FUNKCJE FIZJOLOGICZNE OENOCYTÓW OWADÓW

PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS OF INSECT OENOCYTES

Monika SZYMCZAK, Grzegorz ROSIŃSKI

Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt,
Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Streszczenie: Oenocyty owadów są dużymi komórkami pochodzenia ektodermalnego, pełniące plejotropowe funkcje fizjologiczne. Aktywność fizjologiczna oenocytów wskazują na ich kluczową rolę w rozwoju i przeżywaniu owadów. Komórki te są zaangażowane w równowagę metaboliczną, w tym metabolizm lipidów, w której pośredniczą między innym peptydy insulinopodobne. Węglowodory syntetyzowane przez oenocyty są źródłem składników kutikularnych, przyczyniają się do zachowania bilansu wodnego oraz wykorzystywane są do syntezy feromonów i tym samym zaangażowane są w modulowanie zachowań godowych owadów. Wykazano również udział oenocytów w biosyntezie hemoprotein, które wpływają na szereg procesów fizjologicznych. Wysoki poziom reduktazy NADPH cytochromu P450 w oenocytach wskazuje na udział tych komórek w metabolicznej odporności na insektycydy i procesach detoksykacji. Przekształcenie w oenocytach wolnych kwasów tłuszczowych do bardzo długołańcuchowych kwasów tłuszczowych i węglowodorów, przy udziale czynnika jądrowego 4α (dHNF4), pozwala na zachowanie prawidłowego bilansu wodnego w ciele owadów oraz zabezpiecza je przed utratą wody. Oenocyty są źródłem peptydu semaforyny, który przyczynia się do kierowania wzrostem aksonów, a tym samym różnicowania neuronów. Oenocyty, jako homologi wątroby ssaków, stanowią także model do badań biomedycznych, w tym nad niealkoholową stłuszczeniową choroba wątroby (NAFTL), starzeniem, stresem czy długowiecznością.

Słowa kluczowe: oenocyty, owady, węglowodory, model

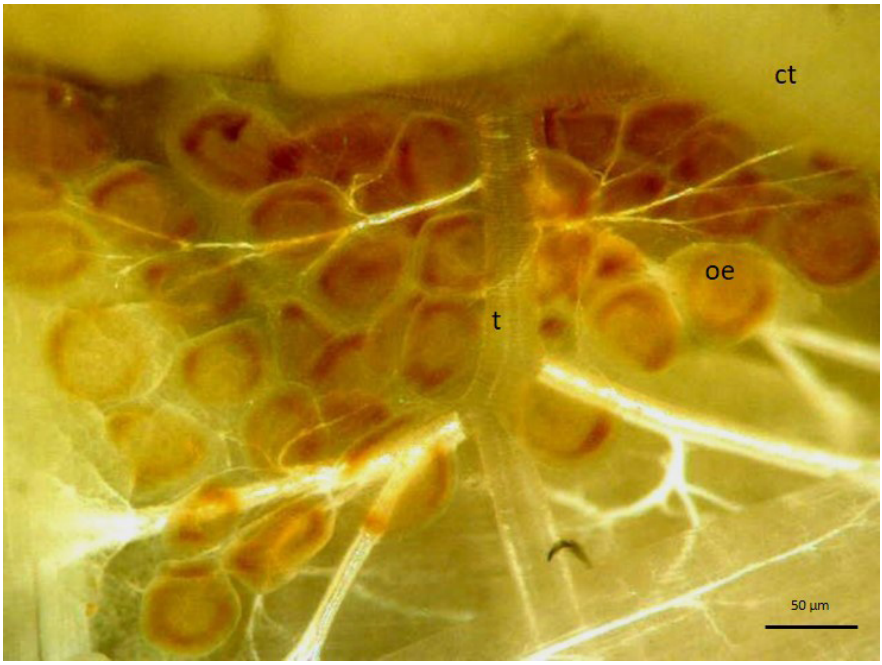
Summary: Insect oenocytes are large cells of ectodermal origin performing pleiotropic physiological functions. The physiological activity of oenocytes indicates their key role in the development and survival of insects. These cells are involved in metabolic balance including lipid metabolism mediated by other insulin-like peptides. Hydrocarbons synthesized by oenocytes are a source of cuticular components contribute to water balance and are used for the synthesis of pheromones and are thus involved in modulating of insects mating behaviors. The oenocytes have also been shown

to be involved in the haemoprotein biosynthesis which affect a number of physiological processes. The high level of NADPH cytochrome P450 reductase in oenocytes indicates the involvement of these cells in metabolic resistance to insecticides and detoxification processes. The transformation of free fatty acids into very long-chain fatty acids and hydrocarbons in oenocytes with the participation of the nuclear factor 4α (dHNF4) allows to maintain a proper water balance in the insects body and protects them against water loss. The oenocytes are the source of the peptide semaphorin which contributes to the axonal growth direction and thus the differentiation of neurons. The oenocytes as homologues of the mammalian liver are also a model for biomedical research, including nonalcoholic fatty liver disease (NAFTL), aging, stress or longevity.

Keywords: oenocytes, insects, hydrocarbons, model

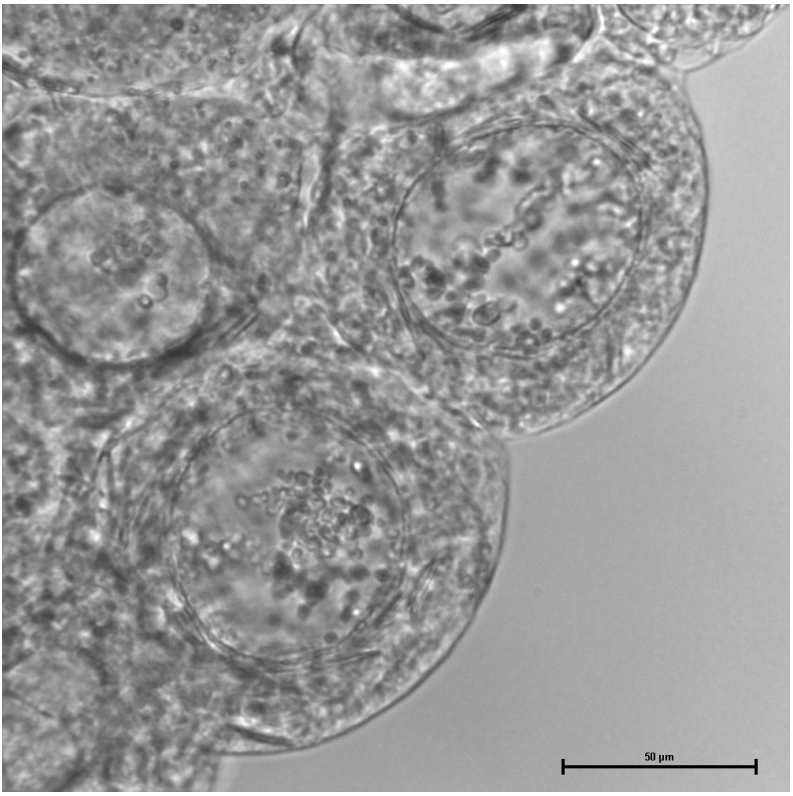
WPROWADZENIE

Oenocyty owadów są dużymi, widocznymi komórkami pochodzenia ektodermalnego rozrzuconymi wśród komórek epidermalnych, tworzące także skupiska przy przetchlinkach, blisko dużych tchawek oraz pośród komórek ciała tłuszczo-



