцию инициированных на мембране сигнальных каскадов. Быстрые, не зависящие от транскрипции эффекты ПГ получили название внегеномных. Настоящий обзор посвящен анализу последних данных, описывающих внегеномные эффекты ПГ в различных биологических системах, с акцентом на идентификацию внутриклеточных сигнальных путей и специфических рецепторов, опосредующих эти эффекты.

Внегеномные эффекты ПГ в различных биологических системах

Внегеномные эффекты ПГ были зарегистрированы в различных типах клеток, тканях, органах и видах животных. Ниже представлены результаты исследований роли ПГ в регуляции таких биологических функций и процес-

сов, как мейотическое созревание ооцитов рыб и лягушек; рост и пролиферация нормальных и трансформированных клеток молочной железы; сократительная активность миометрия матки; пролиферация, выживание и функциональная активность гранулезных клеток яичника; капацитация, подвижность и акросомная реакция сперматозоидов; иммунная функция Т-лимфоцитов; активность и выживание клеток центральной нервной системы. Данные этой части обзора суммированы в таблице.

Мейотическое созревание ооцитов. Одним из наиболее хорошо изученных процессов, который внегеномно инициируется прогестинами, является мейотическое созревание ооцитов рыб и амфибий. В данных видах организмов клеточный цикл в поздних ооцитах блокирован на границе G₂—M в первой мейотической профазе. Прогестины, продуцируемые фолликулярными клетками под воздействием гипофизарного гормона гонадотропина, инициируют возобновление мейотического процесса и приводят к овуляции зрелых, способных к оплодотворению яйцеклеток, блокированных в метафазе второго мейотического деления. На ооцитах лягушки *Xenopus laevis* было показано, что процесс мейотического созревания может быть индуцирован экстраклеточным ПГ и конъюгатами ПГ, которые не способны проникать внутрь клет-

Внегеномные эффекты прогестерона в различных биологических системах

| Клетки и ткани | Внутриклеточный ответ | Функциональный ответ | Рецепторы |
|-----------------------------|--|--|------------------------------------|
| Ооциты рыб и амфибий | Снижение уровня сАМР, инактивации PKA, активация P13K, PLC, MAPK | Инициация мейотического созревания | mPR, PR |
| Клетки молочной железы | Активация Src и Erk, фосфорилирование Jak и Stat | Пролиферация | PR |
| Гранулезные клетки яичника | Снижение внутриклеточного Ca ²⁺ , дефосфорилирование MAPK, активация PKG | Ингибирование стероидогенеза, митоза и апоптоза | mPR, PGMRC1 |
| Миометрий | Снижения уровня сАМР, фосфорилирование легкой цепи миозина | Сократительная активность | mPR, PR, OTR |
| Сперматозоиды | Повышение уровня сАМР, активация PKA, PKC, MAPK, повышение внутриклеточного Ca ²⁺ | Капацитация, акросомная реакция, гиперподвижность | PR, mPR, PGMRC1, 2 |
| T-лимфоциты | Активация G-белков, деполяризация мембраны, блокирование Ca ²⁺ -ответа | Ингибирование иммунного ответа и пролиферации | mPR |
| Центральная нервная система | Активация PKA и PKB, снижение мембранного потенциала нейронов | Нейрозащита, нейрорегенерация, анестетическое действие | PR, mPR, PGMRC1, GABA _a |

ки, но не внутриклеточным (инъекцированным) стероидом (Masui, Markert, 1971; Smith, Ecker, 1971). Внегеномный характер этого процесса подтверждается тем фактом, что активация MPF (maturation promoting factor) и MAPK при индукции мейоза ПГ происходит также в энуклеированных ооцитах (Masui, Markert, 1971). Эти и другие данные позволяют предполагать наличие на клеточной поверхности ооцитов мембранного рецептора ПГ, который задействует неклассический (нетранскрипционный) механизм внутриклеточной передачи сигнала. Следует заметить, что хотя ПГ и рассматривается в качестве основного физиологического медиатора мейотического созревания ооцитов лягушки, но представлены доказательства того, что и другие стероиды, например андрогены тестостерон и андростендион, являются эффективными инициаторами этого процесса (Evaul et al., 2007). Более того, показано, что ПГ связывается с высокой аффинностью с рецепторами андрогенов, а андрогены способны взаимодействовать с рецепторами ПГ. Таким образом, предположительно при инициации мейотического созревания ооцитов стероидными гормонами *in vivo* имеет место cross-talk между различными стероидами и их рецепторами (Evaul et al., 2007).

Одним из главных аргументов, свидетельствующих в пользу внегеномного характера инициации процесса мейотического созревания ооцитов амфибий, является быстрый внутриклеточный ответ на повышение концентрации наружного ПГ. Целый ряд внутриклеточных сигнальных путей активируется уже в течение нескольких минут после добавления стероида. Наиболее ранним эффектом является резкое снижение уровня внутриклеточного сАМР вследствие ингибирования мембранно-связанной аденилатциклазы (Schorderet-Slatkine et al., 1978; Finidori-Lepicard et al., 1981), что предполагает участие G-протеинассоциированного трансмембранного рецептора в передаче сигнала ПГ. Трансмембранные рецепторы прогестина, ассоциированные с G-белками, были недавно впервые клонированы в ооцитах рыб, лягушек и других биологи-

ческих видов (Zhu et al., 2003a, 2003b). Тот факт, что действие гормона на ооциты не может быть заблокировано пертуссин-токсином, свидетельствует о том, что α -субъединицы ингибиторных Gi-белков не участвуют в ингибировании аденилатциклазы. Показано, что избыточная внутриклеточная экспрессия G β - и G γ -белков повышает концентрацию сАМР и ингибирует индуцированное ПГ созревание ооцитов лягушки (Lutz et al., 2000; Sheng et al., 2001). Индуцированное ПГ ингибирование аденилатциклазы наблюдается также в очищенных препаратах клеточных мембран ооцитов (Sadler, Maller, 1985; Maller, 2001). Снижение уровня сАМР с последующим уменьшением активности протеинкиназы А (PKA) является необходимым и достаточным для инициации мейотического созревания. Микроинъекции активной каталитической субъединицы PKA полностью блокируют этот процесс, тогда как инъекции ингибитора PKA индуцируют созревание ооцитов в отсутствие ПГ (Maller, Krebs, 1977; Huchon et al., 1981).

Комплексное изменение метаболизма мембранных фосфолипидов также является одним из ранних эффектов стероида. Было показано, что прогестин вызывает независимую от сАМР активацию фосфоинозитол-3-киназы (PI3K) и аккумуляцию фосфатидинозитол-3-фосфата (PIP3) в клеточной мембране ооцитов рыб и амфибий (Pase, Thomas, 2005). Эти данные согласуются с тем фактом, что $\beta\gamma$ -субъединицы G-белков способны рекрутировать PI3K в клеточную мембрану, приводя к накоплению PIP3 (Stoyanov et al., 1995). В свою очередь PIP3 взаимодействует с Src-киназой, вызывая ее активацию с последующей активацией MAPK-каскада посредством Ras-активирующего мультикомпонентного комплекса. Кроме того, PI3K вызывает активацию серинтреониновой протеинкиназы Akt-PKB, иницируемую образованием комплекса между липидными продуктами PI3K и Akt-PKB. Внутриклеточная экспрессия активной формы PI3K стимулирует фосфорилирование Akt-PKB и MAPK, приводит к увеличению количества GTP-связанного Ras, к ак-

тивации Ras-эффектора Raf и инициирует созревание ооцитов *X. laevis* (Muslin et al., 1993; Hu et al., 1995; Nehl et al., 2001). С другой стороны, фармакологическое ингибирование PI3K при помощи вортманина или LY294002 полностью блокирует индуцированное прогестинами мейотическое созревание ооцитов рыб (Pace, Thomas, 2005).

Помимо активации PI3K и накопления PIP3 обработка ооцитов ПГ вызывает также стимуляцию фосфолипазы C (PLC) и увеличение внутриклеточного содержания диацилглицерина и инозитол-3-фосфата (IP3) в ооцитах *X. laevis* (Stith et al., 1992; Morrison et al., 2000). Из трех изоформ фермента PLC, осуществляющего гидролиз фосфатидилинозитидов с образованием IP3 и диацилглицерина, только PLC γ активируется при фосфорилировании остатков тирозина. Было показано, что ПГ стимулирует ассоциированную с мембраной неидентифицированную тирозинкиназу, которая в свою очередь активирует PLC. Этот эффект наблюдается уже через 15 мин после добавления гормона и не зависит от активации PI3K, так как ингибитор PI3K вортманин не способен блокировать индуцированную ПГ активацию PLC (Morrison et al., 2000). Одним из возможных кандидатов на роль стимулируемой ПГ тирозинкиназы является Src-киназа, которая на короткое время активируется в ооцитах уже через несколько минут после добавления стероида (Токмаков et al., 2005). Показано, что активированная Src-киназа ассоциируется с PLC γ в яйцеклетках лягушки, тогда как PP1, специфический ингибитор тирозинкиназ семейства Src, полностью блокирует фосфорилирование по тирозину и активацию PLC γ (Sato et al., 2000a, 2000b). Дальнейшие шаги этого сигнального пути гораздо менее изучены. Хотя наблюдаемое увеличение внутриклеточной концентрации IP3 при воздействии ПГ на ооциты теоретически способно инициировать высвобождение кальция из внутриклеточных депо, измерения внутриклеточного кальция в обработанных стероидом ооцитах не дают однозначных результатов (Wasserman et al., 1980; Cork et al., 1987; Stith, Proctor, 1989). Тем не менее, по-видимому, IP3 и внутриклеточный кальций являются важными медиаторами внутриклеточного действия ПГ, так как снижение гидролиза PIP2, блокирование IP3 рецепторов или уменьшение внутриклеточных кальциевых градиентов существенно ингибируют индуцированное прогестероном созревание ооцитов (Han, Lee, 1995).

Регуляция пролиферации клеток молочной железы. Рост и развитие молочной железы регулируется стероидными гормонами. В частности, ПГ и эстроген стимулируют пролиферацию нормальных и трансформированных клеток молочной железы, регулируя экспрессию и активность целого ряда генов, контролирующих клеточный цикл. Предполагаемые мишени пролиферативного действия стероидов включают в себя такие гены, как *c-fos*, *jun-B*, *c-myc*, *циклин D1* и др. Развитие молочной железы у половозрелых мышей блокируется в отсутствие экспрессии функционально активных генов классического ядерного рецептора ПГ (Lydon et al., 1995). Предполагается, что эффект ПГ опосредован регуляцией уровня экспрессии гена *циклина D1*, так как сходный фенотип молочной железы наблюдается при блокировании экспрессии этого гена (Fantl et al., 1995; Sicinski et al., 1995). Помимо хорошо изученных транскрипционных эффектов ПГ и эстроген способны активировать внегеномный целый ряд сигнальных каскадов в культурах трансформированных клеток молочной железы MSF-7 и T47D (Casto-

ria et al., 2008). Обработка этих клеток стероидами вызывает быструю стимуляцию активности Src и Erk, которая достигает максимума уже через 5 мин и возвращается к нормальному уровню через 1 ч после добавления гормонов (Migliaccio et al., 1996, 1998). Хотя характер, амплитуда и кинетики действия ПГ и эстрадиола весьма схожи, эти стероиды задействуют различные механизмы активации сигнального каскада. Эстрадиол вызывает активацию каскада Src—Ras—Erk, инициируя прямое взаимодействие связанного со стероидом классического ядерного рецептора эстрогена с Src-киназой (Di Domenico et al., 1996; Migliaccio et al., 1996). Стимуляция сигнального каскада ПГ требует одновременного участия связанного с лигандом PR и свободного рецептора эстрогена (Migliaccio et al., 1998). В этом случае PR, активированный агонистом в трансформированных клетках молочной железы, ассоциируется с рецептором эстрогена, который в свою очередь взаимодействует с Src-киназой, вызывая активацию каскада Src—Ras—Erk. Более детально механизм взаимодействия PR и Src-киназы рассмотрен ниже в разделе «Рецепторы ПГ». Найдено, что транскрипционно неактивный мутант PR также способен активировать сигнальный каскад Src—Ras—Erk, что однозначно указывает на внегеномный характер действия стероида.

