



УДК 615.9.:577.171.6.632.95.024

ЯДЕРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ – КЛЮЧЕВЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

Часть 1. ПРЕГНАНОВЫЙ И АНДРОСТАНОВЫЙ РЕЦЕПТОРЫ В ПРОЦЕССАХ МЕТАБОЛИЗМА И ЭЛИМИНАЦИИ ПЕСТИЦИДОВ И ДРУГИХ КСЕНОБИОТИКОВ

Г.М.Балан, доктор мед. наук, профессор, Н.Н.Бубало,

И.В.Лепешкин, кандидат мед. наук, В.А. Бубало

ГП "Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности
имени академика Л.И.Медведя МЗ Украины", г.Киев

РЕЗЮМЕ. За последние годы накоплена информация о структуре и функции ядерных рецепторов, активация которых вызывает экспрессию генов, регулирующих индукцию белков семейства цитохрома P450, обеспечивающих I фазу биотрансформации – окислительную модификацию пестицидов, лекарств и других ксенобиотиков, а также основных эндогенных субстратов (билирубина, липидов, желчных кислот, гормонов, витаминов, токсинов и др.) как в физиологических условиях, так и при различных заболеваниях. Ядерные рецепторы регулируют также II и III фазы биотрансформации, активируя экспрессию генов, контролирующих синтез ферментов реакции конъюгации и белков-транспортёров, обеспечивающих элиминацию чужеродных соединений. Ключевыми регуляторами метаболизма и транспорта ксенобиотиков и эндогенных соединений является прегнановый X рецептор (PXR) и конститутивный андростановый рецептор (CAR). Кооперативные взаимодействия PXR, CAR и других ядерных рецепторов, а также белков-шаперонов, коактиваторов и корепрессоров модулируют экспрессию генов, участвующих в биотрансформации. Оценка и моделирование функции ядерных рецепторов найдёт широкое применение в экспериментальной и клинической токсикологии. **Ключевые слова:** ядерный прегнановый и андростановый рецепторы, биотрансформация и элиминация ксенобиотиков.

В процессе эволюции в клетках человека и животных сформировались специальные биохимические системы, основная функция которых направлена на защиту от экзогенных ксенобиотиков и различных продуктов метаболизма эндогенных соединений, в том числе оксидантов. В последние десятилетия установлено, что регуляция защитных систем основана на транскрипционной активации генов, кодирующих ферменты и белковые факторы, участвующие в инактивации ксенобиотиков и избыточного уровня ряда эндогенных соединений. Действие защитных систем направлено на химическую модификацию ксенобиотиков, что снижает их токсичность, способствует удалению из клеток и элиминации из организма. Процессы биотрансформации ксенобиотиков, в том числе пестицидов, лекарственных средств и эндогенных соединений, как известно, зависят от согласованного функционирования ферментов I и II фаз метаболизма чужеродных соединений, а также белков-транспортёров, способствующих их элиминации [1-7].

Первая фаза окисления чужеродных и ряда эндогенных соединений обеспечивается микросомальной монооксигеназной системой цитохромов P450. Система ферментов P450 (CYP) – это большое семейство монооксигеназ, представленный набором белков, близких

по строению, но разных по субстратной специфичности. Изоферменты CYP представлены в основном в печени и кишечнике, окисляют и гидроксилируют ксенобиотики, что изменяет их полярность, повышает растворимость и облегчает дальнейшую модификацию и элиминацию. При этом многие ксенобиотики в процессе биотрансформации способны превратиться в более токсичные метаболиты. Гидроксилированные ксенобиотики и электрофильные соединения (органические перекиси, эпоксиды, ненасыщенные альдегиды) стимулируют индукцию ферментов второй фазы инактивации ксенобиотиков, обеспечивающих их конъюгацию [1-7, 46, 47]. Значительную их часть составляют изоферменты глутатион-S-трансферазы (GST), катализирующие конъюгацию гидроксилированных ксенобиотиков и эндогенных электрофильных соединений с глутатионом. Изоферменты GST присутствуют в разных клеточных структурах: цитоплазме, эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях. Их индукция происходит вследствие активации ксенобиотиками определенных рецепторов, вызывающих экспрессию генов GSTA1-4; GSTP1,2; GSTM1-6; MGST-2,3 [6-7]. Наряду с метаболизмом ксенобиотиков GST участвуют в биосинтезе простагландинов, лейкотриенов



и стероидных гормонов. В процессе конъюгации ксенобиотиков участвуют также ферменты семейства сульфотрансферазы, UDR – глюкуроназилтрансферазы (UGT) и карбоксиластеразы [5-7]. Эти ферменты модифицируют и повышают растворимость гидрофобных ксенобиотиков и эндогенных липофильных соединений (билирубин, стероиды, витамины, желчные кислоты и др.).

Третий этап инактивации ксенобиотиков обеспечивают трансмембранные переносчики – транспортёрные белки OATP2 и белки множественной лекарственной устойчивости – MRP 1, MRP 2, MRP 3 и MRP 4. Белки OATP 2 и MRP 2 являются транспортёрами трансмембранной элиминации ксенобиотиков, билирубина и желчных кислот, обеспечивающих элиминацию сопряженных анионов преимущественно через канальцевую мембрану [33]. Белки MRP1 экспрессируются в основном в кишечнике и обеспечивают АТФ-зависимую трансмембранную элиминацию широкого спектра ксенобиотиков, в том числе многих широкоиспользуемых пестицидов и лекарственных средств.