RYCINA 1. Preparat oenocytów larwy *Tenebrio molitor* L. Skala 50 µm. (ct – ciało tłuszczowe, oe – oenocyty, t – tchawka)
FIGURE 1. Preparation of larval oenocytes of *Tenebrio molitor* L. Scale 50 µm. (ct – fat body, oe – oenocytes, t – trachea)

wego ryc. 1, 2). Komórki te różnicują się z tkanek epidermalnych podczas embriogenezy, jak również podczas późniejszego rozwoju owadów. Są to zwykle duże (nawet do 100 µm średnicy), poliploidalne komórki z rozległym, gładkim retikulum endoplazmatycznym i dobrze rozwiniętą błoną komórkową systemu retikularnego. Anatomiczna lokalizacja oenocytów różni się znacząco wśród różnych gatunków owadów, a nawet pomiędzy stadiami rozwojowymi [14]. Chociaż oenocyty znane są od stuleci dopiero niedawno potwierdzono ich rolę w metabolizmie lipidów i detoksykacji. Według Snodgrass [50] termin oenocyty odnosi się do blado bursztynowego koloru komórek ('oeno' lub 'oinos' oznacza z greckiego 'wino'), jednak mogą one wykazywać zróżnicowanie kolorystyczne, od brązowego, przez żółty, zielony do czerwonego, a czasem nawet są bezbarwne. Koschevnikow [28] był pierwszym badaczem, który spekulował odnośnie możliwej roli jaką odgrywają oenocyty i błędnie wnioskował, że są to komórki wydalnicze. Jed-



RYCINA 2. Preparat oenocytów larwy po delikatnym trawieniu kolagenazą i dispazą. Mikroskop odwrócony. Skala 50 µm
FIGURE 2. Preparation of oenocytes after gentle digestion with collagenase and dispaze. Reversed microscope. Scale 50 µm

nak aż do wczesnych lat 2000 oenocyty były jednymi z najmniej poznanymi komórkami bezkręgowców. Stosunkowo niedawno zostały zbadane niektóre aspekty związane z różnicowaniem oenocytów, ekspresją genów oraz biochemią i funkcją fizjologiczną tych komórek [8, 33, 36, 39].

Oenocyty odgrywają kluczową rolę w rozwoju i przeżywaniu owadów, na co wskazują ich główne funkcje fizjologiczne [36]. Owady wykorzystują różne strategie zabezpieczające przed szkodliwym wpływem odpadów metabolicznych. Te strategie mogą dotyczyć wydalania metabolitów w postaci odchodów i moczu, a także ich neutralizowania i gromadzenia w ciele tłuszczowym. Lycett i wsp. [32] wykazali, że oenocyty odgrywają istotną rolę w detoksykacji i ochronie organizmu przeciwko toksycznym i potencjalnie śmiertelnym związkom chemicznym, takim jak insektycydy. Ponadto oenocyty syntetyzując węglowodory dla zewnętrznej powierzchni kutikuli owada, mają swój udział w zapobieganiu utraty wody, a poprzez produkcję związków lotnych również odgrywają ważną rolę w wewnątrzgatunkowej komunikacji za pomocą sygnałów chemicznych [36, 42].

FIZJOLOGIA I BIOCHEMIA OENOCYTÓW

Pomimo badań wskazujących na oenocyty jako komórki przetwarzające lipidy [20, 37], ich rola fizjologiczna nie ogranicza się tylko do tej funkcji. Oenocyty okazały się uczestniczyć w homeostazie (np. detoksykacji ksenobiotyków) [2, 11, 32, 34], w syntezie niektórych długich łańcuchów węglowodorowych feromonów płciowych [55] i innych składników kutikuli [14] oraz w odporności wrodzonej [37]. Oenocyty także odgrywają rolę w różnicowaniu neuronów podczas embriogenezy muchy *Drosophila melanogaster* poprzez sekrecję semaforyny (Sema2a), peptydu, który powoduje elongację aksonu [4]. Inne badania wykazały, że oenocyty produkują lipidy biorące udział w zabezpieczaniu ciała owada przed utratą wody (opisane przez [31]). Przykładowo u nimf *Rhodnius prolixus* oenocyty są połączone z epidermą przez przedłużenia, którymi zachodzi transport syntetyzowanych lipidów z oenocytów do komórek epidermalnych [56], a u larw *Calpodes ethlius* oenocyty są zlokalizowane blisko epidermalnych gruczołów woskowych, co sugeruje, że komórki te uczestniczą w syntezie prekursorów wosku [30].

Przeprowadzone przez Gutierrez i wsp. [20] badania sugerują istnienie dwukierunkowego sprzężenia metabolicznego między ciałem tłuszczowym a oenocytami. Analogicznie do osi adipocyty – wątroba, mobilizacja lipidów z tkanki tłuszczowej podczas głodzenia powoduje akumulację kropel lipidowych w oenocytach, co pod względem zmian metabolicznych przypomina stłuszczenie wątroby. Autorzy wykazali również, że oenocyty są niezbędne do efektywnego pozyskiwania lipidów z ciała tłuszczowego podczas głodu. To sugeruje mechanizm sprzężenia zwrotnego umożliwiający dopasowanie uwalniania odpowiedniej ilo-

ści lipidów w stosunku do zapotrzebowania. Dzięki oenocytom utrzymana jest niska zawartość lipidów w hemolimfie, a ich mobilizacja z ciała tłuszczowego następuje w zależności od potrzeb innych tkanek. U larw *Drosophila* pozbawionych oenocytów zaobserwowany nadmiar krążących lipidów przypominał zespół behawioralny podwyższonego poziomu aminokwasów, który powoduje rozpraszanie się larw i zmniejszone ich żerowanie [20, 58]. Proponowany przez Gutierrez i wsp. [20] model sprzężenia dotyczy głównie równowagi pomiędzy lipogenezą i lipolizą w obrębie ciała tłuszczowego. Z kolei badania przeprowadzone na ssakach wykazały, że wątroba wydziela czynniki sygnałowe (hepatokiny), które przyczyniają się do lipolizy w adipocytach [40] oraz wpływają na inne procesy metaboliczne poprzez sygnalizację autokrynną, parakrynną i endokrynną [38]. Badania Gutierrez i wsp. [20] sugerują, że owady mogą okazać się użytecznym modelem do badań nad stłuszczeniem wątroby czy regulacyjną rolą wątroby w homeostazie metabolicznej.

RÓWNOWAGA METABOLICZNA

Wiele genów, które ulegają ekspresji w hepatocytach ma swoje odpowiedniki w oenocytach, przykładowo enzymy wymagane do obróbki kwasów tłuszczowych, czy ortologi wątrobowych czynników transkrypcyjnych, np. *Drosophila* HNF4 (ang. *Drosophila hepatocyte nuclear factor 4*, dHNF4;) jest odpowiednikiem hepatocytowego czynnika jądrowego 4-α (HNF4 α), głównego regulatora genów zaangażowanych w kontrolę homeostazy lipidowej u myszy [21].

W przeciwieństwie do wątroby ssaków, która jest pojedynczym organem, oenocyty są rozmieszczone wzdłuż całego ciała larwy, np. muszki owocowej czy mącznika młynarka, w postaci wstęg zawierających grona komórek. To rozmieszczenie anatomiczne umożliwia bezpośrednią wymianę składników odżywczych pomiędzy oenocytami a hemolimfą. Zarówno wątroba ssaków (zawierająca sieć połączeń tętniczych i żylnych), jak i oenocyty owadów (w związku z ich rozmieszczeniem anatomicznym) są ergonomicznie usytuowane w stosunku do pełnionej przez nie funkcji sensorów stanu metabolicznego organizmu [5].