Недавно было показано, что одним из быстрых внегеномных эффектов прогестина в культурах трансформированных клетках молочной железы C4HD и T47D является тирозинное фосфорилирование молекул Jak1, Jak2 и Stat3 (Proietti et al., 2005). Известно, что Stats (Signal transducers and activators of transcription) могут быть фосфорилированы либо рецепторными тирозинными киназами после связывания ими факторов роста, либо цитоплазматическими киназами из семейства Src и Jak. После фосфорилирования факторы Stat димеризуются, транслоцируются в ядро, связываются с DNA и регулируют транскрипцию генов-мишеней. Тот факт, что блокирование активности Src-киназы ингибирует индуцированные прогестинами фосфорилирование Stat3 и активацию транскрипции, позволяет заключить, что прогестины инициируют Jak- и Src-зависимое фосфорилирование Stat3 в клетках C4HD и T47D (Proietti et al., 2005).

Изучение физиологической роли быстрых внегеномных эффектов прогестина и эстрогенов в этой экспериментальной системе выявило, что активация сигнального каскада Src—Ras—Erk стероидами играет важную роль в пролиферации клеток молочной железы. Блокирование данного сигнального каскада микроинъекцией анти-Ras-антитела или cDNA, кодирующей каталитически неактивную форму Src-киназы, существенно ингибирует индуцированную стероидами прогрессию клеточного цикла. Фракция инъектированных клеток, находящихся в S-фазе клеточного цикла через 24 ч после стимуляции ПГ, значительно снижена в сравнении с неинъектированным контролем. Также ингибирование сигнального каскада при помощи селективного ингибитора MEK, PD98059, предотвращает активацию Erk и стероидзависимое вхождение в S-фазу клеточного цикла (Castoria et al., 1999). Аналогичным образом трансфекция вектора, кодирующего мутантную, функционально неактивную форму Stat3 в клетки C4HD, ингибирует индуцированную прогестинами пролиферацию, вызывая арест клеточного цикла и апоптоз (Proietti et al., 2005). Показано, что способность трансфицированных клеток индуцировать опухоли в сингенных мышцах значительно снижена. Представленные данные позволяют заключить, что пролиферативный и

канцерогенный эффект ПГ на клетки и ткани молочной железы опосредован участием PR и активацией сигнального каскада Src—Ras—Erk.

Модуляция функциональной и пролиферативной активности гранулезных клеток яичника. Гранулезные клетки окружают яйцеклетку в фолликулах яичников млекопитающих. Их основной функцией является продукция стероидов и разнообразных ростовых факторов, способствующих развитию яйцеклетки. После овуляции гранулезные клетки в больших количествах синтезируют ПГ, который способствует релаксации миометрия и поддержанию возможной беременности. Целый ряд исследований свидетельствует о том, что ПГ и его непроницающие аналоги способны связываться с плазматическими мембранами и инициировать быстрые внегеномные эффекты в гранулезных клетках (Schreiber et al., 1980; Peluso, Pappalardo, 1998; Peluso, 2004; Cai, Stocco, 2005). Эффекты ПГ являются стероид-специфическими и дозозависимыми. Показано, что обработка иммортализованных гранулезных клеток (SIGCs) ПГ в течение 1 мин снижает на 15—20 % уровень внутриклеточного кальция (Peluso et al., 2001), а воздействие гормона в течение 5 мин подавляет фосфорилирование Erk (Peluso et al., 2003). В другом исследовании сообщалось, что уровень внутриклеточного кальция значительно повышается через 5 с после добавления ПГ к гранулезным клеткам свиньи с последующим его снижением через 15 с. Найдено, что этот эффект опосредован стимуляцией PLC (Lieberherr et al., 1999). Кроме того, обработка ПГ вызывает активацию протеинкиназы G и стимулирует фосфорилирование целого ряда белков в клетках SIGC (Peluso, Pappalardo, 2004). Результатом действия ПГ является модуляция стероидогенетической, митотической и апоптотической активностей гранулезных клеток. Любопытно, что внегеномные эффекты стероида могут быть индуцированы в культурах SIGCs, а также в гранулезных клетках, изолированных в период, предшествующий овуляции. Эти клетки не экспрессируют классический PR (Park, Mayo, 1991; Peluso et al., 2002), что предполагает участие других типов рецепторов ПГ в опосредовании эффектов стероида. Экспрессия таких рецепторов ПГ, как MPR α , MPR β и MPR γ , мембранный компонент прогестеронового рецептора 1 (PGRMC1) и ассоциированный с ним белок PAIRBP1 (известный также как RDA288 и SERPBP1), была зарегистрирована в клетках желтого тела яичников крысы (Cai, Stocco, 2005; Peluso et al., 2005; Peluso et al., 2006). Поскольку уровень ПГ в фолликулах яичника может достигать микромолярных концентраций (Fujii et al., 1983), а сродство обнаруженных рецепторов к стероиду лежит в диапазоне 30—300 нм (Peluso, 2006), все эти белки могут являться физиологическими мишенями гормона. В подтверждение этого предположения было показано, что антитела против PAIRBP1, а также малые интерферирующие РНК, ингибирующие синтез белка PGRMC1, блокируют антиапоптотический эффект ПГ (Peluso, Pappalardo, 1998; Peluso et al., 2008). Специфическая функциональная роль идентифицированных в гранулезных клетках мембранных прогестинных рецепторов и ассоциированных с ними сигнальных путей в настоящее время не изучена.

Регуляция сократительной активности миометрия. Миометрий представляет собой мышечную стенку матки, образованную пучками гладких миоцитов. Ритмические сокращения миометрия контролируются ПГ и эстрогенами. ПГ принадлежит определяющая роль в

подготовке миометрия матки к беременности и родам. На ранних стадиях беременности высокий уровень гормона в плазме способствует релаксации миометрия, тогда как во время родов реактивность миометрия значительно повышается, обеспечивая эффективные, скоординированные схватки. У большинства видов млекопитающих уровень ПГ в плазме и тканях матки во время родов резко снижается, обеспечивая эффективность сокращения миометрия. Однако у человека и некоторых приматов уровень ПГ во время родов не снижается, а происходит функциональная блокада действия стероида на уровне регуляции экспрессии классических ядерных рецепторов прогестерона. В частности, усиленно экспрессируется укороченная изоформа классического PRA, которая функционирует как доминантно-негативный эффектор, подавляющий транскрипционную активность PRB-изоформы (Vegeto et al., 1993; Pieber et al., 2001; Mesiano et al., 2002). Помимо этого, во время родов значительно снижается экспрессия таких активаторов PR, как CREB и коактиваторы стероидных рецепторов 2 и 3 (Condon et al., 2003). Таким образом, при контроле статуса релаксации миометрия ПГ задействует классический транскрипционный механизм, опосредованный участием PR. Вместе с тем было показано, что ассоциированные с G-белками мембранные рецепторы также принимают важное участие, контролируя содержание внутриклеточного кальция и сократительную активность миометрия (Sanborn et al., 2005). Два новых ассоциированных с G-белками мембранных рецепторов прогестинных, mPR α и mPR β , были недавно идентифицированы в тканях миометрия и в клеточных мембранах гладких миоцитов (Karteris et al., 2006). Предполагается, что на ранних сроках беременности активация этих рецепторов способствует релаксации миометрия посредством амплификации действия PRB. Вместе с тем представлены доказательства того, что mPR могут стимулировать сократительную активность миометрия на поздних сроках беременности и во время родов. Показано, что эти рецепторы непосредственно взаимодействуют с G-белками и обработка мембранных препаратов миоцитов прогестероном вызывает быструю активацию ингибиторных G-белков и снижение пертуссин-токсин-чувствительного синтеза cAMP. Ранее было установлено, что cAMP, действуя через PKA, ингибирует контрактильную активность клеточного кальция и фосфорилирования легкой цепи миозина по остаткам серина (Karteris et al., 2006; Thomas, 2008). Обработка миоцитов не проникающим через мембрану конъюгатом ПГ вызывает фосфорилирование легких цепей миозина, которое блокируется токсином пертуссина и siRNA, подавляющей синтез mPR α (Karteris et al., 2006). Кроме того, показано, что обработка клеток специфическим ингибитором p38 MAPK практически полностью блокирует фосфорилирование легкой цепи миозина, а обработка пертуссин-токсином блокирует фосфорилирование и активацию p38 MAPK, индуцированные ПГ. Эти данные позволяют предполагать, что p38 MAPK является протеинкиназой, непосредственно вовлеченной в фосфорилирование легкой цепи миозина при стимуляции гладких миоцитов ПГ (Karteris, 2006).

Капацитация, активация подвижности и акросомная реакция сперматозоидов. ПГ присутствует в микромолярных концентрациях в фолликулярной жидкости, а также в матриксе кумулула, окружающем яйцеклетку млекопитающих, и является, таким образом, физиологическим стимулом для сперматозоидов во

время их пребывания в репродуктивном тракте женской особи. Считается, что большинство наблюдаемых эффектов стероида на сперматозоиды являются внегеномными, так как плотная упаковка ДНК и отсутствие рибосом делают невозможным транскрипцию и трансляцию в этих клетках. Обработка сперматозоидов ПГ вызывает деполаризацию мембраны, изменение метаболизма мембранных фосфолипидов, увеличение концентрации внутриклеточного кальция и сАМР, стимулирует сАМР-зависимые протеинкиназы, сигнальный каскад MAPK, а также тирозин-специфическое фосфорилирование белков, инициируя такие ключевые шаги процесса оплодотворения млекопитающих, как капацитация, акросомная реакция и подвижность сперматозоидов. Все они представляют собой кальцийзависимые процессы. Сигнал ПГ инициируется на мембране сперматозоидов, как было показано с использованием не проникающих через мембрану конъюгатов стероида (Blackmore et al., 1991; Blackmore, Lattanzio, 1991; Meizel, Turner, 1991; Tesarik et al., 1992).

Непосредственно после эякуляции сперматозоиды млекопитающих не способны оплодотворить яйцеклетку. Они приобретают эту потенцию под воздействием гормональных и белковых факторов, содержащихся в репродуктивном тракте женской особи. Этот процесс называется капацитацией. Было показано, что в процессе капацитации значительно возрастает способность сперматозоидов инициировать внутриклеточный кальциевый ответ и акросомную реакцию при обработке ПГ и ZP3 гликопротеином zona pellucida яйцеклетки (Baldi et al., 1991; Mendoza, Tesarik, 1993; Florman, 1994). Физиологическая капацитация сопровождается увеличением концентрации внутриклеточного кальция, бикарбоната, пероксида и сАМР, а также активацией PKA, приводящей к фосфорилированию ряда белков (Visconti et al., 1995; Leclerc et al., 1996; Witte, Schafer-Some, 2007). In vitro капацитация может быть инициирована такими агентами, повышающими уровень сАМР, как db-сАМР и IBMX (Marquez, Suarez, 2004). В большинстве изученных видов млекопитающих ПГ не способен инициировать процесс капацитации, а некапацитированные сперматозоиды не способны отвечать на прогестерон (Witte, Schafer-Some, 2007). Однако в процессе капацитации происходит функциональная активация рецепторов ПГ и количество доступных рецепторов на поверхности сперматозоидов существенно возрастает (Sirivaidyarong et al., 2001; Rathi et al., 2003). Недавно было продемонстрировано, что сперматозоиды быка могут быть капацитированы стероидом в концентрации 10 мг/мл после 3-часовой инкубации (Lukoseviciute et al., 2004). Однако сигнальные пути этого процесса в настоящее время не изучены.