В 70-х годах у исследователей процессов биотрансформации ксенобиотиков, в частности монооксигеназной системы P450, впервые был накоплен значительный материал, свидетельствующий о важной роли генетических факторов регуляции процессов детоксикации, активности и индуцибельности микросомальных монооксигеназ печени. В 1968 г. D.Nebert и H.Yelboin показали, что введение 3-метилхолантрена мышам линий C57B1, C3H/HEN, A/HEN сопровождается 4–6-кратным увеличением скорости гидроксилирования 3,4-бензопирена в микросомах печени, в то время как у мышей линий АК и ДБА какая-либо индукция отсутствовала [2]. В ходе исследования более 30 инбредных линий мышей было выявлено, что две трети оказались «чувствительными» к индукции монооксигеназ полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ), а одна треть – «нечувствительна» к их индуцирующему влиянию. Установлено, что способность к индукции монооксигеназ в печени у мышей при введении ПАУ наследуется по аутосомно-доминантному типу. Впервые был определен локус генома, с которым связана индукция активности многих реакций монооксигеназного типа в микросомах, названный Ah - Aromatic hydrocarbon responsiveness, в последствии идентифицированный как углеводородный или Ah-рецептор, регулирующий метаболизм большинства ПАУ посредством индукции цитохром P450 CYP1A[50]. Одновременно при сравнении разных линий мышей было установлено, что

при введении животным фенобарбитала или синтетического стероида прегненолон-16 α -карбонитрила наблюдается не только более активная индукция монооксигеназ, но и других изоформ. Этот процес также генетически запрограммирован и наследуется кодоминантно. Идентификация и характеристика рецептора, регулирующего индукцию изоферментов семейства CYP3A в печени и кишечнике мышей при воздействии синтетического прегнанового стероида C21 (прегненолон-16 α -карбонитрила), фенобарбитала и дексаметазона произошла лишь в 1998 году [10]. Данный рецептор назван прегнановым ксенорецептором (PXR) или стероидным X-рецептором (SXR), потому что он активировался у крыс и мышей при воздействии синтетических прегнановых стероидов или дексаметазона [11-15]. Идентифицированный PXR относится к семейству ядерных рецепторов (ЯР). Сегодня идентифицировано более 60 ЯР. Почти каждый ЯР вызывает экспрессию одного, редко – двух групп генов. Секвенирование генома показало, что у человека идентифицировано 48 генов ЯР, у мышей – 49, у крыс – 47, костистые рыбы имеют дополнительные гены за счет дубликации генов. Так, у рыбы фугу идентифицировано 68 генов ЯР [38,52]. Для идентификации генов и оценки их полиморфизма методом Reporter Gene Assay выделяют мРНК из ткани печени или лизат культивируемых клеток и профиль мРНК сравнивают обычно с данными экспрессии мРНК 218 биологических сигнальных путей, внесенных в Киотскую энциклопедию базы данных генов и геномов[42,45].

ЯР являются транскрипционными факторами, играющими важную роль в процессах эмбрионального развития, поддержания дифференцировки стволовых клеток, регуляции пролиферативных процессов, клеточной гибели, а также защите организма от воздействия экзогенных и эндогенных токсичных соединений, регулируя процессы метаболизма и выведения ксенобиотиков, в том числе пестицидов, лекарственных средств и эндогенных липофильных соединений (гормонов, желчных кислот, липидов, витаминов и др.) [16-19]. Нарушения сигнальной функции ЯР ведут к развитию различных патологических процессов (нарушению дифференцировки стволовых клеток, канцерогенезу, бесплодию, ожирению, аллергии, холестазу, фиброгенезу, остеопорозу, развитию эндокринной патологии, острых и хронических интоксикаций ксенобиотиками, изменению ожидаемого лечебного эффекта при сочетанном назначении нескольких лекарственных средств и др.) [35, 38, 42, 43, 45, 50]. Гены ЯР кодируют лиганд-зависимые и



лиганд-независимые транскрипционные факторы. Структура ЯР включает концевой активируемый домен и консервативные ДНК-связывающие и лиганд-связывающие домены. ЯР, выполняющие ключевую роль в регуляции биотрансформации ксенобиотиков, функционируют как лиганд-зависимые транскрипционные факторы. После активации лигандом (ксенобиотиком или эндобиотиком) происходит связывание рецептора со специфическими последовательностями ДНК-распознаваемых элементов внутри регуляторной области промоторов соответствующих генов-мишеней. Специфическая последовательность ДНК (AGGTCA) может присутствовать в виде одного элемента или двух tandemных повторов в разных направлениях и обеспечивает связывание ЯР в виде мономеров, гомодимеров или гетеродимеров. Ряд ЯР, в том числе PXR, образует гетеродимеры, которые могут связываться с распознаваемыми участками ДНК и активировать экспрессию генов — мишеней [10-16]. Лиганд-связывающий домен ЯР имеет структуру, состоящую из 12 альфа-спиралей с центральным гидрофобным карманом, который непосредственно связывается с ксенобиотиками и эндогенными соединениями (гормонами, желчными кислотами, липидами, витаминами и др.). ЯР активируют или подавляют экспрессию генов-мишеней через лиганд-зависимые взаимодействия с дополнительными белками — коактиваторами или корепрессорами. Эти кофакторы образуют комплексы из многих субъединиц, которые локально модифицируют структуру хроматина и собирают транскрипционный механизм на промоторах генов [13-15].

В соответствии с механизмом действия и распределением несвязанных с лигандом ЯР внутри клетки выделяют два типа ЯР. Первый тип ЯР расположен в цитозоле в комплексе с белками теплового шока (стресс-белками или белками-шаперонами) (HSP) [10-15]. Связывание ЯР с лигандом сопровождается диссоциацией этого комплекса, димеризацией ЯР и транслокацией его в ядро клетки, где он взаимодействует с определенной последовательностью ДНК, расположенной в области промотора регулируемого гена, называемой элементом гормонального ответа. К первому типу ЯР относят, прежде всего, орфановые рецепторы, которые получили свое название из-за отсутствия в свое время информации о лигандах, способных их активировать [14,15]. Орфановые рецепторы обеспечивают основную регуляторную роль в реакциях биотрансформации и элиминации из организма ксенобиотиков и эндогенных соединений (гормонов, желчных кислот, холестерина, витаминов, эндотоксинов и других субстанций).