Dzięki zdolności ciała tłuszczowego do gromadzenia glikogenu, może być ono rozważane jako pełniące te same funkcje co wątroba ssaków, m. in. dlatego, że używa tych samych enzymów, które regulują syntezę i rozkład glikogenu. Mechanizmy, które regulują komunikację pomiędzy oenocytami a ciałem tłuszczowym nie są jeszcze do końca poznane, jednak przypuszczalnie są one związane z koniecznością deponowania lub uwalniania składników pokarmowych w zależności od stanu odżywienia organizmu, podobnie, jak ma to miejsce u ssaków [1, 5].

Oenocyty odgrywają kluczowa rolę w utrzymywaniu równowagi metabolicznej u dorosłych muszek owocowych. Zidentyfikowana przez Chatterjee i wsp. [9] interakcja pomiędzy ciałem tłuszczowym a oenocytami, w której pośredniczy

dILP6 (ang. *Drosophila insulin-like peptide 6*), jest istotna dla mobilizacji zmagazynowanych lipidów i ogólnej tolerancji tych zwierząt na głód. Nokaut dILP6 w ciele tłuszczowym powodował mniejszą akumulację kropel tłuszczu w oenocytach podczas głodzenia, natomiast jego nadekspresja w ciele tłuszczowym prowadziła do akumulacji kropel tłuszczu w oenocytach, nawet u karmionych muszek. Potwierdziły to badania na mutantach, które również nie były w stanie akumulować kropel tłuszczu w oenocytach podczas głodzenia. Obniżona ekspresja dILP6 w ciele tłuszczowym prowadziła do niższego ogólnoustrojowego poziomu triacyloglicerolі, które wtedy nie mogły być mobilizowane podczas głodzenia zarówno u samic, jak i samców *Drosophila*. Opisane badania sugerują ważną rolę dILP6 w regulacji dostarczanych przez ciało tłuszczowe lipidów i w kontroli ich wychwytu przez oenocyty podczas okresu głodu. Ta interakcja reguluje indukowany głodem obrót lipidów między obu tkankami i tym samym jest kluczowa dla tolerancji na głodzenie [9].

Kolejne badania, które potwierdziły udział oenocytów w metabolizmie lipidów zostały przeprowadzone przez zespół Chien i wsp. [10] z zastosowaniem mikroskopii wielofotonowej obrazowania ramanowskiego (ang. *Coherent Anti-Stokes Raman Scattering,* CARS). Jest to metoda pozwalającą na kontrastowe obrazowanie niewybarwionych preparatów biologicznych [10, 27]. Do badań użyto zmutowane muszki owocowe z nadekspresją białek, należących do rodziny PAT (perylipiny, adipofiliny oraz białka TIP47), które odgrywają główną rolę w metabolizmie lipidów. Wśród nich – lipaza Brummera (Bmm), homolog adipofiliny (ang. *adipose triglyceride lipase*, ATGL) ssaków, przyczyniająca się do lipolizy i mobilizacji lipidów z kropel tłuszczu oraz białko Lsd-2 (ang. *lipid storage droplet-2*) – homolog perylipiny, zlokalizowane są na powierzchni kropel lipidowych u *Drosophila* i biorą udział w magazynowaniu lipidu [10, 19, 24]. Nadekspresja Lsd-2 w ciele tłuszczowym powoduje zwiększenie poziomu triacyloglicerolі (TAG) i pojawienie się fenotypu przypominającego otyłość u dorosłych muszek, które są bardziej odporne na głodzenie niż muszki kontrolne typu dzikiego [18]. Z drugiej strony nadekspresja lipazy Brummera w ciele tłuszczowym zmniejsza zawartość TAG u dorosłych muszek. Przy regulacji równowagi pomiędzy magazynowaniem lipidów a lipolizą w kroplach lipidowych, Lsd-2 i Bmm działają w sposób antagonistyczny [19]. W porównaniu do larw kontrolnych zaobserwowano dwukrotnie większą akumulację kropel lipidowych w oenocytach mutantów Bmm w warunkach dostępności pokarmu i czterokrotnie mniej lipidów w oenocytach z nadekspresją Lsd-2 podczas głodzenia. Natomiast długoterminowe analizy głodzonych owadów wykazały krótszą żywotność mutantów z nadekspresją Bmm, co można przypisać szybszemu zużywaniu lipidów z ich ciała tłuszczowego. Opisane powyżej badania *in vivo* wykazały bezpośredni wpływ Bmm i Lsd-2 na homeostazę lipidów u larw *Drosophila* [10].

SYNTEZA WĘGLOWODORÓW

Lipidy w epikutikuli są niezbędne do zachowania bilansu wodnego, ochrony przed patogenami i stresem środowiskowym, a niektóre z nich stanowią sygnały w postaci feromonów. Węglowodory reprezentowane przez alkany i alkeny są głównymi lipidami kutikularnymi, a ich właściwości hydrofobowe przyczyniają się znacząco do retencji wody i utrzymania odpowiedniego bilansu wodnego u owadów [14].

Duża część węglowodorów jest kierowana na zewnątrz kutikuli. Jest to możliwe dzięki usytuowaniu oenocytów w hemocelu, skąd poprzez hemolimfę są transportowane do epidermy i ostatecznie do epikutikuli. Taka droga przemian, w którą zaangażowane są występujące w hemolimfie lipoforyny o dużej gęstości (ang. *high-density lipophorin*, HDLp), została opisana u wielu gatunków owadów. Produkowane przez oenocyty węglowodory są *via* hemolimfę dostarczane do powłok wszystkich części ciała również tych, które ich nie syntetyzują, jak głowy, odnóży i skrzydeł [14].

Synteza węglowodorów przez oenocyty zależy od wieku owadów [22]. W przypadku robotnic pszczoły miodnej (*Apis mellifera*) wykazano, wraz z ich wiekiem, wzrost w oenocytach nasyconych węglowodorów C25, C27 oraz C33. Dodatkowo w nowo zsyntetyzowanym wosku znaleziono węglowodory i kwasy tłuszczowe, odpowiadające tym z izolowanych oenocytów, co sugeruje, że oenocyty są źródłem węglowodorów dla komponentów kutikularnych [22].

W celu szerszego poznania metabolizmu w oenocytach przeprowadzone zostały badania z użyciem znakowanych cząsteczek [12, 13, 47, 53]. Wykazano, że u samic muchy *Glossina austeni* iniekowana H^3-tyrozyna i -leucyna są włączane w przemiany metaboliczne w oenocytach, a proces ten jest zależny od wieku i jest najwyższy podczas okresu linieniowego [53]. W doświadczeniach z wykorzystaniem piątego stadium nimfy *Schistocerca gregaria* wykryto, że oenocyty po aplikacji ^{14}C-octanu syntetyzują i wydzielają węglowodory, głównie lipidy kutikularne i kilka innych lipidów o nieznanej naturze [12, 13]. Obserwowano także inkorporację znakowanego (^{14}C)-cholesterolu w obrębie oenocytów ciała tłuszczowego izolowanego odwłoka larw *Musca domestica*, co sugerowało , że te komórki odgrywają główną rolę w metabolizmie i/lub magazynowaniu steroli i być może biorą udział w biosyntezie egdyzonu [52]. Podobnie zdolność oenocytów do syntezy hormonu sterydowego egdyzonu sugerował Romer [47] w badaniach przeprowadzonych na larwach chrząszcza *Tenebrio molitor*.