При приближении к zona pellucida капацитированные сперматозоиды подвергаются воздействию ПГ, который присутствует в микромолярных концентрациях в матриксе кумулула, окружающем яйцеклетку. В это время двигательная активность спермиев резко возрастает, что способствует их быстрому проникновению в кумулул и прохождению zona pellucida (Stauss et al., 1995). Гиперподвижность сперматозоидов может быть индуцирована in vitro ПГ в концентрации 10^{-8} — 10^{-6} М. Этот эффект носит кратковременный характер: он регистрируется через 10 мин инкубации с ПГ и пропадает через 1 ч (Uhler et al., 1992; Baldi et al., 1995; Harper et al., 2004). Экстраклеточный кальций абсолютно необходим для инициации и поддержания высокой подвижности сперматозоидов. Наблюдается тесная корреляция между осцилляциями внут-

риклеточного кальция и частотой и амплитудой движения флагеллы сперматозоида (Suarez et al., 1993; Harper et al., 2004). Внутриклеточный сигнальный каскад, вовлеченный в индукцию гиперподвижности сперматозоидов, в настоящее время изучен слабо. Для него является характерным быстрое увеличение концентраций внутриклеточного сАМР и кальция. Показано, что в сперматозоидах рыб этот процесс опосредован, по-видимому, mPRa, который вызывает активацию стимулирующих G-белков. Сигнал ПГ полностью блокируется специфическими ингибиторами мембранной аденилатциклазы (Thomas, 2008).

Капацитированные сперматозоиды специфически связываются с ZP3-гликопротеином zona pellucida яйцеклетки, который инициирует у сперматозоидов акросомную реакцию. При этом содержимое акросомы, включающее в себя различные гидролитические ферменты (гиалуронидазу, акрозин и др.), выводится в окружающее пространство и обеспечивает слияние сперматозоидов в яйцеклетку. Наряду с гликопротеином ZP3 ПГ также рассматривается в качестве физиологического индуктора акросомной реакции. Стероид способен инициировать этот процесс в физиологических концентрациях (Osman et al., 1989; Blackmore, 1993; Yang et al., 1994). Показано также, что акросомная реакция, инициированная ZP3-белком, существенно усиливается после предварительной обработки сперматозоидов ПГ (Roldan et al., 1994). На основании ингибиторного анализа предполагалось, что сигнальный каскад индуцированной ПГ акросомной реакции в сперматозоидах жеребца включает в себя следующие шаги. ПГ взаимодействует с внегеномным мембранным рецептором, который становится функционально активным после капацитации и активирует ассоциированную с мембраной тирозинкиназу (Tesarik et al., 1993). Это вызывает стимуляцию PLC и увеличение мембранного содержания диацилглицерина (DAG) и IP3. DAG взаимодействует с PKC, что приводит к ее транслокации в мембрану и активации. Активированная PKC открывает мембранные кальциевые каналы и обеспечивает приток экстраклеточного кальция, который запускает акросомную реакцию (Rathi et al., 2003; Witte, Shaffer-Somi, 2007). Следует заметить, что сигнальный каскад индуцированной ПГ акросомной реакции является, по-видимому, видоспецифичным. Например, в сперматозоидах человека акросомная реакция зависит от PKA (Harrison, 1996), что предполагает участие G-белков и мембранной аденилатциклазы. Учитывая разнообразие процессов, которые инициируются ПГ в сперматозоидах, представляется вполне вероятным участие нескольких видов рецепторов в инициации этих процессов. Классические (ядерные) и неклассические, локализованные на мембране рецепторы ПГ были идентифицированы в сперматозоидах человека, рыб и других видов животных (Zhu et al., 2003a; Edwards, 2005; Losel et al., 2005; Thomas, 2008).

Модуляция иммунной функции T-лимфоцитов. Существует целый ряд доказательств того, что ПГ оказывает модулирующее влияние на иммунную систему человека. Симптомы аутоиммунных заболеваний, а также иммунный ответ организма на внешнюю инфекцию изменяются в период беременности и в различных фазах менструального цикла, следуя изменениям уровня гормона (Kalo-Klein, Witkin, 1989; Nelson, Ostensen, 1997). ПГ вызывает локальную супрессию иммунного ответа в период беременности. Высокие концентрации стероида в плаценте, достигающие 20 мкМ, ингибируют материнский иммунный ответ против плода (Runnebaum et al.,

1975; Siiteri et al., 1977). Показано, что иммуносупрессивный эффект ПГ связан с ингибированием активации и пролиферации лимфоцитов в ответ на митогенные и иммунные стимулы (Clemens et al., 1979; Monterroso, Hansen, 1993). Тот факт, что обработка гормоном не влияет на эффекторные функции уже активированных Т-лимфоцитов, позволяет предположить, что ПГ блокирует ранние шаги активации этих клеток (Pavia et al., 1979). Молекулярный механизм супрессивного действия ПГ на лимфоциты в настоящее время не выяснен, однако ряд наблюдений свидетельствует в пользу того, что эффект стероида носит внегеномный характер. Обнаружено, что обработка человеческих Т-лимфоцитов и Т-клеточных линий ПГ быстро, специфично и обратимо ингибирует калиевые каналы, вызывает деполяризацию мембраны и блокирует кальциевый ответ. Более того, ПГ эффективно подавляет осцилляции внутриклеточного кальция, индуцированные активацией рецептора Т-клеток (TCR), т. е. физиологический, TCR-опосредованный иммунный ответ Т-лимфоцитов (Ehring et al., 1998). ПГ связывается дозозависимым образом, с высоким сродством и специфичностью с плазматическими мембранами иммортализованных Jurkat Т-клеток ($K_d = 4.25$ нМ) и вызывает быструю активацию мембранных ингибиторных G-белков (Dosiou et al., 2008). Данные факты указывают на участие ассоциированных с G-белками мембранных рецепторов в передаче сигнала стероида в Т-лимфоцитах. Экспрессия мембранных прогестероновых mPR α и mPR β в Т-лимфоцитах и клетках Jurkat человека была недавно продемонстрирована при помощи PCR и иммуноблотинга (Dosiou et al., 2008; Thomas, 2008). Отсутствие классических PR в этих клетках (Mansour et al., 1994; Dosiou et al., 2008) позволяет предполагать, что mPR α и mPR β могут являться основными рецепторными белками, опосредующими эффекты ПГ в Т-лимфоцитах. Необходимы дальнейшие исследования, включающие в себя эксперименты с siRNA и нокаутом, для выяснения функциональной роли этих рецепторов, а также последствий их активации в клетках иммунной системы.

Эффекты ПГ на клетки центральной нервной системы. ПГ оказывает плеiotропное действие на такие различные типы клеток центральной нервной системы, как нейроны, астроциты, олигодендриты, клетки Шванна и микроглия (Brinton et al., 2008). Примечательно, что клетки мозга способны конвертировать гормон и продуцировать нейростероиды, представляющие собой восстановленные нейроактивные метаболиты ПГ (Baulieu et al., 1996; Schumacher et al., 2000; Belelli et al., 2006). Ферменты, необходимые для синтеза ПГ и нейростероидов из холестерина, присутствуют в нейронах и клетках глии (Mellon, Griffin, 2002). Многие регионы головного мозга, включая гипоталамус, гиппокамп, кортекс, мозжечок и др., являются мишенями стероида. Интегральным результатом воздействия ПГ на эти регионы мозга являются нейрозащитный и нейрогенеративный эффекты. Показано, что ПГ способствует выживанию нейронов в участках мозга, подвергшихся воздействию окислительного стресса, ишемии, а также различных факторов, вызывающих нейродегенеративные заболевания. Подтверждено участие стероида в таких процессах, как регуляция возбудимости нейронов, нейрогенез, миелинизация, регуляция митохондриальной функции и регенерация мозговой травмы. Кроме того, ПГ участвует в регуляции таких комплексных функций головного мозга, как восприятие, настроение, обучение, запоминание, материнское поведение

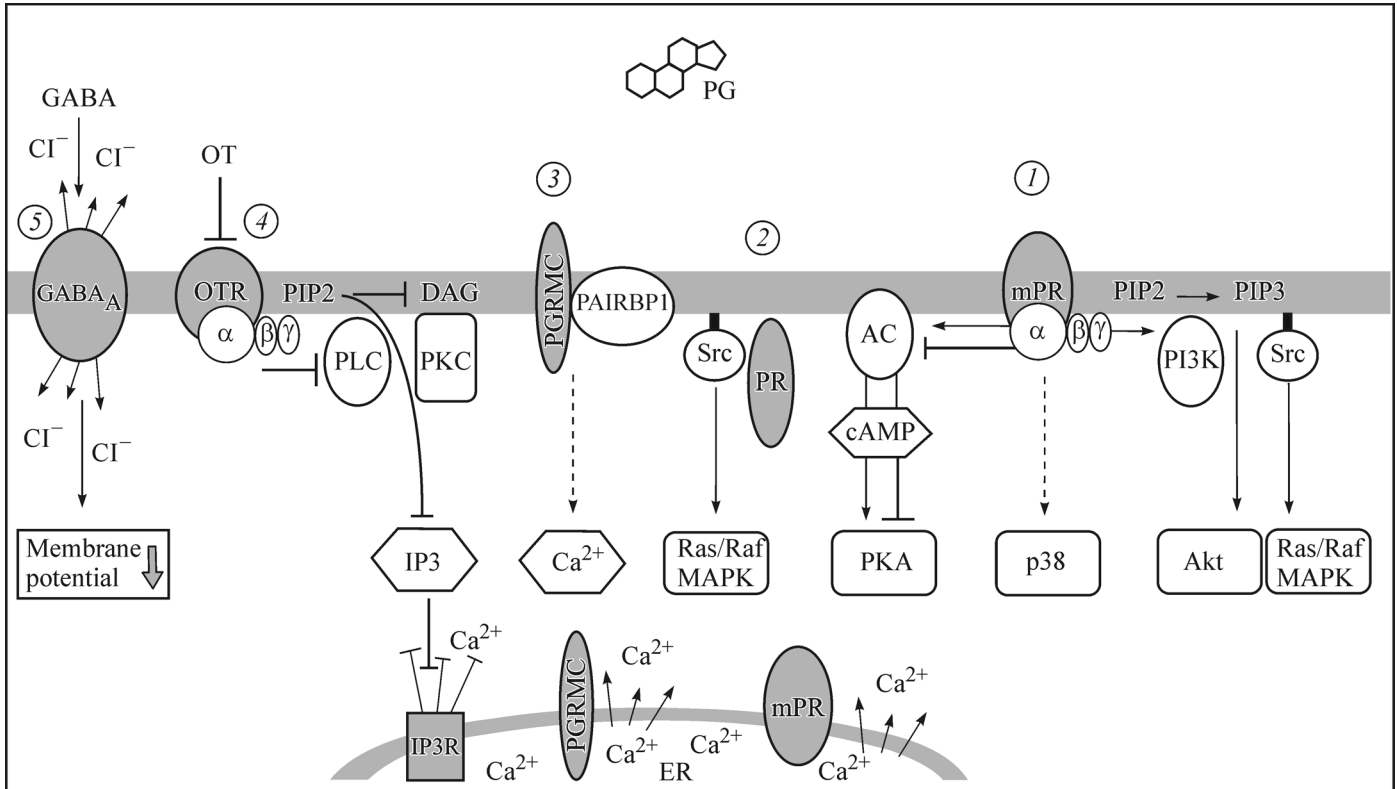
и др. (Brinton et al., 2008). На уровне организма ПГ и другие нейростероиды оказывают успокаивающее и анестетическое действие, что, вероятно, опосредовано их взаимодействием с рецептором GABA, который является основным рецептором торможения центральной нервной системы (Mitchell et al., 2008).