Орфановые ЯР обеспечивают функционирование ферментов I и II фазы биотрансформации и транспортёров. Их согласованное взаимодействие обеспечивает распознавание, детоксикацию и элиминацию значительного разнообразия ксенобиотиков. Кроме прегнанового ксенорецептора (PXR), в этих процессах также участвуют другие ЯР: конститутивный андростан-рецептор (CAR), фарнезоидный X рецептор (FXR), печеночный X рецептор (LXR), рецептор витамина D (VDR). К первому типу ЯР относят также андрогенный рецептор, эстрогеновые рецепторы, глюкокортикоидный и прогестероновый рецептор [16-23]. В отличие от ЯР первого типа ЯР второго типа всегда располагаются в ядре [17-19]. В отсутствие лиганда они образуют комплекс с белками-корепрессорами. Связывание лиганда с ЯР ведет к диссоциации этого комплекса и включению его в сигнальный путь ряда коактиваторов. Взаимодействие ЯР второго типа со специфическим сегментом ДНК происходит в виде гетеродимера, в состав которого входит ретиноидный X рецептор (RXR) (рис. 1). Ко второму типу ЯР относят рецепторы ретиноевой кислоты (RXR), рецептор тиреоидного гормона и ряд других гормонов [17,18].

В данной статье остановимся на прегнановом и андростановом ксенорецепторах — ключевых факторах метаболизма и элиминации ксенобиотиков, в том числе пестицидов.

Среди ЯР ключевая роль в процессах идентификации, биотрансформации и элиминации ксенобиотиков и метаболитов эндогенных соединений отводится прегнановому X рецептору (PXR), NR1I2, также известному как стероидный X рецептор (SXR). У крыс и мышей PXR индуцирует мРНК семейства цитохромов P450 преимущественно — CYP 3A1, CYP 3A23 и CYP 2B1, у кроликов — CYP 3A2. У человека активация PXR сопровождается экспрессией генов, регулирующих индукцию преимущественно CYP 3A4, реже CYP 3A7 и CYP 2B6 [45, 48, 49], которая наиболее широко представлена в гепатоцитах и в меньшей мере — в поджелудочной железе, энтероцитах тонкого и толстого кишечника [15, 24, 25, 48-52]. У грызунов PXR также представлены преимущественно в печени и кишечнике, однако в небольшом количестве они представлены также в почках, легких, желудке, матке, яйчниках и плаценте [13, 20, 24, 27, 32, 44, 52]. Физиологическое назначение PXR, представленных в этих тканях еще не изучено, но учитывая, что это основной ксенорецептор, надо полагать, что и в этих органах PXR является «сенсором» ксенобиотиков и избыточного количества ряда эндогенных соединений и регулирует процессы детоксикации.



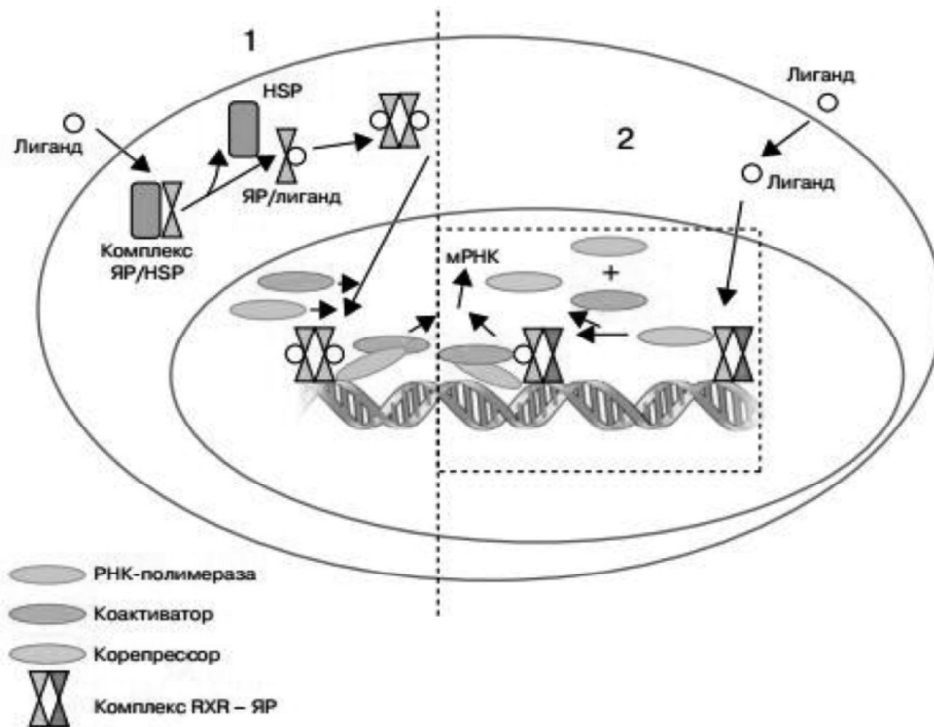


Рис. 1. Механизмы активации и действия ЯР I и ЯР II типов[22].

1. Механизм активации ЯР I типа. ЯР I типа расположен в цитозоле в комплексе с белками теплового шока (HSP). Связывание ЯР с лигандом сопровождается диссоциацией этого комплекса, димеризацией ЯР и транслокацией его в ядро клетки, где ЯР взаимодействует с определенной последовательностью ДНК, расположенной в области промотора регулируемого гена и получившей название элемента гормонального ответа – hormone response element (HRE). После связывания ЯР с ДНК к этому комплексу присоединяются коактиватор и РНК-полимераза, что ведет к активации процесса транскрипции гена.