MODULOWANIE ZACHOWAŃ GODOWYCH

W doświadczeniach przeprowadzonych na *D. melanogaster* wykazano bezpośredni udział oenocytów w modulowaniu zachowań godowych u dorosłych muszek, co jest możliwe dzięki biosyntezie przez te komórki węglowodorów.

Potwierdziły to doświadczenia, które wykazały ekspresję genu *desaturazy1* (*desat1*). Gen ten koduje enzym zaangażowany w syntezę węglowodorów w oenocytach *D. melanogaster* [6]. W innej pracy wykazano, że genetyczna feminizacja oenocytów powoduje produkcję żeńskich węglowodorów przez samce much [15]. Węglowodory kutikularne są używane przez owady do odróżniania osobników tego samego gatunku od innych. Badania przeprowadzone przez Billeter i wsp. [6] dostarczyły bezpośrednich dowodów wskazujących, że pojedynczy związek jest używany do komunikowania przynależności płciowej samic *D. melanogaster* i wyznaczania izolacyjnej bariery reprodukcyjnej pomiędzy *D. melanogaster* i pokrewnymi gatunkami. Usunięcie oenocytów dorosłym samcom przez indukcję ekspresji proapoptotycznego genu *hind* sugeruje, że pozbawione oenocytów samce (oe^-) wykazują normalne zachowania godowe w kierunku samic typu dzikiego, ale w pewnym sensie mniej intensywne niż samce kontrolne. Jednak samice typu dzikiego są mniej otwarte na samce oe^- niż na samce kontrolne. Usunięcie oenocytów indukuje nienaturalne zachowania u samców, które mają pełne wigoru zachowania godowe wobec siebie nawzajem [15]. Zaskakujące, że samice oe^-, tzn. pozbawione węglowodorów są mniej atrakcyjne dla dzikich samców niż te z normalnym profilem węglowodorów, co sugeruje, że węglowodory u samic działają spowalniająco na próby godowe samców. Billeter i wsp. [6] badali także zachowania samców innych gatunków w kierunku *D. melanogaster*. Wykazały one, że samce innych gatunków *Drosphila* (takich jak *D. simulans*, *D. yakuba* i *D. erecta*) są zaangażowane w zachowania godowe samic oe^- *D. melanogaster*, ale wykazują ograniczone zachowania godowe lub nie wykazują ich wcale w kierunku grupy kontrolnej. Dane te wskazują, że oenocyty i ich węglowodorowe produkty są ważnymi składnikami izolacyjnej bariery reprodukcyjnej [6].

Synteza feromonów u osobników dorosłych *D. melanogaster* jest rezultatem aktywności desaturazy ulegającej ekspresji głównie w oenocytach. Wicker-Thomas i wsp. [55] wykorzystując RNAi do nokautu genu *desat1* w oenocytach wykazali obniżenie nienasyconych węglowodorów do 96% u dorosłych samców i do 78% u samic. Inaktywacja specyficznego dla samic genu *desatF* (odpowiedzialnego za formowanie dienów) skutkowała gwałtowną uratą feromonów (98%) połączoną z dwukrotnym wzrostem ilości monoenów [36, 55].

Właściwa selekcja seksualna lub osobnicza atrakcyjność seksualna jest warunkiem sukcesu reprodukcyjnego danego gatunku. Lin i wsp. [29] wykazali, że młode samce much *D. melanogaster* przejawiają wrodzone preferencje godowe w stosunku do samic, które były hodowane na diecie z dużą zawartością drożdży i mają większą masę ciała oraz płodność, ale zredukowaną aktywność lokomotoryczną i skróconą długość życia. Samce much rozróżniały wśród samic te, których dieta zawierała różne stężenia drożdży – 1, 5 lub 20% – nie używając przy tym percepcji wzrokowej czy węchowej, lecz smakową. Samice much, które hodowano na diecie wysoko drożdżowej wykazywały podwyższony poziom eks-

presji dilps (ang. *Drosophila insulin-like peptides*). Mutacje w *dilp* 2, 3 lub 5 oraz zakłócenia w genach specyficznych dla receptora insulinowego w oenocytach znosiły preferencje samców w stosunku do samic na diecie wysoko drożdżowej. Co więcej, badania te wykazały, że zaburzona sygnalizacja *dilp* może u samic much zmieniać profil ekspresji niektórych węglowodorów kutikuli, a inhibicja enzymów zaangażowanych w biosyntezę węglowodorów (elongazy F) w oenocytach eliminuje zachowania godowe samców. Można więc stwierdzić występowanie zależności fizjologicznej pomiędzy potencjałem reprodukcyjnym samic i ich atrakcyjnością seksualną a dietą, na której są hodowane [16, 29].

BIOSYNTEZA HEMOPROTEIN I ODPORNOŚĆ NA INSEKTYCYDY

W oenocytach embrionów *D. melanogaster* wykazano ekspresję enzymu – syntazy kwasu deltaaminolewulinowego (ALAS) zaangażowanego w anabolizm porfiryn, co sugeruje rolę tych komórek w biosyntezie hemoprotein [49]. Martins i wsp. [37] w przeprowadzonych badaniach transkryptomu oenocytów izolowanych z poczwarek *A. egypti* dowiedli, że 8% transkryptów w tych komórkach kodowało hemoproteiny cytochromu P450. Enzym ten bierze udział w metabolizmie różnych cząsteczek, takich jak sterole, hormony steroidowe, ksenobiotyki, kwasy tłuszczowe, eikozanoidy, a także pełni ważne funkcje w szerokim spektrum procesów fizjologicznych związanych ze wzrostem i rozwojem czy żerowaniem do oporności na pestycydy i tolerancję na toksyny roślinne [36, 37]. Cytochrom P450 podlegający ekspresji w oenocytach prawdopodobnie bierze udział w metabolizmie steroidów, co wcześniej już sugerowali Romer i wsp. [48], którzy wykazali, że izolowane w warunkach *in vitro* oenocyty larw *T. molitor* syntetyzują α- i β-egdyzon z prekursora ^{14}C-cholesterolu.

Dodatkowo, Martins i wsp. [37] wykazali, że około czterech procent transkryptów w oenocytach poczwarek komara *A. egypti* kodowało inne typy białek detoksyfikacyjnych, takich jak dehydrogenazę alkoholową, katalazę i reduktazę NADPH cytochromu P450 (CPR). U dorosłych osobników komara *Anopheles gambiae* oenocyty są jednym z głównych miejsc metabolizmu ksenobiotyków [32]. Zarówno u komara *A. gambiae* i muchy *D. melanogaster* oenocyty wykazywały wysoki poziom reduktazy NADPH cytochromu P450, która jest niezbędna dla aktywności cytochromów P450 zaangażowanych w metaboliczną oporność na insektycydy, a nokaut CPR w oenocytach za pośrednictwem RNAi prowadził do zwiększenia wrażliwości owadów na permetrynę [32]. W oenocytach komara *A. egypti* ulegają ekspresji 23 transkrypty, które kodują białka metabolizujące lipidy, takie jak syntazę kwasów tłuszczowych (FAS), elongazę i dehydrogenazę estradiolu. Enzymy te biorą udział w syntezie węglowodorów powłoki ciała, takich jak długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz w syntezie feromonów [36, 37]. Wyniki badań przeprowadzonych na *A. egypti* potwierdziły wcześniejsze

obserwacje Fan i wsp. [14], którzy wykazali, że oenocyty są odpowiedzialne za syntezę węglowodorów u karaczana *B. germanica*. Co ciekawe, niewielka frakcja transkryptów (1.9%) kodujących u *A. egypti*, takie białka jak lizozymy i proteazy serynowe, które prawdopodobnie uczestniczą w mechanizmie wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, bierze udział w oenocytowej odporności owadów.