Установлено, что в клетках головного мозга ПГ действует как классический механизм регуляции геной экспрессии, так и внегеномную инициацию внутриклеточных сигнальных каскадов. В мозге экспрессируются рецепторы ПГ различных типов, включая классические PR, mPR, PGRMC1 и рецепторы GABA (Brinton et al., 2008). Рецепторы ПГ широко представлены во всех основных типах клеток и в различных участках мозга. Учитывая столь широкую распространенность рецепторов ПГ, очевидно, что стероид задействует множественные механизмы нейропротекции и регуляции функциональной активности мозга. Так, в культурах нейрональных клеток ПГ активирует MAPK и Akt-протеинкиназы, которые играют важную роль в выживании и пролиферации клеток (Singer et al., 1999; Singh, 2001). Найдено, что ПГ регулирует синаптическую передачу, а также модулирует синаптические эффекты эстрогена (Edwards et al., 2000; Nilsen, Brinton, 2002). Помимо прямого действия на нейроны ПГ также регулирует функциональное состояние других типов клеток. Показано, что стероид увеличивает проницаемость гематоэнцефалического барьера (Koenig et al., 1995; Roof et al., 1997; Grossman et al., 2004). Глубокое понимание этих процессов на молекулярном уровне в настоящее время отсутствует. Эффекты ПГ на различные типы рецепторов в специфических клетках мозга и ассоциированные с ними сигнальные каскады требуют дальнейшего изучения.

Рецепторы ПГ

Разнообразие внутриклеточных сигналов, инициируемых ПГ в различных биологических системах, заставляет предположить существование нескольких различных типов рецепторов ПГ, опосредующих эффекты стероида. Сайты связывания ПГ были обнаружены и частично охарактеризованы в ряде клеток, тканей и органов, в которых регистрируются быстрые внегеномные эффекты стероида. Однако их классификация в качестве внегеномных рецепторов ПГ является спорной. Несколько критериев должно быть удовлетворено, для того чтобы классифицировать ПГ-связывающий белок как мембранный внегеномный рецептор стероида. Среди них важнейшим являются такие, как сродство к гормону, внутриклеточная локализация, тканеспецифичность, вероятная трехмерная структура, способность инициировать внутриклеточных сигнал, гормональная регуляция и вовлеченность в физиологический ответ (Zhu et al., 2003b; Thomas, 2008). В настоящее время можно считать доказанным участие нескольких групп рецепторных белков в передаче внегеномного сигнала ПГ. Ими являются PR, mPR, PGRMC, а также рецепторы GABA, GABA $_A$ и окситоцина (OTR). Ниже представлены результаты исследований, подтверждающих функционирование данных белков в качестве рецепторов, опосредующих внегеномные эффекты ПГ. Данные этой части обзора представлены на рисунке.

Классический ядерный рецептор прогестерона. Pr экспрессируется в двух изоформах — PRA и



Рецепторы, опосредующие внегеномные эффекты прогестерона (ПГ).

Представлены рецепторы ПГ и ассоциированные с ними сигнальные пути, которые были идентифицированы в различных клетках и тканях. 1 — мембранный прогестинный рецептор, 2 — классический ядерный рецептор ПГ, 3 — мембранный компонент прогестеронового рецептора, 4 — рецептор окситоцина, 5 — рецептор GABA.

PRB, которые транскрибируются с различных промоторов одного гена (Kastner et al., 1990). При этом PRA представляет собой укороченную форму рецептора, в которой отсутствуют 164 N-концевые аминокислоты. Обе изоформы включают в себя идентичные С-концевой, лигандсвязывающий домен, ДНК-связывающий домен, расположенный в центре белковой молекулы, и N-концевой домен, частично делегированный в PRA. Еще одна значительно укороченная изоформа рецептора — PRC, которая инициируется с Met595, была идентифицирована в клетках человека (Wei et al., 1990a, 1990b). Найдено, что она модулирует транскрипционную активность PRA и PRB. Изоформы PR формируют гомодимеры и гетеродимеры, имеющие различный трансактивационный потенциал. Как правило, PRB является сильным активатором генной транскрипции, тогда как PRA функционирует как лиганд-зависимый репрессор PRB (Vegeto et al., 1993). В эпителиальных клетках и в клетках опухоли молочной железы PR вызывает быструю внегеномную активацию сигнальных каскадов Src—Ras—Erk и Jak2—Stat 3 (см. раздел «Регуляция пролиферации клеток молочной железы»). Данные события опосредованы взаимодействием короткого полипролинового региона в N-концевом домене PR (аминокислоты 421—428) с SH3-доменом Src-киназы и последующей Src-активацией, вызванной смещением SH3-домена Src-киназы (Boonyaratanakornkit et al., 2001). Мутации в этом регионе PR делают невозможными взаимодействия рецептора с Src-киназой, а также Src-активацию, однако не нарушают прогестеронзависимую активацию транскрипции. Так как полипролиновый регион присутствует в PRA и PRB, обе изоформы рецептора способны эффек-

тивно связывать и активировать Src-киназы в бесклеточной системе. Однако в культуре клеток только PRB, но не PRA активирует Src-киназу, что объясняется разницей во внутриклеточной локализации двух изоформ рецептора. Найдено, что PRB имеет ядерно-цитоплазматическую локализацию, тогда как PRA локализуется в основном в ядре (Lim et al., 1999; Boonyaratanakornkit et al., 2007, 2008). Мутантная форма PRA с делецией участка сигнала ядерной локализации концентрируется в цитоплазме и способна индуцировать ПГ-зависимую активацию Src. С другой стороны, PRB, транслоцированная в ядро при помощи дополнительного сигнала ядерной локализации, теряет способность активировать Src при связывании ПГ (Boonyaratanakornkit et al., 2007). Альтернативный механизм активации Src-киназы прогестинами был описан для клеток, экспрессирующих одновременно рецепторы прогестерона и эстрогена. В этом случае ПГ инициирует взаимодействие связанного со стероидом PRB со свободным рецептором эстрогена, который активирует Src-киназу прямым взаимодействием с Src SH2-доменом (Migliaccio et al., 1998). Найдено, что PRB взаимодействует с лигандсвязывающим доменом рецептора эстрогена посредством двух обширных регионов, фланкирующих полипролиновый мотив в N-концевом домене рецептора (Ballare et al., 2003). Оба этих региона необходимы для активации внутриклеточного сигнала прогестинами в клетках COS-7, трансфицированных PRB и рецептором эстрогена, тогда как делеция полипролинового участка в PRB не влияет на индуцированный ПГ ответ (Ballare et al., 2003). Необходимы дальнейшие исследования для выяснения роли и относительной важности пря-

мой и опосредованной активации Src-киназы классическим PR.

Вопрос о мембранной локализации PR представляет особый интерес и является предметом тщательного изучения. Недавнее исследование выявило присутствие эндогенных PRA- и PRB-изоформ в плазматической мембране клеток MCF-7 (Pedram et al., 2007). Более детальное исследование механизмов транслокации стероидных рецепторов в плазматическую мембрану позволило в лигандсвязывающем домене PR эстрогена и андростена идентифицировать консервативную последовательность из 9 аминокислот, которая опосредует мембранную локализацию этих рецепторов. Данная последовательность включает в себя сайт пальмитилирования (цистеин в позиции 0) — модификации, которая увеличивает гидрофобность и способствует мембранной ассоциации белков. Интактный PR, экспрессированный в клетках CHO, пальмитилируется, транслоцируется в клеточную мембрану и инициирует прогестеронзависимую активацию MAPK и PI3K, тогда как мутации в регионе сайта пальмитилирования блокируют эти события (Pedram et al., 2007).

Две изоформы PR — p82 xPR и p110 xPR — также были обнаружены в ооцитах лягушки *Xenopus laevis* (Bagowski et al., 2001). Было показано, что внутриклеточные инъекции xPR mRNA увеличивают чувствительность к ПГ и ускоряют индуцированное стероидом мейотическое созревание ооцитов *Xenopus* (Вауаа et al., 2000; Tian et al., 2000). При этом ингибитор транскрипции актиномицин D не оказывает влияния на данные эффекты. xPR также ускоряет активацию MAPK в энуклеированных ооцитах (Вауаа et al., 2000). Помимо этого, антисмысловые олигонуклеотиды к xPR блокируют способность ооцитов отвечать на ПГ (Tian et al., 2000). Хотя xPR имеет преимущественно цитоплазматическую локализацию, найдено, что около 5 % одной из изоформ рецептора (p82 xPR) ассоциированы с клеточными мембранами (Bagowski et al., 2001). Данное наблюдение позволяет объяснить тот факт, что не проникающие через мембрану конъюгаты ПГ также способны инициировать мейотическое созревание ооцитов. Недавно было продемонстрировано, что xPR, экспрессированный в клетках COS-7, ассоциируется с плазматической мембраной через лигандсвязывающий домен (Martinez et al., 2007). В настоящее время детальная характеристика сигнальных каскадов, инициируемых ПГ через мембранную популяцию xPR, не произведена. Однако показано, что прогестерон вызывает быструю активацию PI3K, которая коррелирует с физической ассоциацией xPR и PI3K. Помимо этого, была зарегистрирована гормонзависимая ассоциация xPR и активированной MAPK, которая способна фосфорилировать рецептор (Bagovskii et al., 2001). Следует заметить, что зависимые и не зависимые от гормона сайты фосфорилирования были идентифицированы во всех функциональных доменах PR, однако их регуляторная роль остается практически неисследованной (Weigel, Moore, 2007). Представленные результаты свидетельствуют о том, что классический PR несомненно вовлечен в опосредование внегеномных эффектов стероида на ооциты. Следует, однако, отметить, что структурные характеристики стероидов, индуцирующих мейотическое созревание ооцитов, не совпадают со стереоспецифичностью PR, а сродство рецептора к ПГ (10 нМ) значительно отличается от величины EC50, характерной для индукции GVBD (200 нМ) (Maller, 2001). Данные несоответствия указывают на участие в активации ооцитов других типов рецептора ПГ, отличных от PR.

Мембранные прогестиновые рецепторы (mPR). Тот факт, что одним из ранних эффектов ПГ в ряде клеток и тканей является быстрое снижение уровня внутриклеточного cAMP, позволяет предполагать участие ассоциированных с G-белком трансмембранных рецепторов в передаче сигнала стероида. Такие рецепторы были недавно впервые клонированы в яичниках рыб и нескольких видов позвоночных, включая человека, мышшь, свинью, лягушку *Xenopus laevis* и др. (Zhu et al., 2003a, 2003b). К настоящему времени можно констатировать, что mPR удовлетворяют всем упомянутым выше критериям мембранного внегеномного рецептора ПГ. Обнаруженные белки имеют мол. массу около 40 кДа и принадлежат к семейству прогестин- и адибонектин-Q-связывающих рецепторов (PAQR), которые включают в свою структуру семь трансмембранных доменов, являющихся характеристикой ассоциированных с G-белками трансмембранных рецепторов (Tang et al., 2005). Экспрессированные в бактериальных клетках рекомбинантные белки человека и мыши обратимо и высокоспецифично связывают ПГ *in vitro* с высокой аффинностью (20—30 нМ) (Zhu et al., 2003b). Тот факт, что антисмысловые олигонуклеотиды против mPR блокируют прогестининдуцированное мейотическое созревание ооцитов, свидетельствует о физиологической значимости рецепторов этого типа (Zhu et al., 2003a). mPR, эктопически экспрессированный в культуре трансформированных клеток молочной железы человека, локализуется в клеточной мембране и ингибирует аденилатциклазу при связывании ПГ. Ингибирование является пертуссин-чувствительным, свидетельствуя о том, что mPR ассоциирован с ингибиторными Gi-белками (Zhu et al., 2003a). Прямая ассоциация mPR с ингибиторными Gi-белками была продемонстрирована методом коиммунопреципитации (Thomas et al., 2007). Помимо этого, быстрая активация Erk1, 2 регистрируется при обработке клеток, эктопически экспрессирующих mPR, ПГ (Zhu et al., 2003a). Сообщалось также, что mPR овцы, имеющий гомологию соответственно 97 и 91 % с mPR α свиньи и человека, локализуется не в клеточной мембране, а в мембранах эндоплазматического ретикула при его экспрессии в клетках CHO. Обработка этих клеток ПГ вызывает увеличение внутриклеточной концентрации кальция за счет его мобилизации из ретикулярных резервов в отсутствие экстраклеточного кальция (Ashley et al., 2006).