2. Механизм активации ЯР II типа. ЯР II типа всегда располагаются в ядре клетки в виде гетеродимера, в состав которого, как правило, входит RXR. В отсутствие лиганда ЯР II типа образуют комплекс с белками-корепрессорами. Связывание лиганда с ЯР ведет к диссоциации этого комплекса и включению в сигнальный путь ряда коактиваторов и РНК-полимеразы, что способствует активации процесса транскрипции гена. ЯР – ядерный рецептор; RXR – ретиноидный X рецептор; мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота.

PXR имеет видовую специфичность не только в связи с индукцией разных изоформ CYP, но и по структуре. Наиболее существенно PXR человека отличается от PXR крысы, большее сходство у PXR человека с PXR приматов и кролика[14, 20, 22], что должно учитываться при изучении метаболизма и токсикокинетики химических соединений, в том числе лекарственных средств (рис. 2). В отличие от других ЯР у PXR в области лиганд-связывающего домена имеется большой гидрофобный пластичный карман. В результате его конформационных изменений PXR способен идентифицировать и связывать огромное разнообразие ксенобиотиков разной структуры [13,52].

PXR расположен в цитозоле клеток в комплексе с белками теплового шока. Связывание ксенобиотика происходит в лиганд-связывающем домене PXR. Этот процесс регулируется при взаимодействии с RXR, с белками тепло-

вого шока и рядом других сигнальных путей. Далее сопровождается диссоциацией этого комплекса, димеризацией PXR и транслокацией его в ядро клетки (рис. 1 и 2). Именно там в промоторных областях гена PXR взаимодействует с определенной последовательностью ДНК в зоне гормонального ответа, связывается с транскрипционным фактором Nrf 2, который входит в обширную группу ДНК-связывающих белков, и белками-коактиваторами, что вызывает экспрессию генов PXR и последующую индукцию ферментов семейства CYP 3A в микросомах, у человека – преимущественно изоформ CYP 3A4 (70%). Семейство цитохромов P450 CYP 3A4 характеризуется широкой специфичностью субстрата, индуцируется структурно-разнообразным набором экзогенных веществ, в том числе пестицидов и лекарств, а также рядом эндогенных соединений (прогестеронами, кортикостероидами,

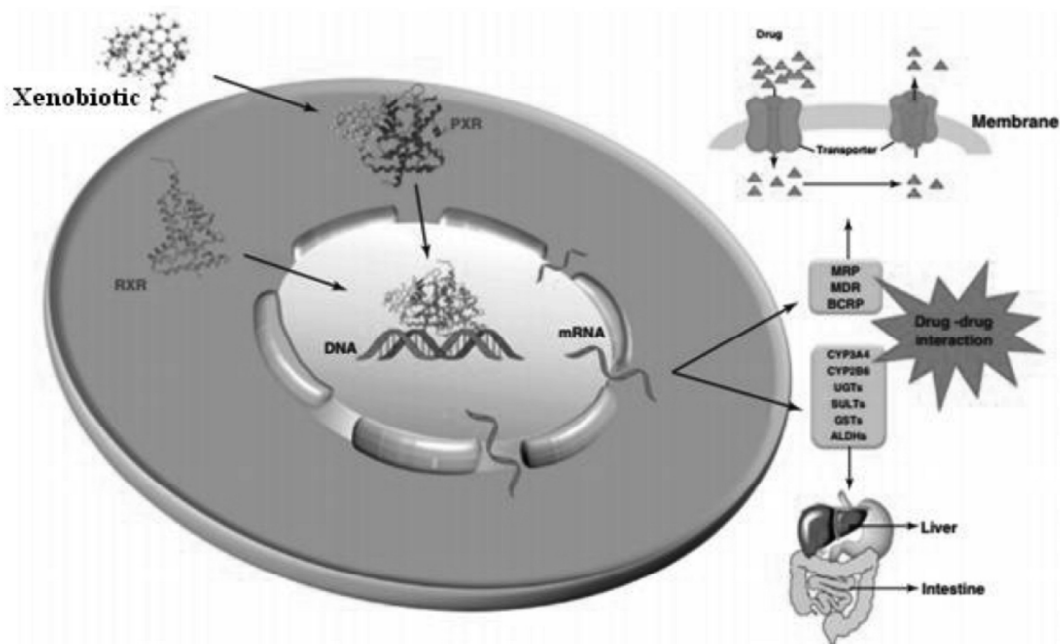


Рис. 2. Прегнанный ксенорецептор – ключевой регулятор метаболизма и элиминации ксенобиотиков [87].

тестостероном, андрогеном, литохолевой кислотой, витаминами, стероидоподобными соединениями – дексаметазоном, 17-эстрадиолом и др.) [20-27, 34, 36, 45, 46]. PXR регулирует экспрессию генов, активирующих индукцию CYP 3A4 и CYP 3A7, участвующих в метаболизме холестерина и желчных кислот, а также в метаболизме более 60% известных лекарственных средств, компонентов лекарственных трав (зверобоя, полинезийского перца и др.), биологически активных добавок [20-27]. Одним из наиболее эффективных активаторов CYP 3A4 как *in vivo*, так и *in vitro* у человека является противотуберкулезный макроциклический антибиотик рифампицин, в связи с чем он используется в качестве положительного контроля при оценке активации PXR и метаболизма ксенобиотиков [22, 24, 25, 27, 30].

У крыс рифампицин слабо активирует PXR и экспрессию генов CYP 3A23, CYP 3A2. Сильными активаторами PXR у крыс с экспрессией генов CYP 3A23 и CYP 3A2 являются синтетический прегнанный стероид прегнелон-16 α -карбонитрил, фенобарбитал и дексаметазон [27-31]. Данные активаторы PXR у кролика вызывают экспрессию генов CYP 3A6, у мышей – CYP 3A11 [27, 51, 52].