ZABEZPIECZENIE PRZED UTRATĄ WODY

Badania przeprowadzone przez Yu i wsp. [57] na szarańczy wędrownej *Locusta migratoria* pozwoliły na zidentyfikowanie specyficznego dla oenocytów genu *LmCYP4G102* cytochromu P450. Autorzy Ci zauważyli, że zahamowanie ekspresji tego genu przez zastosowanie interferencji RNA (RNAi) prowadziło do szybkiej utraty masy ciała oraz śmiertelności spowodowanej odwodnieniem nimf. U larw iniekowanych ds*LmCYP4G102* wystąpił znaczny spadek ilości węglowodorów kutikularnych, które stanowią nieprzemakalną barierę. Dodatkowo kutikula utraciła swoją odporność na stres mechaniczny oraz była krucha i łatwo deformowalna. Wyniki te sugerowały, że specyficzny dla oenocytów gen *LmCYP4G102* odgrywa kluczową role w syntezie węglowodorów kutikularnych, które są istotne dla impregnacji kutikuli i jej stabilności mechanicznej u *L. migratoria* [57].

Ponadto w genomie *Drosophila* wykryto gen *HNF4* białka dHNF4 (ang. *Drosophila hepatocyte nuclear factor 4*) – ortolog ssaczego hepatocytowego czynnika jądrowego 4α (HNF4 α) odgrywający ważną rolę w metabolizmie lipidowym [21]. Mutanty *dHNF4* normalnie przechodzą przez embriogenezę, rozwój larwalny i metamorfozę, jednak większość osobników ginie po wyjściu ze stadium poczwarki, a pozostałe w pierwszych dniach życia stadium dorosłego. Stwierdzono przy tym, że wczesna śmiertelność imago może być częściowo zmniejszona jeśli mutanty *dHNF4* są hodowane na diecie nisko węglowodanowej [3]. Storelli i wsp. [51] wykazali, że gen *dHNF4* w początkowym stadium imago jest odpowiedzialny za kluczowe zmiany w metabolizmie lipidowym w oenocytach. Stwierdzono, że zapasy tłuszczu są zużywane krótko po metamorfozie, lecz w niewielkim stopniu wpływa to na metabolizm energetyczny, bowiem *Drosophila HNF4* na początku życia imago kieruje w oenocytach przekształceniem wolnych kwasów tłuszczowych do bardzo długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (ang. *very long chain fatty acids,* VLCFA) i węglowodorów, co zabezpiecza zwierzęta przed utratą wody i pozwala na zachowanie prawidłowego bilansu wodnego. To przełączenie rozwojowe w metabolizmie lipidów u *Drosophila* promuje żywotność i odporność na desykację u dorosłych osobników, co w dalszej konsekwencji wpływa na homeostazę glukozy, w tym hamowanie toksyczności cukrów pochodzących z diety. Badania te wykazały, że dHNF4 występujący w oenocytach jest regula-

torem statusu metabolicznego imago. Podobnie w mysich hepatocytach HNF4α jest niezbędny do ekspresji elongazy kwasów tłuszczowych, która przyczynia się do nieprzemakalności epidermy, co sugeruje, że ta droga jest konserwatywna w procesie ewolucji [51].

Synteza kwasów tłuszczowych (ang. *fatty acids*, FA) wymaga karboksylazy acetylo koenzymu A (ang. *acetylo-CoA*, ACC) do produkcji malonylo-CoA, który jest następnie wykorzystywany do produkcji długołańcuchowych kwasów tłuszczowych przy użyciu syntazy kwasów tłuszczowych oraz bardzo długołańcuchowych kwasów tłuszczowych przy użyciu kompleksu wieloenzymatycznego. Zakłócenia aktywności ACC w oenocytach, indukowane poprzez interferencję RNA, tak samo jak usunięcie oenocytów, prowadziły do śmiertelności larw *D. melanogaster*. Spowodowane to było brakiem wodoszczelności przetchlinek, które kontrolują wejście powietrza do tchawek. Powstanie wadliwych przetchlinek, było powodowane zakłóceniami w syntezie VLCFA w obrębie oenocytów. Wodoszczelność systemu oddechowego jest kwestią uniwersalną w przypadku zwierząt oddychających tlenem. U *Drosophila* ten proces jest kontrolowany przez VLCFA produkowane w obrębie oenocytów [41].

RÓŻNICOWANIE NEURONÓW

Semaforyny obejmują obszerną rodzinę białek, które odgrywają kluczową rolę w kierowaniu wzrostu aksonów (ang. *axon pathfinding, axon guidance*) zarówno u kręgowców, jak i bezkręgowców [44]. Jest to jedna z lepiej poznanych klasa cząsteczek kierujących aksonogenezą. Wciąż jeszcze wiele mechanizmów molekularnych i komórkowych leżących u podstawy oddziaływania semaforyn na wzrost aksonów w okresie embriogenezy pozostaje niejasnych.

Bates i Whitington [4] wykazali, że semaforyny i ich receptory pleksyny podczas embriogenezy *Drosophila* przyczyniają się do kierowania wzrostem aksonów czuciowych od najwcześniejszych stadiów ich odrostów. Wyniki tych badań wskazują na funkcję oenocytów larwalnych *Drosophila* w kierowaniu wzrostem aksonu. Komórki te są źródłem wydzielanej semaforyny Sema2a. Autorzy Ci używając dobrze zbadanego rozwijającego się systemu sensorycznego w embrionach *Drosophila* wykazali, że białka Sema2a ulegały ekspresji w oenocytach larwalnych, natomiast usunięcie oenocytów powodowało defekty i fenotyp podobny do mutantów *sema2a*, które charakteryzowały się nieprawidłową projekcją aksonów do centralnego układu nerwowego. Sema2a wydzielane z oenocytów działają przy tym w sposób wysoce zlokalizowany, gdyż tłumią wydłużanie aksonów z neuronów sensorycznych ciała komórki, ale tylko w regionach bezpośredniego kontaktu z oenocytami [4].

OENOCYTY MODELAMI DO BADAŃ BIOMEDYCZNYCH

NIEALKOHOLOWA STŁUSZCZENIOWA CHOROBA WĄTROBY

Choroby wątroby prowadzą co roku do wielu zgonów [7]. Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (ang. *nonalcoholic fatty liver disease*, NAFLD) jest najbardziej powszechną chorobą wątroby dotykającą 75 do 100 milionów osób w USA [45]. Ponieważ koszty ogólne związane z leczeniem tej choroby wątroby są ogromne, ważne jest wyjaśnienie podstawowych mechanizmów, które ją powodują. Można to osiągnąć dzięki zastosowaniu organizmów modelowych. Wątroba człowieka pełni wiele funkcji metabolicznych, włączając w to detoksykację metabolitów, syntezę białek oraz metabolitów niezbędnych w procesie trawienia, a także utrzymywanie poziomu glukozy we krwi. Te funkcje są przeprowadzane przez wysoce wyspecjalizowane komórki – hepatocyty. Aby regulować wykorzystanie tłuszczu podczas okresu głodu, w adipocytach (komórkach tkanki tłuszczowej) następuje rozpad lipidów do kwasów tłuszczowych przy udziale lipazy triglicerydowej adipocytów (ang. *adipose triglyceride lipase*, ATGL). Kwasy tłuszczowe są uwalniane do krwiobiegu, wychwytywane przez wątrobę i przetwarzane przez hepatocyty. Podczas wydłużonego okresu głodu hepatocyty syntetyzują rozpuszczalne w wodzie ciała ketonowe z kwasów tłuszczowych, które są następnie uwalniane do krwiobiegu jako źródło energii dla innych tkanek [17].