В различных видах позвоночных было идентифицировано 13 высокоомологичных генов, кодирующих рецепторы семейства PAQR. Эти гены подразделяются на 3 отчетливых филогенетических субтипа α , β и γ . Рецепторы α экспрессируются главным образом в репродуктивных тканях, β -рецепторы — в мозге и нервных клетках, а γ -рецепторы — в легких, почках, толстой кишке и надпочечниках (Zhu et al., 2003b). Филогенетическая консервативность mPRs в различных видах позвоночных — от рыб и амфибий до человека — свидетельствует о большой функциональной значимости этих белков. К сегодняшнему дню функциональная роль mPRs установлена в таких биологических процессах, индуцируемых прогестинами, как инициация мейотического созревания ооцитов различных видов рыб и лягушек (Zhu et al., 2003b; Josefsberg Ben-Yehoshua, 2007), стимуляция подвижности сперматозоидов рыб (Thomas et al., 2005), регуляция сократительной активности миоэпителиальных клеток (Karteris et al., 2006), модуляция иммунной функции Т-лимфоцитов (Dosiou et al., 2008). Во всех этих клетках была проде-

монстрирована экспрессия mPR α и (или) mPR β субтипов, опосредующих внегеномные сигналы прогестина (Thomas, 2008).

Мембранные компоненты прогестеронового рецептора (PGRMC). Белки данного типа, относящиеся к семейству ассоциированных с мембраной прогестероновых рецепторов (MAPK), были описаны под различными синонимами во многих биологических системах. Гомологи PGRMC включают в себя такие недавние клонированные белки высших эукариот, как белок 25-Dx, индуцируемый диоксином в печени крысы; прогестеронсвязывающие белки mPR (28 и 56 кДа), биохимически очищенные из мембран свиной печени; гомологичный белок Rat p28 из мембран печени крысы; человеческий гомолог PGRMC, Hrp6; антигены *VemA* и *VemB* развивающейся нервной системы позвоночных (человека, крысы, мыши и рыбы); антигены *IZAg1* (26 кДа) и *IZAg2* (55 кДа) адренортикальных клеток крысы (Cahill, 2007). Помимо этого, гомологи PGRMC были идентифицированы в таких низших эукариотах, как нематода *C. elegans*, растение *Arabidopsis thaliana* и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, что указывает на эволюционную консервативность и высокую функциональную значимость этих белков. Аминокислотная последовательность белков PGRMC не имеет выраженной гомологии с описанными выше классическими и мембранными рецепторами ПГ. Филогенетический анализ генов PGRMC выявляет наличие двух эволюционных групп в этом семействе — PGRMC1 и PGRMC2, которые, по-видимому, дивергировали от общего гена-предшественника в ранних видах позвоночных (Gerdes et al., 1998; Runko, Kaprielian, 2004). Пространственная структура белков PGRMC весьма консервативна и включает в себя N-концевой трансмембранный домен и C-концевой лигандсвязывающий домен, имеющий фолдинг, характерный для гемсвязывающего домена цитохрома b5 (Mifsud, Bateman, 2002; Yoshitani et al., 2005). Предполагается, что лигандсвязывающий домен PGRMC также может содержать в своем составе гем (Mifsud, Bateman, 2002; Song et al., 2004; Ghosh et al., 2005). Трансмембранные домены PGRMC1 и PGRMC2 существенно различны, что может иметь своим следствием их взаимодействие с различными компонентами цитоплазматических и субклеточных мембран. Показано, что белки PGRMC способны к димеризации. Так, высокомолекулярная форма рецептора мембран свиной печени (56 кДа) представляет собой димер низкомолекулярной формы, который диссоциирует на субъединицы в присутствии ДТТ (Falkenstein et al., 2001). Функциональное значение димеризации в настоящее время остается невыясненным. Наличие множественных сайтов фосфорилирования, а также важных функциональных мотивов, которые могут опосредовать связывание протеинкиназ и сигнальных белков, содержащих SH2- и SH3-домены, было предсказано на основе анализа аминокислотной последовательности PGRMC (Cahill, 2007). Экспериментальная идентификация белков, взаимодействующих с PGRMC, является задачей предстоящих исследований. Наличие в аминокислотной последовательности белков PGRMC несколько консервативных мотивов YXX(L-IV), вовлеченных в мембранный транспорт и интернализацию белков, хорошо согласуется с данными о субклеточной локализации этих рецепторов (Runko, Kaprielian, 2004). Белки PGRMC в основном ассоциируются с такими мембранными компартментами клетки, как эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи (Nolte et al., 2000; Sakamoto et al., 2004). Найдено, что эти белки

также представлены на внешней плазматической мембране гранулезных клеток и сперматозоидов (Falkenstein et al., 1999; Peluso et al., 2006). Предполагается, что они могут менять свою внутриклеточную локализацию в биологических процессах (Min et al., 2004).

Следует особо остановиться на лигандсвязывающей активности белков PGRMC. Первоначально они были очищены как основные ПГ-связывающие компоненты микросомальных мембран (Meyer et al., 1996; Meyer et al., 1998). Однако позднее было найдено, что рекомбинантные белки, экспрессированные в бактериальных клетках, не обладают способностью связывать ПГ (Ghosh et al., 2005; Min et al., 2005). Было предположено, что в составе мембран PGRMC функционируют в комплексе с другими мембранными компонентами. Олигомерный белковый комплекс размером около 200 кДа, включающий в себя компоненты PGRMC с мол. массами 28 и 56 кДа, был обнаружен при помощи ген-фильтрации (Meyer et al., 1998). Было показано, что PGRMC1 и белок PAIRBP1, также известный как RAD288 или SERBP1, взаимодействуют друг с другом и формируют комплекс, который, по-видимому, функционирует как мембранный рецептор ПГ (Peluso et al., 2005; Suchanek et al., 2005). Предполагается, что помимо связывания ПГ PGRMC принимают участие в связывании холестерина и его метаболитов, а также глюкокортикоидов (Wright et al., 1997; Menzies et al., 1999).

В настоящее время представлены лишь фрагментарные доказательства причастности данного типа рецепторов к опосредованию быстрых внегеномных эффектов ПГ. Так, найдено, что антитело, взаимодействующее с N-концевым доменом PGRMC, способно блокировать индуцированную стероидом акросомную реакцию в сперматозоидах (Buddhikot et al., 1999). Показано, что ПГ-чувствительные клетки эпителия яичника экспрессируют на своей поверхности белки PGRMC1 и PGRMC2. Обработка этих клеток антителами против экстраклеточного домена PGRMC1 предотвращает антиапоптотический эффект ПГ (Engmann et al., 2006; Peluso et al., 2006). Внутриклеточные сигнальные каскады, ассоциированные с PGRMC-опосредованными эффектами ПГ, практически не изучены.

Рецепторы окситоцина (OTR) и GABA (GABA_A). ПГ-связывающие белки данного типа являются физиологическими рецепторами таких важнейших межклеточных медиаторов, как пептидный гормон окситоцин и нейротрансмиттер γ -аминобутират А (GABA). Найдено, что помимо основных лигандов эти мембранные рецепторы способны также связывать прогестины, что оказывает модулирующее влияние на рецепторассоциированные сигнальные каскады. Учитывая высокое сродство и специфичность взаимодействия с ПГ, предполагается, что данные рецепторы имеют специфические сайты связывания прогестина, отличные от сайтов связывания основных лигандов (Edwards, 2005; Mitchell et al., 2008).

OTR представляет собой ассоциированный с G-белками мембранный рецептор, который инициирует продукцию инозитолфосфата, повышение внутриклеточной концентрации кальция и секрецию простогландина F 2α при связывании окситоцина. ПГ в физиологической концентрации эффективно ингибирует эти процессы, а также блокирует связывание окситоцина с рецептором, являясь, таким образом, негативным аллостерическим модулятором OTR (Grazzini et al., 1998; Dunlap, Stormshak, 2004; Bishop, Stormshak, 2006). Эти эффекты могут быть индуцированы не проникающими в клетку конъюгатами стерои-

да и регистрируются уже через несколько минут после его добавления. Кроме того, они не могут быть блокированы ингибиторами транскрипции и трансляции, что указывает на внегеномный характер действия ПГ. Взаимодействие прогестерона с OTR имеет важное функциональное значение. Как уже отмечалось выше, прогестерону принадлежит существенная роль в контроле сократительной активности миометрии матки многих видов млекопитающих. На ранних сроках беременности прогестерон способствует релаксации миометрия и сохранению эмбриона. Высокий уровень прогестерона в этот период блокирует OTR, что снижает чувствительность миометрия к окситоцину, стимулирующему маточные сокращения. Поэтому резкое снижение уровня ПГ накануне родов способствует увеличению активности миометрия и скоординированным родовым схваткам (Challis et al., 2000).

Взаимодействие прогестерона с основным рецептором торможения центральной нервной системы млекопитающих — GABA_A — также имеет важное физиологическое значение. Данный рецептор представляет собой мембранный анионный хлор-селективный канал, который активируется при связывании GABA. Трансмембранный поток ионов хлора снижает мембранный потенциал и блокирует генерацию потенциала действия нейронов. GABA_A локализован на плазматической мембране синаптической области нейронов. Показано, что клетки головного мозга синтезируют из холестерина de novo целый ряд восстановленных форм ПГ, таких как дигидропрогестерон, тетрагидропрогестерон и др. (Mellon, Griffin, 2002; Belelli et al., 2006). Эти гормоны, называемые нейростероидами, являются позитивными модуляторами GABA_A, усиливающими функциональную активность рецепторов. В соответствии с механизмом действия ПГ и другие нейростероиды оказывают успокаивающее и анестетическое действие на человека и животных (Selye, 1941; Lambert et al., 1995; Akk et al., 2007). Найдено, что нарушения нейростероидогенеза вызывают дерегуляцию нейронального торможения, что выражается в патологических формах поведения млекопитающих (Dong et al., 2001). Для целого ряда неврологических и психических расстройств, включая депрессию, шизофрению, эпилепсию и др., являются характерными аномальные уровни эндогенных нейростероидов (Bekelli, Lambert, 2005; Akk et al., 2007). Результаты недавних исследований свидетельствуют о том, что нейростероиды взаимодействуют с трансмембранными гидрофобными регионами GABA_A-рецептора, не участвующими в связывании GABA (Hosie et al., 2006; Mitchell et al., 2008). Предполагается, что латеральная диффузия в клеточной мембране обеспечивает нейростероидам возможность доступа к данным регионам рецептора.

Список литературы

Akk G., Covey D. F., Evers A. S., Steinbach J. H., Zorumski C. F., Mennerick S. 2007. Mechanisms of neurosteroid interactions with GABA(A) receptors. *Pharmacol. Ther.* 116 : 35—57.

Ashley R. L., Clay C. M., Farmerie T. A., Niswender G. D., Nett T. M. 2006. Cloning and characterization of an ovine intracellular seven transmembrane receptor for progesterone that mediates calcium mobilization. *Endocrinology.* 147 : 4151—4159.

Bagowski C. P., Myers J. W., Ferrell J. E. 2001. The classical progesterone receptor associates with p42 MAPK and is involved in phosphatidylinositol 3-kinase signaling in *Xenopus* oocytes. *J. Biol. Chem.* 276 : 37 708—37 714.

Baldi E., Casano R., Falsetti C., Krausz C., Maggi M., Forti G. 1991. Intracellular calcium accumulation and responsiveness

to progesterone in capacitating human spermatozoa. *J. Androl.* 12 : 323—330.

Baldi E., Krausz C., Forti G. 1995. Nongenomic actions of progesterone on human spermatozoa. *Trends Endocrinol. Metab.* 6 : 198—205.

Ballaré C., Uhrig M., Bechtold T., Sancho E., Di Domenico M., Migliaccio A., Auricchio F., Beato M. 2003. Two domains of the progesterone receptor interact with the estrogen receptor and are required for progesterone activation of the c-Src/Erk pathway in mammalian cells. *Mol. Cell. Biol.* 23 : 1994—2008.

Baulieu E. E., Schumacher M., Koenig H., Jung-Testas I., Akwa Y. 1996. Progesterone as a neurosteroid: actions within the nervous system. *Cell. Mol. Neurobiol.* 16 : 143—154.