Указанные средства не активируют PXR у когитой лягушки, паттерн экспрессии которого находится не в клетках печени и кишечника, как у млекопитающих, а в гонадах и мозгу и активируется только бензоатами в ко-

операции PXR с бензоат X рецептором (BXR). У Данио PXR активируется рядом стероидов и желчных солей, но только ограниченным количеством ксенобиотиков. В микросомах печени аллигатора синтез CYP 3A индуцирует фенобарбитал и 3-метилхолантрен, у атлантической трески – алкилфенол, у радужной форели – кетоконазол, в печени взрослых Данио – прегнаны и карбонитрил, но не клотримазол и нифедипин, а в кишке личиночной Данио – рифампицин и дексаметазон [42, 45]. Это свидетельствует о видовой специфичности PXR и монооксигеназной системы цитохромов P450. Показано, что активность PXR у грызунов во время беременности в 50 раз повышается в печени и яичниках, что связывается с эволюционно сформированной физиологической ролью PXR в защите плода от ксенобиотиков и избыточного количества эндогенных стероидов [32].

Среди лекарственных средств, активирующих PXR и вызывающих повышенную индукцию CYP 3A4 у человека является фенобарбитал, противогрибковое средство – клотримазол, кальциевый блокатор нифедипин, ингибитор протеазы ВИЧ ритонавир, противоопухолевые препараты – тамоксифен, таксол, липостатины (ловастатин и др.), гормоны эстрадиол и в меньшей степени – кортикостерон. Многие ксенобиотики являются активаторами PXR – дисфенол А, диэтилгексилфталаты, нонилфенол, многие пестициды (транснахлор, ДДТ, ДДЕ, ФОС, пиретроиды, гер-

бициды и др.) [31, 32, 34-42]. Особенной активизирующей способностью воздействия на функционирование PXR обладают химические эндокринные дизрапторы [31, 32, 40, 41].

Более выраженная активация PXR наблюдается при сочетанном воздействии ряда лекарственных препаратов и химических факторов загрязнения окружающей среды. Так, совместное воздействие хлорорганических пестицидов (транс-нонахлор) и активного компонента контрацептивных таблеток 17 α -этинилэстрадиола вызывает более выраженную, чем при их одиночном воздействии активацию PXR с экспрессией генов, обуславливающих более интенсивную индукцию CYP 3A [42]. Авторы показали, что при сочетанном воздействии ксенобиотиков отмечается их усиленный метаболизм и неожиданные последствия. В данном случае в эксперименте *in vitro* при сочетанном воздействии малых доз хлорорганических пестицидов (1 и 3 мкмоль) и гормонального контрацептива можно наблюдать развитие усиленного ксенобиотиком метаболизма контрацептивного средства. Экстраполируя полученную зависимость в условия *in vivo*, можно ожидать развитие незапланированной беременности.

При использовании культуры клеток гепатоцитов крыс-самцов линии Спрег-Доули с воздействием (5 мкмоль) ДДЕ – метаболита ДДТ уровень мРНК 3A1 был в 8 раз выше, чем в контроле. При этом уровень мРНК 2B1 был увеличен в 14 раз при воздействии 5 мкмоль ДДЕ и в 95 раз – при воздействии 50 мкмоль [43]. Количественная оценка уровня CYP 3A1 и CYP 2B1 мРНК проводилась с использованием ПЦР. Идентификацию активации CYP 3A1 и CYP 2B1, PXR и конститутивного андростанового рецептора (CAR) определяли методом иммуноблоттинга. Метод иммуноблоттинга (вестерн-блотт-анализ) включает в себя электрофоретическое разделение клеточных белков, перенос их на нитроцеллюлозную мембрану, инкубацию последней с антителами, связанными с ферментативной или радиоактивной меткой и направленными против первых антител. В зависимости от типа метки блотт дальше помещают в раствор, содержащий субстрат фермента и хромоген. Изоформы P450 определяли после инкубации микросом печени крыс-самцов, подвергавшихся внутрижелудочному введению 100 мг/кг ДДЕ (для положительного контроля – 40 мг/кг фенобарбитала и 40 мг/кг прегнана). Микросомы печени крыс и общий белок из культивируемых гепатоцитов инкубировали с поликлональными антителами для CYP 3A1 и CYP 2B1, PXR и CAR. Повышенное содержание белка CAR в гепатоцитах крыс обнаруже-

но через 6 часов после введения 100 мг/кг ДДЕ со снижением через 24 часа. Повышение белка PXR было менее выраженным. Авторы установили, что ДДЕ вызывает у крыс индукцию CYP 3A1 и CYP 2B1 вследствие трансактивации ядерных рецепторов PXR и CAR. Характер взаимодействия ДДЕ и CAR в данных исследованиях можно было сравнить с фенобарбиталом, а ДДЕ и PXR – сопоставим с взаимодействием прегнана. Показано, что индукция у крыс CYP 3A1 и CYP 2B1 при воздействии ДДЕ связана с одновременной активацией PXR и CAR [43].

Изучение метаболизма андрогенов показало, что андрогены вызывают выраженную активацию PXR и усиленную индукцию CYP 3A4, что в свою очередь сопровождается усилением метаболизма как экзогенных, так и эндогенных андрогенов [42]. Усиление метаболизма андрогенов изменяет поведенческие реакции крыс-самцов и вызывает нарушение функции репродуктивной системы. Установлено, что ДДЕ – стойкий метаболит ДДТ, обладает сродством к андрогеновому рецептору, блокирует или ингибирует его, что также сопровождается развитием нарушений функции репродуктивной системы у самцов [43]. Таким образом, активация PXR с усилением метаболизма андрогенов и других гормонов является важным звеном в механизме токсического действия химических эндокринных дизрапторов [50-52].