Podobnie głodzone larwy much *Drosophila* uwalniają lipidy z ciała tłuszczowego, które są wychwytywane przez oenocyty [9]. Wcześniej uważano, że ciało tłuszczowe jest funkcjonalnym homologiem wątroby człowieka. Jednak dalsze badania wykazały, że oenocyty owadów są bardziej podobne do hepatocytów niż ciało tłuszczowe, bazując na ich odpowiedzi na stres głodu. Co więcej, w oenocytach wykazano ekspresję 22 genów, które są homologami ludzkich genów zaangażowanych w metabolizm lipidów w hepatocytach. Podsumowując, ostatnie dane wskazują, że ciało tłuszczowe i oenocyty u owadów są funkcjonalnymi homologami tkanki tłuszczowej i wątroby ssaków [54].

STARZENIE I STRES

Analizy oparte na profilowaniu rybosomów pozwoliły na identyfikację wielu genów i dróg przemian, które są wspólne dla oenocytów owadów oraz hepatocytów ssaków i wykazały tym samym na podobieństwa pomiędzy tymi dwiema tkankami. Wiele ze zidentyfikowanych genów ulega zmianom podczas starzenia się organizmu oraz stresu oksydacyjnego. Analizy translatomu dostarczyły istotnych danych genomowych, które mogą następnie posłużyć do dalszych badań obejmujących funkcje oenocytów i ich rolę w metabolizmie lipidów, odpowiedzi na stres oraz regulacji procesu starzenia [23].

Stres oksydacyjny, który jest powszechnie obserwowany w starzejących się tkankach, charakteryzuje się zmianami poziomu reaktywnych form tlenu (RFT). W oenocytach imago *D. melanogaster* zanotowano znaczący wzrost poziomu RFT porównując osobniki 30-dniowe w stosunku do młodych 10-dniowych. Zaobserwowano również powiększenie komórek oraz jąder komórkowych w starzejących się oenocytach [23].

Analizy zróżnicowanej ekspresji genów (ang. *differential gene expression,* DGE) pozwoliły na zidentyfikowanie 3324 genów u *Drosophila*, które ulegały zróżnicowanej ekspresji podczas starzenia (1092 geny z nadekspresją i 2232 z obniżoną ekspresją). Geny, które ulegały podwyższonej ekspresji zarówno w przypadku procesów związanych ze starzeniem, jak i stresem oksydacyjnym wywołanym przez parakwat, były zaangażowane w metabolizm i rekombinacje DNA, natomiast wspólne geny z obniżoną ekspresją były powiązane z odpowiedzią obronną oraz elongacją kwasów tłuszczowych [23].

Analiza wzbogacenia grupy genów (ang. *gene set enrichment analysis*, GSEA) skojarzona z obszerną kolekcją z bazy danych KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) ujawniły kluczowe drogi przemian, w które zaangażowane są geny ulegające nadekspresji lub obniżonej ekspresji w starzejących się oenocytach. Drogi przemian, w których obserwowano zmienioną ekspresję genów, to między innymi: metabolizm ksenobiotyków, peroksysomy, proteasomy, metabolizm ciał ketonowych i synteza nienasyconych kwasów tłuszczowych. Co więcej, w oenocytach obserwowano wysoką ekspresję genów zaangażowanych w procesy podobne do tych zachodzących w wątrobie, np. związanych z ketogenezą [23].

Podsumowując można stwierdzić, że analiza translatomu oenocytów może znacząco przyczynić się do naszego zrozumienia biologii samych oenocytów, jak również bliższego poznania molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za regulację procesu starzenia oraz odpowiedzi na stres u ludzi.

DŁUGOWIECZNOŚĆ

Gen *Indy* („*I'm not dead yet*" – „*Jeszcze nie umarłem*") powiązany z długowiecznością został zidentyfikowany u *D. melanogaster* w oenocytach, komórkach ciała tłuszczowego i jelita środkowego. Mutacje w tym genie powodowały wydłużenie średniej długości życia dorosłych osobników bez utraty płodności czy aktywności fizycznej [26]. Obniżenie poziomu białka INDY potwierdzone za pomocą immunocytochemii *in situ* w ciele tłuszczowym, oenocytach i komórkach jelita środkowego osobników z mutacją w genie *Indy* potwierdziły hipotezę, że spadek aktywności białka INDY jest związany z wydłużeniem długości życia. Efekt mutacji w genie *Indy* powodujący wydłużenie okresu życia jest prawdopodobnie wynikiem zmiany w bilansie energetycznym spowodowanym przez zredukowanie transportu ważnych składników pokarmowych w tkankach krytycznych dla metabolizmu pośredniego [26, 46].

Poziom ekspresji genu katalazy – jednego z kluczowych enzymów antyoksydacyjnych w metabolizmie wolnych rodników tlenowych – został zbadany między innymi w oenocytach *D. melanogaster*. Badania wykazały wzrost poziomu ekspresji tego genu wraz z wiekiem, rozpoczynając od stadium embrionalnego aż do stadium osobnika dorosłego [25].

Kolejny gen powiązany z długowiecznością *D. melanogaster* został zbadany przez zespół Radyuk i wsp. [43]. Autorzy przeprowadzili analizę funkcjonalną peroksyredoksyny 5 (ang. *Drosophila peroxyredoxin 5*, dPrx5), która należy do rodziny sześciu białek – peroksyredoksyn – znalezionych zarówno u ssaków, drożdży, jak i *Drosophila*. Peroksyredoksyna 5 posiada aktywność zarówno peroksydazy, jak i reduktazy. Jej podstawową funkcją jest aktywność antyoksydacyjna i udział w regulacji oksydoredukcyjnej. Nadekspresja dPrx5 u much powoduje wzrost odporności na stres oksydacyjny i wydłuża długość życia nawet do 30% w stosunku do kontroli.

Podczas rozwoju owada obserwowano współzależność poziomu dPrx5 oraz egdyzonu, co sugeruje wzajemną korelację pomiędzy ekspresją egdysteroidów i dPrx5. Komórkami, które pośredniczą w syntezie egdysteroidów są oenocyty, co potwierdzono w doświadczeniach przeprowadzonych na mutantach pozbawionych dPrx5 (*dprx5-/-*), u których w tych komórkach obserwowano wysoką wrażliwość na apoptozę. Znaczenie dPrx5 było również potwierdzone przez uzyskanie śmiertelnych fenotypów potomstwa pochodzącego od mutantów *dprx5-/-*. Świadczy to o możliwej roli dPrx5 w pośredniczeniu w szlaku sygnałowym egdyzonu podczas rozwoju owada oraz sugeruje regulację produkcji reaktywnych form tlenu i procesu apoptozy w kontekście hormonalnych dróg przemian [43].