Bayaa M., Booth R. A., Sheng Y., Liu X. J. 2000. The classical progesterone receptor mediates *Xenopus* oocyte maturation through a nongenomic mechanism. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 97 : 12 607—12 612.

Belelli D., Herd M. B., Mitchell E. A., Peden D. R., Vardy A. W., Gentet L., Lambert J. J. 2006. Neuroactive steroids and inhibitory neurotransmission: mechanisms of action and physiological relevance. *Neuroscience.* 138 : 821—829.

Belelli D., Lambert J. J. 2005. Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nat. Rev. Neurosci.* 6 : 565—575.

Bishop C. V., Stormshak F. 2006. Nongenomic action of progesterone inhibits oxytocin-induced phosphoinositide hydrolysis and prostaglandin F2alpha secretion in the ovine endometrium. *Endocrinology.* 147 : 937—942.

Blackmore P. F. 1993. Rapid non-genomic actions of progesterone stimulate Ca²⁺ influx and the acrosome reaction in human sperm. *Cell Signal.* 5 : 531—538.

Blackmore P. F., Lattanzio F. A. 1991. Cell surface localization of a novel non-genomic progesterone receptor on the head of human sperm. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* : 331—336.

Blackmore P. F., Neulen J., Lattanzio F., Beebe S. J. 1991. Cell surface-binding sites for progesterone mediate calcium uptake in human sperm. *J. Biol. Chem.* 266 : 18 655—18 659.

Boonyaratanakornkit V., Bi Y., Rudd M., Edwards D. P. 2008. The role and mechanism of progesterone receptor activation of extra-nuclear signaling pathways in regulating gene transcription and cell cycle progression. *Steroids.* 73 : 922—928.

Boonyaratanakornkit V., McGowan E., Sherman L., Mancini M. A., Cheskis B. J., Edwards D. P. 2007. The role of extranuclear signaling actions of progesterone receptor in mediating progesterone regulation of gene expression and the cell cycle. *Mol. Endocrinol.* 21 : 359—375.

Boonyaratanakornkit V., Scott M. P., Ribon V., Sherman L., Anderson S. M., Maller J. L., Miller W. T., Edwards D. P. 2001. Progesterone receptor contains a proline-rich motif that directly interacts with SH3 domains and activates c-Src family tyrosine kinases. *Mol. Cell.* 8 : 269—280.

Brinton R. D., Thompson R. F., Foy M. R., Baudry M., Wang J., Finch C. E., Morgan T. E., Pike C. J., Mack W. J., Stacczyk F. Z., Nilsen J. 2008. Progesterone receptors: form and function in brain. *Front. Neuroendocrinol.* 29 : 313—339.

Buddhikot M., Falkenstein E., Wehling M., Meizel S. 1999. Recognition of a human sperm surface protein involved in the progesterone-initiated acrosome reaction by antisera against an endomembrane progesterone binding protein from porcine liver. *Mol. Cell. Endocrinol.* 158 : 187—193.

Cahill M. A. 2007. Progesterone receptor membrane component 1: an integrative review. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 105 : 16—36.

Cai Z., Stocco C. 2005. Expression and regulation of progestin membrane receptors in the rat corpus luteum. *Endocrinology.* 146 : 5522—5532.

Castoria G., Barone M. V., Di Domenico M., Bilancio A., Ametrano D., Migliaccio A., Auricchio F. 1999. Non-transcriptional action of oestradiol and progestin triggers DNA synthesis. *EMBO J.* 18 : 2500—2510.

Castoria G., Migliaccio A., D'Amato L., Di Stasio R., Ciocciola A., Lombardi M., Bilancio A., Di Domenico M., de Falco A.,

- Auricchio F. 2008. Integrating signals between cAMP and MAPK pathways in breast cancer. *Front. Biosci.* 13 : 1318—1327.
- Challis J. R. G., Matthews S. G., Gibb W., Lye S. J. 2000. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocrinol. Rev.* 21 : 514—550.
- Clemens L. E., Siiteri P. K., Stites D. P. 1979. Mechanism of immunosuppression of progesterone on maternal lymphocyte activation during pregnancy. *J. Immunol.* 122 : 1978—1985.
- Condon J. C., Jeyasuria P., Faust J. M., Wilson J. W., Mendelson C. R. 2003. A decline in the levels of progesterone receptor co-activators in the pregnant uterus at term may antagonize progesterone receptor function and contribute to the initiation of parturition. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 100 : 9518—9523.
- Cork R. J., Cicirelli M. F., Robinson K. R. 1987. A rise in cytosolic calcium is not necessary for maturation of *Xenopus laevis* oocytes. *Develop. Biol.* 121 : 41—47.
- Di Domenico M., Castoria G., Bilancio A., Migliaccio A., Auricchio F. 1996. Estradiol activation of human colon carcinoma-derived Caco-2 cell growth. *Cancer Res.* 56 : 4516—4521.
- Dong E., Matsumoto K., Uzunova V., Sugaya I., Takahata H., Nomura H., Watanabe H., Costa E., Guidotti A. 2001. Brain 5 α -pregnen-20-one and allopregnanolone synthesis in a mouse model of protracted social isolation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 98 : 2849—2854.
- Dosiou C., Hamilton A. E., Pang Y., Overgaard M. T., Tulac S., Dong J., Thomac P., Giudice L. C. 2008. Expression of membrane progesterone receptors on human T lymphocytes and Jurkat cells and activation of G-proteins by progesterone. *J. Endocrinol.* 196 : 67—77.
- Dunlap K. A., Stormshak F. 2004. Nongenomic inhibition of oxytocin binding by progesterone in the ovine uterus. *Biol. Reprod.* 70 : 65—69.
- Edwards D. P. 2005. Regulation of signal transduction pathways by estrogen and progesterone. *Annu. Rev. Physiol.* 67 : 335—376.
- Edwards H. E., Epps T., Carlen P. L., MacLusky N. 2000. Progesterin receptors mediate progesterone suppression of epileptiform activity in tetanized hippocampal slices *in vitro*. *Neuroscience.* 101 : 895—906.
- Ehring G. R., Kerschbaum H. H., Eder C., Neben A. L., Fanger C. M., Khoury R. M., Negulescu P. A., Cahalan M. D. 1998. A nongenomic mechanism for progesterone-mediated immunosuppression: inhibition of K⁺ channels, Ca²⁺ signaling, and gene expression in T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 188 : 1593—1602.
- Engmann L., Losel R., Wehling M., Peluso J. J. 2006. Progesterone regulation of human granulosa/luteal cell viability by an RU486-independent mechanism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 291 : 4962—4968.
- Eval K., Jamnongjit M., Bhagavath B., Hammes S. R. 2007. Testosterone and progesterone rapidly attenuate plasma membrane Gbetagamma-mediates signaling in *Xenopus laevis* oocytes by signaling through classical steroid receptors. *Mol. Endocrinol.* 21 : 186—196.
- Falkenstein E., Eisen C., Schmieding K., Krautkrämer M., Stein C., Lösel R., Wehling M. 2001. Chemical modification and structural analysis of the progesterone membrane binding protein from porcine liver membranes. *Mol. Cell. Biochem.* 218 : 71—79.
- Falkenstein E., Heck M., Gerdes D., Grube D., Christ M., Weigel M., Buddhikot M., Meizel S., Wehling M. 1999. Specific progesterone binding to a membrane protein and related nongenomic effects on Ca²⁺-fluxes in sperm. *Endocrinology.* 140 : 5999—6002.
- Fantl V., Stamp G., Andrews A., Rosewell I., Dickson C. 1995. Mice lacking cyclin D1 are small and show defects in eye and mammary gland development. *Genes Develop.* 9 : 2364—2372.
- Finidori-Lepicard J., Schorderet-Slatkine S., Hanoune J., Baulieu E. E. 1981. Progesterone inhibits membrane-bound adenylate cyclase in *Xenopus laevis* oocytes. *Nature.* 292 : 255—257.
- Florman H. M. 1994. Sequential focal and global elevations of sperm intracellular Ca²⁺ are initiated by the zona pellucida during acrosomal exocytosis. *Develop. Biol.* 165 : 152—164.
- Fujii T., Hoover D. J., Channing C. P. 1983. Changes in inhibition activity, and progesterone, oestrogen and androstenedione concentrations, in rat follicular fluid throughout the oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil.* 69 : 307—314.
- Gerdes D., Wehling M., Leube B., Falkenstein E. 1998. Cloning and tissue expression of two putative steroid membrane receptors. *Biol. Chem.* 379 : 907—911.
- Ghosh K., Thompson A. M., Goldbeck R. A., Shi X., Whitman S., Oh E., Zhiwu Z., Vulpe C., Holman T. R. 2005. Spectroscopic and biochemical characterization of heme binding to yeast Dap 1p and mouse PGRMC1p. *Biochemistry.* 44 : 16 729—16 736.
- Grazzini E., Guillon G., Mouillac B., Zingg H. H. 1998. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature.* 392 : 509—512.
- Grossman K. J., Goss C. W., Stein D. G. 2004. Effects of progesterone on the inflammatory response to brain injury in the rat. *Brain Res.* 1008 : 29—39.
- Han J. K., Lee S. K. 1995. Reducing PIP2 hydrolysis, Ins (1, 4, 5) P3 receptor availability, or calcium gradients inhibits progesterone-stimulated *Xenopus* oocyte maturation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 217 : 931—939.
- Harper C. V., Barratt C. L., Publicover S. J. 2004. Stimulation of human spermatozoa with progesterone gradients to simulate approach to the oocyte. Induction of [Ca(2+)](i) oscillations and cyclical transitions in flagellar beating. *J. Biol. Chem.* 279 : 46 315—46 325.
- Harrison R. A. 1996. Capacitation mechanisms, and the role of capacitation as seen in eutherian mammals. *Reprod. Fertil. Develop.* 8 : 581—594.
- Hehl S., Stoyanov B., Oehrl W., Schönherr R., Wetzker R., Heinemann S. H. 2001. Phosphoinositide 3-kinase-gamma induces *Xenopus* oocyte maturation via lipid kinase activity. *Biochem. J.* 360 : 691—698.
- Hosie A. M., Wilkins M. E., da Silva H. M., Smart T. G. 2006. Endogenous neurosteroids regulate GABAA receptors through two discrete transmembrane sites. *Nature.* 444 : 486—489.
- Hu Q., Klippel A., Muslin A. J., Fantl W. J., Williams L. T. 1995. Ras-dependent induction of cellular responses by constitutively active phosphatidylinositol-3 kinase. *Science.* 268 : 100—102.
- Huchon D., Ozon R., Fischer E. H., Demaille J. G. 1981. The pure inhibitor of cAMP-dependent protein kinase initiates *Xenopus laevis* meiotic maturation. A 4-step scheme for meiotic maturation. *Mol. Cell. Endocrinol.* 22 : 211—222.
- Josefsberg Ben-Yehoshua L., Lewellyn A. L., Thomas P., Malter J. L. 2007. The role of *Xenopus* membrane progesterone receptor beta in mediating the effect of progesterone on oocyte maturation. *Mol. Endocrinol.* 21 : 664—773.
- Kalo-Klein A., Witkin S. S. 1989. *Candida albicans*: cellular immune system interactions during different stages of the menstrual cycle. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 161 : 1132—1136.
- Karteris E., Zervou S., Pang Y., Dong J., Hillhouse E. W., Randeva H. S., Thomas P. 2006. Progesterone signaling in human myometrium through two novel membrane G protein-coupled receptors: potential role in functional progesterone withdrawal at term. *Mol. Endocrinol.* 20 : 1519—1534.
- Kastner P., Krust A., Turcotte B., Stropp U., Tora L., Gronemeyer H., Chambon P. 1990. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J.* 9 : 1603—1614.
- Koenig H. L., Schumacher M., Ferzaz B., Thi A. N., Ressaouhes A., Guennoun R., Jung-Testas I., Robel P., Akwa Y., Baulieu E. E. 1995. Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells. *Science.* 268 : 1500—1503.
- Lambert J. J., Belelli D., Hill-Venning C., Peters J. A. 1995. Neurosteroids and GABAA receptor function. *Trends Pharmacol. Sci.* 16 : 295—303.
- Leclerc P., de Lamirande E., Gagnon C. 1996. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent regulation of protein tyrosine phosphorylation in relation to human sperm capacitation and motility. *Biol. Reprod.* 55 : 684—692.
- Lieberherr M., Grosse B., Machelon V. 1999. Phospholipase C-beta and ovarian sex steroids in pig granulosa cells. *J. Cell. Biochem.* 74 : 50—60.