В последние годы проводятся исследования по изучению пестицидов в качестве лигандов PXR как *in vitro*, так *in vivo*. Исследования, проведенные на грызунах, показали, что хлорорганические пестициды (ХОП) и фосфорорганические пестициды (ФОП) являются активаторами PXR и вызывают индукцию ферментов CYP 2B и CYP 3A [56,57]. Выявлена небольшая индукция Cyp 2B у мышей при воздействии дифлубензурана [58]. Повышение печеночного метаболизма отмечено у грызунов при воздействии фипронила [59]. Как активные индукторы Cyp 2B и CYP 3A описаны такие пестициды: фенаримол [60], метолахлор [61], перметрин [62] и пропиконазол [63].

Идентификация и особенности активации PXR пестицидами изучены также в стабильной системе культивируемых клеток гепатомы человека (HeLa) с использованием люциферазного репортера для обнаружения лигандов рецепторов при взаимодействии 28 пестицидов в качестве активаторов человеческого PXR (hPXR) [54]. Стабильно экспрессирующиеся люциферазный репортер и hPXR в клетках HeLa были использованы для оценки уровня промоторной активности hPXR в экспериментах *in vitro* и *in vivo* у инбредных голых мышей после вживления в область спины трансплан-

танта из клеток HeLa с человеческим PXR (hPXR). Важно отметить, что hPXR репортер, имплантированный голым трансгенным мышам позволил в естественных условиях *in vivo* обнаружить ответ hPXR в виде индукции у мышей цитохромов CYP 3A4 на воздействие ксенобиотиков. Пестициды – активаторы hPXR, были представлены различными химическими классами: 1) гербициды: претилахлор, метолахлор, алахлор, оксадиазон оксиконазола и изопротурон; 2) фунгициды: бупиримат, фенаримол, пропиконазол, фенбуконазол, прохлораз коназола и имазалил; 3) инсектициды: токсафен, перметрин, фипронил, пиразол и дифлубензурон. Выявлено, что претилахлор, метолахлор, бупиримат и оксадиазон имели сродство к PXR в равной или даже большей степени, чем положительный эталонный контроль с рифампицином (одним из самых сильных активаторов PXR у человека). Пропиконазол и три других N-замещенных азола-фенбуконазол, имазалил и прохлораз также были лигандами для человеческого PXR, хотя фенбуконазол, имазалил и прохлораз оказались слабыми активаторами PXR. Не удалось индуцировать hPXR-экспрессию люциферазы в культуре клеток HeLa при оценке таких пестицидов, как 2,4-Д, 2,4-5Т, аминотриазол, атразин, азимсульфурон, карбарил, диурон, гептахлор, манкоцеб, мекопрон, метилпаратион, винклозолин [54]. Среди них были соединения, содержащие азолы – тиабендазол, азимсульфурон и аминотриазол, но следует отметить, что эти соединения не являются N-замещенными. Авторы не выявили активности этих пестицидов при воздействии на hPXR при инкубации в культуре клеток HeLa. Следует отметить, что не описано, что эти препараты являются индукторами CYP 2B или CYP 3A и в других исследованиях. При исследовании hPXR *in vitro* выявлено, что алахлор, оксадиазон и претилахлор являются активными индукторами цитохрома P450 CYP 3A4. Важно отметить, что hPXR репортер, имплантированный голым трансгенным мышам, позволил в естественных условиях *in vivo* обнаружить ответ на воздействие ксенобиотиков. Такая альтернативная относительно дешёвая модель с оценкой функциональной активности PXR на мышах, видимо, найдет свое применение при изучении метаболизма и токсикокинетики и других ксенобиотиков, особенно лекарственных средств.

Наряду с пестицидами, активаторами PXR являются более 60% известных лекарственных средств. S.J.Shukla и соавторы [44] оценили способность 2816 используемых в клинике лекарственных средств к активации PXR у

человека (hPXR), а также у крысы (rPXR) с использованием стабильных культивируемых клеточных линий и рифампицина в качестве положительного контроля, а также криоконсервированных гепатоцитов человека для оценки индукции CYP 3A4. Выявлено, что более 60% исследованных лекарственных средств являются активаторами PXR у человека (hPXR) и индукторами CYP 3A4, 11% лекарств были определены в качестве сверхсильных активаторов PXR у человека. Среди 2816 лекарственных средств 603 соединения активировали как hPXR, так и rPXR. 603 соединения активировали один из двух изученных рсцпторов. Сверхактивными активаторами только для rPXR оказались пликамицин, римексолан, флорметанол, фенбендазол, диклазурил. Некоторые соединения были активны только для rPXR (например, гидралазин гидрохлорид и 6-альфа-метилпреднизолон). В тоже время антидиабетические средства цигмитазон и троглитазон активировали лишь hPXR. Сверхактивными активаторами для hPXR оказались тиамилал натрия, оксатомид, вумекаин и дигидропиридиновые кальциевые блокаторы – нилвадипин, риодипин и фелодипин (в 6 раз активнее рифампицина). Исследования еще раз подтвердили большую видовую селективность hPXR. Интересно отметить, что некоторые дигидропиридиновые кальциевые блокаторы оказались сверхактивными активаторами hPXR и сверхактивными индукторами CYP 3A4. Возможно, именно с этой их способностью связана их промоторная активность в канцерогенезе, отмеченная ранее [88].