WNIOSKI I PERSPEKTYWY

Zamierzeniem niniejszego przeglądu było dostarczenie czytelnikowi najnowszej wiedzy odnośnie funkcji fizjologicznych oenocytów oraz możliwości aplikacji wyników z zastosowaniem tych komórek przez naszkicowanie niektórych kluczowych odkryć powiązanych z lokalizacją oenocytów wewnątrz ciała owada, biochemią i ekspresją genów. Użycie zaawansowanych narzędzi molekularnych pozwoliło wykazać, że oenocyty owadów odgrywają szerszą rolę w metabolizmie owadów niż tylko w przemianach związanych z przetwarzaniem lipidów. Identyfikacja białek (lub transkryptów) ulegających ekspresji w oenocytach wykazała, że te komórki także biorą udział w detoksykacji. Jednak, niewiele jeszcze wiadomo o roli różnych populacji oenocytów podczas rozwoju post-embrionalnego, łącznie ze stadiami larwalnymi i imaginalnym. Badania genetyczne z zastosowaniem larwalnych oenocytów *D. melanogaster* wykazały, że te komórki mogą być

uważane za analogi funkcjonalne hepatocytów ssaczych [20]. Z drugiej strony, u dorosłych muszek owocowych, oenocyty odgrywają kluczową rolę w zachowaniach godowych w związku z uruchamianą syntezą węglowodorów [6, 15].

Wiele pytań dotyczących oenocytów pozostaje wciąż bez odpowiedzi. Przykładowo: czy oenocyty wydzielają substancje, które działają bezpośrednio na ciało tłuszczowe hamując mobilizację lipidów i tworząc tym samym sprzężenie zwrotne ujemne? Dalsze badania oenocytów mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia czynników, które prowadzą do chorób wątroby, w tym stłuszczenia wątroby [1, 5]. Obiecujące wydaje się również zastosowanie kultur komórkowych oenocytów, co zapoczątkowali Martins i wsp. [35] do dalszych badań skupionych wokół metabolizmu, ekspresji genów i białek związanych z chorobami i schorzeniami dotykającymi ludzi oraz do prac nad identyfikacją innych potencjalnych funkcji tych komórek, które okazują się niezbędne do życia u owadów.

PODZIĘKOWANIA

Artykuł zostanie sfinansowany z dotacji dla młodych naukowców przyznanej przez Dziekana Wydziału Biologii UAM w Poznaniu dla Zakładu Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt.

LITERATURA

[1] Arquier N, Leopold P. Fly foie gras: modeling fatty liver in *Drosophila*. *Cell Metab* 2007; **5**: 83-85.

[2] Balabanidou V, Kampouraki A, Maclean M, Blomquist Gj, Tittiger C, Juarez MP, Mijailovsky SJ, Chalepakis G, Anthousi A, Lynd A, Antoine S, Hemingway J, Ranson H, Lycett GJ, Vontas J. Cytochrome P450 associated with insecticide resistance catalyzes cuticular hydrocarbon production in *Anopheles gambiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; **113**: 9268-9273.

[3] Barry WE, Thummel CS. The *Drosophila* HNF4 nuclear receptor promotes glucose-stimulated insulin secretion and mitochondrial function in adults. *Elife* 2016; **5**.

[4] Bates KE, Whitington PM. Semaphorin 2a secreted by oenocytes signals through plexin B and plexin A to guide sensory axons in the *Drosophila* embryo. *Dev Biol* 2007; **302**: 522-535.

[5] Bharucha KN. The epicurean fly: using *Drosophila melanogaster* to study metabolism. *Pediatr Res* 2009; **65**: 132-137.

[6] Billeter JC, Atallah J, Krupp JJ, Millar JG, Levine JD. Specialized cells tag sexual and species identity in *Drosophila melanogaster*. *Nature* 2009; **461**: 987-991.

[7] Byass P. The global burden of liver disease: a challenge for methods and for public health. *BMC Med* 2014; **12**: 159.

[8] Chapman RF, Simpson SJ, Douglas AE. The insects: structure and function, Fifth edition / ed.; New York: Cambridge University Press, 2013;pp. xxxi, 929 pages.

[9] Chatterjee D, Katewa SD, Qi Y, Jackson SA, Kapahi P, Jasper H. Control of metabolic adaptation to fasting by dILP6-induced insulin signaling in *Drosophila* oenocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; **111**: 17959-17964.

[10] Chien CH, Chen WW, Wu JT, Chang TC. Investigation of lipid homeostasis in living *Drosophila* by coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy. *J Biomed Opt* 2012; **17**: 126001.
[11] Clark MK, Dahm PA. Phenobarbital-induced, membrane-like scrolls in the oenocytes of *Musca domestica* Linnaeus. *J Cell Biol* 1973; **56**: 870-875.
[12] Diehl PA. Paraffin synthesis in oenocytes of desert locust *Nature* 1973; **244** 468-470.
[13] Diehl PA. Synthesis and release of hydrocarbons by oenocytes of desert locust *Schistocerca gregaria*. *Journal of Insect Physiology* 1975; **21**: 1237-1246.
[14] Fan Y, Zurek L, Dykstra MJ, Schal C. Hydrocarbon synthesis by enzymatically dissociated oenocytes of the abdominal integument of the german cockroach *Blattella germanica*. *Naturwissenschaften* 2003; **90**: 121-126.
[15] Ferveur JF, Savarit F, O'kanE CJ, Sureau G, Greenspan RJ, Jallon JM. Genetic feminization of pheromones and its behavioral consequences in *Drosophila* males. *Science* 1997; **276**: 1555-1558.
[16] Gorter JA, Jagadeesh S, Gahr C, Boonekamp JJ, Levine JD, Billeter JC. The nutritional and hedonic value of food modulate sexual receptivity in *Drosophila melanogaster* females. *Sci Rep* 2016; **6**: 19441.
[17] Green CJ, Pramfalk C, Morten KJ, Hodson L. From whole body to cellular models of hepatic triglyceride metabolism: man has got to know his limitations. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015; **308**: E1-20.
[18] gronke S, Beller M, Fellert S, Ramakrishnan H, Jackle H, Kuhnlein RP. Control of fat storage by a *Drosophila* PAT domain protein. *Curr Biol* 2003; **13**: 603-606.
[19] Gronke S, Mildner A, Fellert S, Tennagels N, Petry S, Muller G, Jackle H, Kuhnlein RP. Brummer lipase is an evolutionary conserved fat storage regulator in *Drosophila*. *Cell Metab* 2005; **1**: 323-330.
[20] Gutierrez E, Wiggins D, Fielding B, Gould AP. Specialized hepatocyte-like cells regulate *Drosophila* lipid metabolism. *Nature* 2007; **445**: 275-280.
[21] Hayhurst GP, Lee YH, Lambert G, Ward JM, Gonzalez FJ. Hepatocyte nuclear factor 4alpha (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol Cell Biol* 2001; **21**: 1393-1403.
[22] Hepburn HR, Bernard RTF, Davidson BC, Muller WJ, Lloyd P, Kurstjens SP, Vincent SL. Synthesis and secretion of beeswax in honeybees. *Apidologie* 1991; **22**: 21-36.
[23] Huang K, Chen W, Zhu F, Li PW, Kapahi P, Bai H. RiboTag translatomic profiling of Drosophila oenocytes under aging and induced oxidative stress. *BMC Genomics* 2019; **20**: 50.
[24] Jedrzejowska I. Lipids Droplets: A new insight into structure, biogenesis and functions. *Post Biol Kom* 2010; **37**: 641-655.
[25] Klichko VI, Radyuk SN, Orr WC. Profiling catalase gene expression in *Drosophila melanogaster* during development and aging. *Arch Insect Biochem Physiol* 2004; **56**: 34-50.
[26] Knauf F, Rogina B, Jiang Z, Aronson PS, Helfand SL. Functional characterization and immunolocalization of the transporter encoded by the life-extending gene *Indy*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; **99**: 14315-14319.
[27] Korczynski J, Kubiak K, Weglowska E. Obserwując tańczące molekuły – mikroskopia CARS. *Post Bioch* 2017; **63**: 44-52.
[28] Kozhevnikov GAA. [Über den Fettkörper und die Oenocyten der Honigbiene (*Apis mellifera* L.)]. *Zoologischer Anzeiger* 1900; **23**: 337-353.
[29] Lin WS, Yeh SR, Fan SZ, Chen LY, Yen JH, Fu TF, Wu MS, Wang PY. Insulin signaling in female *Drosophila* links diet and sexual attractiveness. *FASEB J* 2018; **32**: 3870-3877.
[30] Locke M. The ultrastructure of the oenocytes in the molt/intermolt cycle of an insect. *Tissue Cell* 1969; **1**: 103-154.
[31] Lockey KH. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comp Biochem Phys B* 1988; **89**: 595-645.
[32] Lycett GJ, Mclaughlin LA, Ranson H, Hemingway J, Kafatos FC, Loukeris TG, Paine MJI. *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and in vivo knockdown increases permethrin susceptibility. *Insect Molecular Biology* 2006; **15**: 321-327.