- Lim C. S., Baumann C. T., Htun H., Xian W., Irie M., Smith C. L., Hager G. L. 1999. Differential localization and activity of the A- and B-forms of the human progesterone receptor using green fluorescent protein chimeras. *Mol. Endocrinol.* 13 : 366—375.
- Lösel R., Breiter S., Seyfert M., Wehling M., Falkenstein E. 2005. Classic and non-classic progesterone receptors are both expressed in human spermatozoa. *Horm. Metab. Res.* 37 : 10—14.
- Lukoseviciute K., Zilinskas H., Januskauskas A. 2004. Effect of exogenous progesterone on post-thaw capacitation and acrosome reaction of bovine spermatozoa. *Reprod. Domest. Anim.* 39 : 154—161.
- Lutz L. B., Kim B., Jahani D., Hammes S. R. 2000. G protein beta gamma subunits inhibit nongenomic progesterone-induced signaling and maturation in *Xenopus laevis* oocytes. Evidence for a release of inhibition mechanism for cell cycle progression. *J. Biol. Chem.* 275 : 41 512—41 520.
- Lydon J. P., DeMayo F. J., Funk C. R., Mani S. K., Hughes A. R., Montgomery C. A., Jr., Shyamala G., Conneely O. M., O'Malley B. W. 1995. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. *Genes Develop.* 9 : 2266—2278.
- Maller J. L. 2001. The elusive progesterone receptor in *Xenopus* oocytes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 98 : 8—10.
- Maller J. L., Krebs E. G. 1977. Progesterone-stimulated meiotic division in *Xenopus* oocytes. Induction by regulatory subunit and inhibition by catalytic subunit of adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* 252 : 1712—1718.
- Mansour I., Reznikoff-Etievant M. F., Netter A. 1994. No evidence for the expression of the progesterone receptor on peripheral blood lymphocytes during pregnancy. *Hum. Reprod.* 9 : 1546—1549.
- Marquez B., Suarez S. S. 2004. Different signaling pathways in bovine sperm regulate capacitation and hyperactivation. *Biol. Reprod.* 70 : 1626—1633.
- Martinez S., Pastén P., Suarez K., García A., Nualart F., Montecino M., Hinrichs M. V., Olate J. 2007. Classical *Xenopus laevis* progesterone receptor associates to the plasma membrane through its ligand-binding domain. *J. Cell. Physiol.* 211 : 560—567.
- Masui Y., Markert C. L. 1971. Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J. Exp. Zool.* 177 : 129—145.
- Meizel S., Turner K. O. 1991. Progesterone acts at the plasma membrane of human sperm. *Mol. Cell. Endocrinol.* 177 : 1—5.
- Mellon S. H., Griffin L. D. 2002. Neurosteroids: biochemistry and clinical significance. *Trends Endocrinol. Metab.* 13 : 35—43.
- Mendoza C., Tesarik J. 1993. A plasma-membrane progesterone receptor in human sperm is switched on by increasing intracellular free calcium. *FEBS Lett.* 330 : 57—60.
- Menzies G. S., Howland K., Rae M. T., Bramley T. A. 1999. Stimulation of specific binding of [³H]-progesterone to bovine luteal cell-surface membranes: specificity of digitonin. *Mol. Cell. Endocrinol.* 153 : 57—69.
- Mesiano S., Chan E. C., Fitter J. T., Kwek K., Yeo G., Smith R. 2002. Progesterone with drawal and estrogen activation in human parturition are coordinated by progesterone receptor A expression in the myometrium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87 : 2924—2930.
- Meyer C., Schmid R., Schmieding K., Falkenstein E., Wehling M. 1998. Characterization of high affinity progesterone-binding membrane proteins by anti-peptide antiserum. *Steroids.* 63 : 111—116.
- Meyer C., Schmid R., Scriba P. C., Wehling M. 1996. Purification and partial sequencing of high-affinity progesterone-binding site(s) from porcine liver membranes. *Eur. J. Biochem.* 239 : 726—731.
- Mifsud W., Bateman A. 2002. Membrane-bound progesterone receptors contain a cytochrome b5-like ligand-binding domain. *Genome Biol. RESEARCH0068.* 1—5.
- Migliaccio A., Di Domenico M., Castoria G., de Falco A., Bontempo P., Nola E., Auricchio F. 1996. Tyrosine kinase/p21ras/MAP-kinase pathway activation by estradiol-receptor complex in MCF-7 cells. *EMBO J.* 15 : 1292—1300.
- Migliaccio A., Piccolo D., Castoria G., Di Domenico M., Bilancio A., Lombardi M., Gong W., Beato M., Auricchio F. 1998. Activation of the Src/p21ras/Erk pathway by progesterone receptor via cross-talk with estrogen receptor. *EMBO J.* 17 : 2008—2018.
- Min L., Strushkevich N. V., Harnastai I. N., Iwamoto H., Gillep A. A., Takemori H., Usanov S. A., Nonaka Y., Hori H., Vinson G. P., Okamoto M. 2005. Molecular identification of adrenal inner zone antigen as a heme-binding protein. *FEBS J.* 272 : 5832—5843.
- Min L., Takemori H., Nonaka Y., Katoh Y., Doi J., Horike N., Osamu H., Raza F. S., Vinson G. P., Okamoto M. 2004. Characterization of the adrenal-specific antigen IZA (inner zone antigen) and its role in the steroidogenesis. *Mol.* : 143—148.
- Mitchell E. A., Herd M. B., Gunn B. G., Lambert J. J., Belelli D. 2008. Neurosteroid modulation of GABAA receptors: molecular determinants and significance in health and disease. *Neurochem. Int.* 52 : 588—595.
- Monterroso V. H., Hansen P. J. 1993. Regulation of bovine and ovine lymphocyte proliferation by progesterone: modulation by steroid receptor antagonists and physiological status. *Acta endocrinol.* 129 : 532—535.
- Morrison T., Waggoner L., Whitworth-Langley L., Stith B. J. 2000. Nongenomic action of progesterone[^] activation of *Xenopus* oocyte phospholipase C through a plasma membrane-associated tyrosine kinase. *Endocrinology.* 141 : 2145—2152.
- Muslin A. J., Klippel A., Williams L. T. 1993. Phosphatidylinositol 3-kinase activity is important for progesterone-induced *Xenopus* oocyte maturation. *Mol. Cell. Biol.* 13 : 6661—6666.
- Nelson J. L., Ostensen M. 1997. Pregnancy and rheumatoid arthritis. *Rheum. Dis. Clin. North. Amer.* 23 : 195—212.
- Nilsen J., Brinton R. D. 2002. Impact of progestins on estrogen-induced neuroprotection: synergy by progesterone and 19-norprogesterone and antagonism by medroxyprogesterone acetate. *Endocrinology.* 143 : 205—212.
- Nölte I., Jeckel D., Wieland F. T., Sohn K. 2000. Localization and topology of ratp28, a member of a novel family of putative steroid-binding proteins. *Biochim. biophys. acta.* 1543 : 123—130.
- Osman R. A., Andria M. L., Jones A. D., Meizel S. 1989. Steroid induced exocytosis: the human sperm acrosome reaction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160 : 828—833.
- Pace M. C., Thomas P. 2005. Steroid-induced oocyte maturation in Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) is dependent on activation of the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt signal transduction pathway. *Biol. Reprod.* 73 : 988—996.
- Park O. K., Mayo K. E. 1991. Transient expression of progesterone receptor messenger RNA in ovarian granulosa cells after the preovulatory luteinizing hormone surge. *Mol. Endocrinol.* 5 : 967—978.
- Pavia C., Siiteri P. K., Perlman J. D., Stites D. P. 1979. Suppression of murine allogeneic cell interactions by sex hormones. *J. Reprod. Immunol.* 1 : 33—38.
- Pedram A., Razandi M., Sainson R. C., Kim J. K., Hughes C. C., Levin E. R. 2007. A conserved mechanism for steroid receptor translocation to the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 282 : 22 278—22 288.
- Peluso J. J. 2004. Rapid actions of progesterone on granulosa cells. *Steroids.* 69 : 579—583.
- Peluso J. J. 2006. Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. *Biol. Reprod.* 75 : 2—8.
- Peluso J. J. 2007. Non-genomic actions of progesterone in the normal and neoplastic mammalian ovary. *Semin. Reprod. Med.* 25 : 198—207.
- Peluso J. J., Bremner T., Fernandez G., Pappalardo A., White B. A. 2003. Expression pattern and role of a 60-kilodalton progesterone binding protein in regulating granulosa cell apoptosis: involvement of the mitogen-activated protein kinase cascade. *Biol. Reprod.* 68 : 122—128.
- Peluso J. J., Fernandez G., Pappalardo A., White B. A. 2001. Characterization of a putative membrane receptor for progesterone in rat granulosa cells. *Biol. Reprod.* 65 : 94—101.