В экспериментах на животных и при использовании стабильных клеточных линий установлено, что PXR является не только основным «сенсором» и активатором экспрессии генов, регулирующих метаболизм ксенобиотиков [45,49-54], но и ряда эндогенных соединений, особенно желчных кислот (ЖК). Известно, что избыток ЖК приводит к их повреждающему действию на ткань печени [73-77]. В исследованиях на животных было показано, что вторичная ЖК – литохолевая кислота (LCA) способна вызвать развитие холестаза как у экспериментальных животных, так и у человека [74,77]. PXR является своеобразным сенсором LCA и ее метаболитов, а также играет важную роль в процессе детоксикации желчных кислот [73-77]. Увеличение содержания LCA и её метаболитов приводит к опосредованному PXR угнетению активности CYP 7A1 и, как следствие, остановке синтеза ЖК. Кроме того, PXR активирует экспрессию транспортёра органических анионов 2 (OATP 2), что в свою очередь сопровождается увеличени-

ем поступления ЛСА и других ЖК из просвета синусоидов в гепатоциты, где осуществляется реакция гидроксилирования ЖК с участием ферментов семейства CYP 3A (I фаза детоксикации). Кроме того, PXR регулирует интенсификацию конъюгации ЖК с участием ферментов GST, УДФ-ГТ и сульфотрансфераз – II фаза. Модификация ЖК делает их более гидрофильными, что облегчает их выделение с помощью транспортёров (III фаза) в желчь и мочу, что также регулируется PXR в кооперации с другими ЯР.

Как в биотрансформации ксенобиотиков, так особенно в метаболизме и элиминации различных эндогенных соединений PXR функционирует в кооперации с другими ЯР, такими как конститутивный андростановый ксенорецептор (CAR) [69-73], рецептор витамина D, фарнезоидный X-рецептор, печеночные α - и β -рецепторы (LXR α и LXR β), рецептор ретиноевой кислоты (RXR или RAR α , RAR β , RAR γ) и др. [42,44,47,50-64].

Из всего семейства ЯР наиболее сходным по своим функциям с PXR – метаболизм и элиминация ксенобиотиков, является конститутивный андростановый рецептор (CAR) [55-68]. В связи с тем, что гены CAR идентифицируются только у млекопитающих, есть версия, что CAR произошёл в процессе эволюции вследствие дополнительного дублирования гена PXR [45,61]. Так, например, курица имеет только один ген, регулирующий метаболизм ксенобиотиков (в настоящее время классифицируется как PXR, хотя он имеет дополнительные свойства, характерные для CAR [45]. Есть версия, что у человека и млекопитающих CAR является дублёром PXR [58].

CAR (NR113) был впервые описан как рецептор ксенобиотиков. Одним из активных лигандов этого рецептора является фенобарбитал, а позже установили, что метаболизм эндогенных соединений (стероидных гормонов, эстрогенов, андрогенов, желчных кислот и др.) регулируется PXR преимущественно в кооперации с CAR [55, 57, 62, 63].

CAR наряду с PXR выступает в качестве регулятора I и II фаз детоксикации желчных кислот [55,57,62]. Так же, как PXR, CAR располагается в цитоплазме клеток в комплексе с белками теплового шока и после образования гетеродимера с рецептором ретиноевой кислоты (RXR) транслируется в ядро клетки [60-66], вызывая экспрессию генов, регулирующих метаболизм ксено- и эндобиотиков, индуцируя преимущественно синтез CYP 3A4. CAR взаимодействует с той же последовательностью нуклеотидов (IR-0) в области SULT2 A1 у грызунов, что и PXR. CAR является основным регулятором реакций сульфатирования желчных кислот,

а также увеличивает экспрессию MRP4 – базолатерального транспортёра, способствующего выведению конъюгированных/сульфатированных желчных кислот из гепатоцитов в систему воротной вены [55, 57-59].

CAR в кооперации с PXR и другими ЯР участвует в регуляции активности ферментов II фазы детоксикации GST и УДФ-ГТ, а также способствует активации транскрипции генов, кодирующих синтез ряда транспортёров (MRP2 и др.). CAR не только увеличивает объём и скорость детоксикации экзо- и эндобиотиков, но и обеспечивает выведение конъюгатов из печени и кишечника [55-60].

Кооперативное взаимодействие PXR и CAR регулирует экспрессию генов, контролирующую метаболизм и элиминацию ксенобиотиков, в том числе пестицидов, канцерогенов, эндокринных дизрапторов, лекарственных средств и многих эндогенных соединений: витаминов, желчных кислот, липидов, глюкозы, гормонов и нейромедиаторов [56-66].

PXR и CAR функционируют лишь в кооперации с белками теплового шока (стресс-белками или белками-шаперонами). Доказано, что типы нарушений синтеза отдельных изоформ белков теплового шока являются биомаркерами различных заболеваний. Так, увеличение растворимых форм белков теплового шока HSP 60 – основной маркер атеросклеротического поражения сонных артерий; повышение синтеза HSP 70 – связывают с развитием эндотелиальной дисфункции, а HSP 7 – маркер патологической гипертрофии левого желудочка [85]. Не исключено, что нарушение синтеза изоформ белков теплового шока отражается на функциональной активности PXR и CAR.

В последние годы с изменением функционального взаимодействия или полиморфизмом генов PXR и CAR, а также других ЯР и белков-коактиваторов и корепрессоров связывают нарушения регуляции экспрессии генов, индуцирующих синтез ферментов цитохрома P 450, а также ферментов II фазы детоксикации и белков-транспортёров, обуславливающих формирование отдельных звеньев в механизме развития различных заболеваний и патологических процессов [46, 53, 56, 58, 59, 73, 74]. К этой патологии относят токсические поражения печени и холестаза [73-77], стеатогепатоз [78, 79], развитие и прогрессирование эндотелиальной дисфункции, метаболического синдрома и атеросклероза [53, 72, 79], ожирения [79, 81], заболеваний крови [66, 67], сахарного диабета [65], нарушения функций репродуктивной системы и другой эндокринной патологии [65, 72], а также нарушения гомеостаза витаминов, формирование остеопороза и остеопении



[69-71]. С нарушением кооперативного функционирования PXR и CAR, а также с полиморфизмом или мутацией их генов связывают развитие первичного билиарного цирроза печени, склерозирующего холангита, воспалительных заболеваний кишечника, в том числе болезни Крона [82-84].