[33] Makki R, Cinnamon E, Gould AP. The development and functions of oenocytes. *Annu Rev Entomol* 2014; **59**: 405-425.
[34] Marriel NB, Tome HVV, Guedes RCN, Martins GF. Deltamethrin-mediated survival, behavior, and oenocyte morphology of insecticide-susceptible and resistant yellow fever mosquitos (*Aedes aegypti*). *Acta Tropica* 2016; **158**: 88-96.
[35] Martins GF, Guedes BA, Silva LM, Serrao JE, Fortes-Dias CL, Ramalho-Ortigao JM, Pimenta PF. Isolation, primary culture and morphological characterization of oenocytes from *Aedes aegypti* pupae. *Tissue Cell* 2011; **43**: 83-90.
[36] Martins GF, Ramalho-Ortigao JM. Oenocytes in insects. *Isj-Invert Surviv J* 2012; **9**: 139-152.
[37] Martins GF, Ramalho-Ortigao JM, Lobo NF, Severson DW, Mcdowell MA, Pimenta PF. Insights into the transcriptome of oenocytes from *Aedes aegypti* pupae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; **106**: 308-315.
[38] Meex rcr, Watt MJ. Hepatokines: linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 2017; **13**: 509-520.
[39] Nation JL. Insect physiology and biochemistry, Third edition. ed.; Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016;pp. xxi, 644 pages.
[40] Oike Y, Akao M, Kubota Y, Suda T. Angiopoietin-like proteins: potential new targets for metabolic syndrome therapy. *Trends Mol Med* 2005; **11**: 473-479.
[41] Parvy JP, Napal L, Rubin T, Poidevin M, Perrin L, Wicker-Thomas C, Montagne J. *Drosophila melanogaster* Acetyl-CoA-carboxylase sustains a fatty acid-dependent remote signal to waterproof the respiratory system. *PLoS Genet* 2012; **8**: e1002925.
[42] Qiu Y, Tittiger C, Wicker-Thomas C, Le Goff G, Young S, Wajnberg E, Fricaux T, Taquet N, Blomquist GJ, Feyereisen R. An insect-specific P450 oxidative decarbonylase for cuticular hydrocarbon biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; **109**: 14858-14863.
[43] Radyuk SN, Michalak K, Klichko VI, Benes J, Rebrin I, Sohal RS, Orr WC. Peroxiredoxin 5 confers protection against oxidative stress and apoptosis and also promotes longevity in *Drosophila*. *Biochem J* 2009; **419**: 437-445.
[44] Raper JA. Semaphorins and their receptors in vertebrates and invertebrates. *Curr Opin Neurobiol* 2000; **10**: 88-94.
[45] Rinella ME, Sanyal AJ. NAFLD in 2014: genetics, diagnostics and therapeutic advances in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015; **12**: 65-66.
[46] Rogina B, Reenan RA, Nilsen SP, Helfand SL. Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila*. *Science* 2000; **290**: 2137-2140.
[47] Romer F. Histochemical and biochemical investigations concerning the function of larval oenocytes of *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Insecta). *Histochemistry* 1980; **69**: 69-84.
[48] Romer F, Emmerich H, Nowock J. Biosynthesis of ecdysones in isolated prothoracic glands and oenocytes of *Tenebrio molitor in vitro*. *J Insect Physiol* 1974; **20**: 1975-1987.
[49] Ruiz de Mena I, Fernandez-Moreno MA, Bornstein B, Kaguni LS, Garesse R. Structure and regulated expression of the delta-aminolevulinate synthase gene from *Drosophila melanogaster*. *J Biol Chem* 1999; **274**: 37321-37328.
[50] Snodgrass RE. Principles of insect morphology, 1st ed.; New York, London,: McGraw-Hill Book Company, inc., 1935;pp. ix, 667 p.
[51] Storelli G, Nam HJ, Simcox J, Villanueva CJ, Thummel CS. *Drosophila* HNF4 directs a switch in lipid metabolism that supports the transition to adulthood. *Dev Cell* 2019; **48**: 200-214 e206.
[52] Studinger G, Willig A. Biosynthesis of alpha- and beta-ecdysone in isolated abdomens of larvae of *Musca domestica*. *Journal of Insect Physiology* 1975; **21**: 1793-1798.
[53] Tobe SS, Davey KG. Autoradiographic study of protein synthesis in abdominal tissues of *Glossina austeni*. *Tissue Cell* 1974; **6**: 255-268.
[54] Ugur B, Chen K, Bellen HJ. *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. *Dis Model Mech* 2016; **9**: 235-244.
[55] Wicker-Thomas C, Guenachi I, Keita YF. Contribution of oenocytes and pheromones to courtship behaviour in *Drosophila*. *BMC Biochem* 2009; **10**: 21.

[56] Wigglesworth VB. The source of lipids and polyphenols for the insect cuticle: the role of fat body, oenocytes and oenocytoids. *Tissue Cell* 1988; **20**: 919-932.
[57] Yu Z, Zhang X, Wang Y, Moussian B, Zhu KY, Li S, Ma E, Zhang J. *LmCYP4G102*: An oenocyte--specific cytochrome P450 gene required for cuticular waterproofing in the migratory locust, *Locusta migratoria*. *Sci Rep* 2016; **6**: 29980.
[58] Zinke I, Kirchner C, Chao LC, Tetzlaff MT, Pankratz MJ. Suppression of food intake and growth by amino acids in *Drosophila*: the role of *pumpless*, a fat body expressed gene with homology to vertebrate glycine cleavage system. *Development* 1999; **126**: 5275-5284.

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 18.06.2019
Przyjęto: 20.07.2019
Monika Szymczak
Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt
Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań
tel.: (061) 8295927
e-mail: monikasz@amu.edu.pl