- Peluso J. J., Fernandez G., Pappalardo A., White B. A. 2002. Membrane-initiated events account for progesterone's ability to regulate intracellular free calcium levels and inhibit rat granulosa cell mitosis. *Biol. Reprod.* 67 : 379—385.
- Peluso J. J., Pappalardo A. 1998. Progesterone mediates its anti-mitogenic and anti-apoptotic actions in rat granulosa cells through a progesterone-binding protein with gamma aminobutyric acid receptor-like features. *Biol. Reprod.* 58 : 1121—1137.
- Peluso J. J., Pappalardo A. 2004. Progesterone regulates granulosa cell viability through a protein kinase G-dependent mechanism that may involve 14-3-3sigma. *Biol. Reprod.* 71 : 1870—1878.
- Peluso J. J., Pappalardo A., Losel R., Wehling M. 2005. Expression and function of PAIRBP1 within gonadotropin-primed immature rat ovaries: PAIRBP1 regulation of granulosa and luteal cell viability. *Biol. Reprod.* 73 : 261—720.
- Peluso J. J., Pappalardo A., Losel R., Wehling M. 2006. Progesterone membrane receptor component 1 expression in the immature rat ovary and its role in mediating progesterone's antiapoptotic action. *Endocrinology.* 147 : 3133—3140.
- Peluso J. J., Romak J., Liu X. 2008. Progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) is the mediator of progesterone's antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells as revealed by PGRMC1 small interfering ribonucleic acid treatment and functional analysis of PGRMC1 mutations. *Endocrinology.* 149 : 534—543.
- Pieber D., Allport V. C., Hills F., Johnson M., Bennett P. R. 2001. Interactions between progesterone receptor isoforms in myometrial cells in human labour. *Mol. Hum. Reprod.* 7 : 875—879.
- Proietti C., Salatino M., Rosembli C., Carnevale R., Pecci A., Kornblihtt A. R., Molinolo A. A., Frahm I., Charreau E. H., Schillaci R., Elizalde P. V. 2005. Progestins induce transcriptional activation of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) via a Jak- and Src-dependent mechanism in breast cancer cells. *Mol. Cell. Biol.* 25 : 4826—4840.
- Rathi R., Colenbrander B., Stout T. A., Bevers M. M., Gadella B. M. 2003. Progesterone induces acrosome reaction in stallion spermatozoa via a protein tyrosine kinase dependent pathway. *Mol. Reprod. Develop.* 64 : 120—128.
- Roldan E. R., Murase T., Shi Q. X. 1994. Exocytosis in spermatozoa in response to progesterone and zona pellucida, *Science.* 266 : 1578—1581.
- Roof R. L., Hoffman S. W., Stein D. G. 1997. Progesterone protects against lipid peroxidation following traumatic brain injury in rats. *Mol. Chem. Neuropathol.* 31 : 1—11.
- Runko E., Kaprielian Z. 2004. Caenorhabditis elegans VEM-1, a novel membrane protein, regulates the guidance of ventral nerve cord-associated axons. *J. Neurosci.* 24 : 9015—9026.
- Runnebaum B., Runnebaum H., Stöber I., Zander J. 1975. Progesterone 20 alpha-dihydroprogesterone and 20 beta-dihydroprogesterone levels in different compartments from the human foeto-placental unit. *Acta endocrinol.* 80 : 558—568.
- Sadler S. E., Maller J. L. 1985. Inhibition of *Xenopus* oocyte adenylate cyclase by progesterone: a novel mechanism of action. *Adv. Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res.* 19 : 179—194.
- Sakamoto H., Ukena K., Takemori H., Okamoto M., Kawata M., Tsutsui K. 2004. Expression and localization of 25-Dx, a membrane-associated putative progesterone-binding protein, in the developing Purkinje cell. *Neuroscience.* 126 : 325—334.
- Sanborn B. M., Ku C. Y., Shlykov S., Babich L. 2005. Molecular signaling through G-protein-coupled receptors and the control of intracellular calcium in myometrium. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 12 : 479—487.
- Sato K., Tokmakov A. A., Fukami Y. 2000a. Fertilization signalling and protein-tyrosine kinases. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 126 : 129—148.
- Sato K., Tokmakov A. A., Iwasaki T., Fukami Y. 2000b. Tyrosine kinase-dependent activation of phospholipase Cgamma is required for calcium transient in *Xenopus* egg. fertilization. *Develop. Biol.* 224 : 453—469.
- Schorderet-Slatkine S., Schorderet M., Boquet P., Godeau F., Baulieu E. E. 1978. Progesterone-induced meiosis in *Xenopus laevis* oocytes: a role for cAMP at the «maturation-promoting factor» level. *Cell.* 15 : 7069—7125.
- Schreiber J. R., Nakamura K., Erickson G. F. 1980. Progestins inhibit FSH-stimulated steroidogenesis in cultured rat granulosa cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 19 : 165—173.
- Schumacher M., Akwa Y., Guennoun R., Robert F., Labombarda F., Desarnaud F., Robel P., De Nicola A. F., Baulieu E. E. 2000. Steroid synthesis and metabolism in the nervous system: trophic and protective effects. *J. Neurocytol.* 29 : 307—326.
- Selye H. 1941. Anesthetic effect of steroid hormones. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 46 : 116—121.
- Sheng Y Tiberi M., Booth R. A., Ma C., Liu X. J. 2001. Regulation of *Xenopus* oocyte meiosis arrest by G protein betagamma subunits. *Curr. Biol.* 11 : 405—416.
- Sicinski P., Donaher J. L., Parker S. B., Li T., Fazeli A., Gardner H., Haslam S. Z., Bronson R. T., Elledge S. J., Weinberg R. A. 1995. Cyclin D1 provides a link between development and oncogenesis in the retina and breast. *Cell.* 82 : 621—630.
- Siiteri P. K., Febres F., Clemens L. E., Chang R. J., Gonds B., Stites D. 1977. Progesterone and maintenance of pregnancy: is progesterone nature's immunosuppressant? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 286 : 384—397.
- Singer C. A., Figueroa-Masot X. A., Batchelor R. H., Dorsa D. M. 1999. The mitogen-activated protein kinase pathway mediates estrogen neuroprotection after glutamate toxicity in primary cortical neurons. *J. Neurosci.* 19 : 2455—2463.
- Singh M. 2001. Ovarian hormones elicit phosphorylation of Akt and extracellular-signal regulated kinase in explants of the cerebral cortex. *Endocrine.* 14 : 407—415.
- Sirivaidyapong S., Bevers M. M., Gadella B. M., Colenbrander B. 2001. Induction of the acrosome reaction in dog sperm cells is dependent on epididymal maturation: the generation of a functional progesterone receptor is involved. *Mol. Reprod. Develop.* 58 : 451—459.
- Smith L. D., Ecker R. E. 1971. The interaction of steroids with *Rana pipiens* oocytes in the induction of maturation. *Develop. Biol.* 25 : 232—247.
- Song J., Vinarov D., Tyler E. M., Shahan M. N., Tyler R. C., Markley J. L. 2004. Hypothetical protein At2g24940.1 from *Arabidopsis thaliana* has a cytochrome b5 like fold. *J. Biomol. NMR.* 30 : 215—218.
- Stauss C. R., Votta T. J., Suarez S. S. 1995. Sperm motility hyperactivation facilitates penetration of the hamster zona pellucida. *Biol. Reprod.* 53 : 1280—1285.
- Stiith B. J., Jaynes C., Goalstone M., Silva S. 1992. Insulin and progesterone increase 32PO4-labeling of phospholipids and inositol 1, 4, 5-trisphosphate mass in *Xenopus* oocytes. *Cell Calcium.* 13 : 341—352.
- Stiith B. J., Proctor W. R. 1989. Microinjection of inositol 1, 2-(cyclic)-4, 5-trisphosphate, inositol 1, 3, 4, 5-tetrakisphosphate, and inositol 1, 4, 5-trisphosphate into intact *Xenopus* oocytes can induce membrane currents independent of extracellular calcium. *J. Cell. Biochem.* 40 : 321—330.
- Stoyanov B., Volinia S., Hanck T., Rubio I., Loubtchenkov M., Malek D., Stoyanova S., Vanhaesebroeck B., Dhand R., Nürnberg B. et al. 1995. Cloning and characterization of a G protein-activated human phosphoinositide-3 kinase. *Science.* 269 : 690—693.
- Suarez S. S., Varosi S. M., Dai X. 1993. Intracellular calcium increases with hyperactivation in intact, moving hamster sperm and oscillates with the flagellar beat cycle. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90 : 4660—4664.
- Suchanek M., Radzikowska A., Thiele C. 2005. Photo-leucine and photo-methionine allow identification of protein-protein interactions in living cells. *Nat. Methods.* 2 : 261—267.
- Tang Y. T., Hu T., Arterburn M., Boyle B., Bright J. M., Emtage P. C., Funk W. D. 2005. RAQR proteins: a novel membrane receptor family defined by an ancient 7-transmembrane pass motif. *J. Mol. Evol.* 61 : 372—380.
- Tesarik J., Mendoza C., Moos J., Carreras A. 1992. Selective expression of a progesterone receptor on the human sperm surface. *Fertil. Steril.* 58 : 784—792.

- Tesarik J., Moos J., Mendoza C. 1993. Stimulation of protein phosphorylation by a progesterone receptor on the cell surface of human sperm. *Endocrinology*. 133 : 328—335.
- Thomas P. 2008. Characteristics of membrane progesterin receptor alpha (mPR α) and progesterone membrane receptor component 1 (PGMRC1) and their roles in mediating rapid progesterin actions. *Front. Neuroendocrinol.* 29 : 292—312.
- Thomas P., Pang Y., Dong J., Groenen P., Kelder J., de Vlieg J., Zhu Y., Tubbs C. 2007. Steroid and G protein binding characteristics of the seatrout and human progesterin membrane receptor alpha subtypes and their evolutionary origins. *Endocrinology*. 148 : 705—718.
- Thomas P., Tubbs C., Detweiler C., Das S., Ford L., Breckenridge-Miller D. 2005. Binding characteristics, hormonal regulation and identity of the sperm membrane progesterin receptor in Atlantic croaker. *Steroids*. 70 : 427—433.
- Tian J., Kim S., Heilig E., Ruderman J. V. 2000. Identification of XPR-1, a progesterone receptor required for *Xenopus* oocyte activation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 97 : 14 358—14 363.
- Tokmakov A., Iwasaki T., Itakura S., Sato K., Shirouzu M., Fukami Y., Yokoyama S. 2005. Regulation of Src kinase activity during *Xenopus* oocyte maturation. *Develop. Biol.* 278 : 289—300.
- Uhler M. L., Leung A., Chan S. Y., Wang C. 1992. Direct effects of progesterone and antiprogesterone on human sperm hyperactivated motility and acrosome reaction. *Fertil. Steril.* 58 : 1191—1198.
- Vegeto E., Shahbaz M. M., Wen D. X., Goldman M. E., O'Malley B. W., McDonnell D. P. 1993. Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function. *Mol. Endocrinol.* 7 : 1244—1255.
- Visconti P. E., Moore G. D., Bailey J. L., Leclerc P., Connors S. A., Pan D., Olds-Clarke P., Kopf G. S. 1995. Capacitation of mouse spermatozoa. II. Protein tyrosine phosphorylation and capacitation are regulated by a cAMP-dependent pathway. *Development*. 121 : 1139—1150.
- Wasserman W. J., Pinto L. H., O'Connor C. M., Smith L. D. 1980. Progesterone induces a rapid increase in [Ca²⁺] in of *Xenopus laevis* oocytes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 77 : 1534—1536.
- Wei L. L., Gonzalez-Aller C., Wood W. M., Miller L. A., Horwitz K. B. 1990. 5'-Heterogeneity in human progesterone receptor transcripts predicts a new amino-terminal truncated «C»-receptor and unique A-receptor messages. *Mol. Endocrinol.* 4 : 1833—1840.
- Wei L. L., Hawkins P., Baker C., Norris B., Sheridan P. L., Quinn P. G. 1996. An amino-terminal truncated progesterone receptor isoform, PRC, enhances progesterin-induced transcriptional activity. *Mol. Endocrinol.* 10 : 1379—1387.
- Weigel N. L., Moore N. L. 2007. Steroid receptor phosphorylation: a key modulator of multiple receptor functions. *Mol. Endocrinol.* 21 : 2311—2319.
- Witte T. S., Schäfer-Somi S. 2007. Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 102 : 181—193.
- Wright M. C., Allenby G., Paine A. J. 1997. Effect of vitamin A deficiency on the expression of low affinity glucocorticoid binding site activity and glucocorticoid-dependent induction of CYP3A2 in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 237 : 211—216.
- Yang J., Serres C., Philibert D., Robel P., Baulieu E. E., Jouannet P. 1994. Progesterone and RU486: opposing effects on human sperm. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 91 : 529—533.
- Yoshitani N., Satou K., Saito K., Suzuki S., Hatanaka H., Seki M., Shinozaki K., Hirota H., Yokoyama S. 2005. A structure-based strategy for discovery of small ligands binding to functionally unknown proteins: combination of in silico screening and surface plasmon resonance measurements. *Proteomics*. 5 : 1472—1480.
- Zhu Y., Bond J., Thomas P. 2003a. Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progesterin receptor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 100 : 2237—2242.
- Zhu Y., Rice C. D., Pang Y., Pace M., Thomas P. 2003b. Cloning, expression, and characterization of a membrane progesterin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 100 : 2231—2236.

Поступила 5 XII 2008

NONGENOMIC MECHANISMS OF PROGESTERONE

A. A. Tokmakov,¹ Y. Fukami

Laboratory of Molecular Biology, Research Center for Environmental Genomics, Kobe University, Japan;

¹ e-mail: tokmak@phoenix.kobe-u.ac.jp

Rapid, independent of transcriptional effects of progesterone have been observed in various types of cells, tissues and species. In some biological systems, these nongenomic actions and associated with them signal transduction pathways are characterized in detail at molecular level. This review summarizes findings concerning the role of progesterins in the regulation of such physiological functions and processes as meiotic maturation of fish and amphibian oocytes; growth and proliferation of normal and transformed cells of mammary gland; contraction of myometrium; survival and functional activity of granulosa cells; sperm capacitation, acrosome reaction and hypermotility; immune function of T lymphocytes; survival and function of brain cells. The participation of several types of receptor proteins in the nongenomic progesterone signaling is discussed. They include the classic nuclear progesterone receptor, PR, the membrane progesterin receptor, mPR, the progesterone membrane receptor component, PGMRC, the oxytocin receptor, OTR, and the GABA receptor, GABA_A.

Key words: progesterone, nongenomic effects, receptors, signal transduction pathways.