Ряд особенностей PXR и CAR отличают их от других ЯР. Во-первых, лиганд-связывающий домен PXR имеет большой пластичный лиганд-связывающий карман, позволяющий связываться с удивительно большим разнообразием лигандов—ксено- и эндобиотиков. PXR — это единственный ЯР, лиганд-связывающий домен которого может формировать «супрамолекулярный» домен и одновременно связываться с несколькими соединениями экзогенной и эндогенной природы, что изменяет взаимодействие веществ, в частности лекарственных препаратов, и сопровождается неожиданными последствиями. Во-вторых, лиганд-связывающий домен PXR и CAR обладает выраженной видовой специфичностью у грызунов и человека, а следовательно — индукцией разных семейств CYP и различными фармакологическими активаторами и ингибиторами, что связывают с эволюционно сложившейся адаптивной способностью, обусловленной различием диет у человека и других млекопитающих. Это свидетельствует о том, что выявленные закономерности механизмов детоксикации и особенностей метаболизма ксенобиотиков, в том числе пестицидов и лекарственных средств на животных, нельзя полностью экстраполировать на человека. В-третьих, PXR и CAR являются основным «сенсором» не только ксенобиотиков, но и многих эндогенных веществ (желчных кислот, липидов, гормонов, витаминов, эндотоксинов и др.). Причем, связанный с PXR метаболизм ксенобиотиков, особенно эндогенных субстанций, происходит в тесной кооперации с другими ЯР (CAR, RAR, FXR и др.). С поли-

морфизмом или мутацией генов данных рецепторов связывают развитие хронических интоксикаций ксенобиотиками и различной общесоматической патологии.

Достижения исследователей разных стран в изучении идентификации, структуры и функций ЯР трудно переоценить. Несомненно их будут использовать в экспериментальной и клинической токсикологии: при оценке метаболизма, токсикокинетики, при регламентировании и изучении процессов взаимодействия ксенобиотиков, в том числе пестицидов и лекарственных средств. В клинической практике определение особенностей полиморфизма генов ЯР и их функциональной активности найдет широкое применение при профотборе рабочих. Оценка функциональной активности PXR, CAR и других ЯР у больных будет способствовать проведению более рациональной терапии, особенно при назначении нескольких лекарственных средств. Моделирование функции с использованием известных и новых фармакологических активаторов или ингибиторов PXR и CAR также найдет свое применение при коррекции отдельных клинических синдромов и лечении различных заболеваний. Идентификация, регуляция и оценка степени индукции с регистрацией количественного уровня и длительности синтеза отдельных изоформ цитохрома P450 (CYP) и других ферментов, коактиваторов и корепрессоров, участвующих в процессах биотрансформации и элиминации ксенобиотиков, несомненно, будет шире использоваться в качестве биомаркеров воздействия конкретных химических соединений и определения факторов повышенного риска развития отдельных нозологических форм. Использование целенаправленных лигандов ЯР даст возможность усилить механизмы защиты организма от повреждающего воздействия ксенобиотиков, предупредить, замедлить или остановить прогрессирующее развитие ряда заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каган Ю.С. Роль монооксигеназной системы в метаболизме и механизме действия некоторых пестицидов / Ю.С. Каган, Е.А. Ершова, О.Б. Леоненко [и др.] // Вестник АМН СССР. — 1988. — №1. — С.70–76.
2. Адрианов Н.В. Регуляция активности ферментных систем окисления чужеродных соединений / Н.В. Адрианов, В.Ю. Уваров // Вестник АМН СССР. — 1988. — №1. — С.24–33.
3. Арчаков А.И. Окисление чужеродных соединений и проблемы токсикологии / А.И. Арчаков, Н.Н. Карузина // Вестник АМН СССР. — 1988. — №1. — С.14–23.
4. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature / D.R. Nelson, Koymans L., T. Kamataki [et al.] // Pharmacogenetics. — 1996. — V.6. — P.1–42.
5. Wrighton S.A. The human CYP3A subfamily: practical considerations / S.A. Wrighton, E.G. Schuetz [et al.] // Drug Metab Rev. — 2000. — V.32. — P.339–361.
6. Li A.P. Substrates of human hepatic cytochrome P450 3A4 / A.P. Li, D.L. Kaminski, A. Rasmussen // Toxicology. — 1995. — V.104. — P.1–8.
7. Guengerich F.P. Cytochrome P450 3A4: regulation and role in drug metabolism / F.P. Guengerich // Annu Rev Pharmacol Toxicol. — 1999. — V.39. — P.1–17.
8. Identification of human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction / G. Bertilson, J. Heidrich, K. Svenson [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. — 1998. — V.95. — P.12208–12213.
9. Coumoul X. PXR-dependent induction of human CYP3A4 gene expression by organochlorine pesticides / X. Coumoul, M. Diry, R. Barouki // Biochem. Pharmacol. — 2002. — Vol.64. — P.1513–1519.



10. SXR, a novel steroid and xenobiotic-sensing nuclear receptor / B.Blumberg, Jr. W.Sabbagh, H.Juguilon [et al.] // *Genes Dev.* – 1998. – V.12. – P.3195–3205.
11. *Giguere V.* Orphan nuclear receptors: from gene to functional. / V.Giguere // *Endocr Rev.* – 1999. – V. 20. – P.689–725.
12. *Staudinger J.L.* The nuclear receptor PXR is a lithoholic acid sensor that protects against liver toxicity / J.L.Staudinger, B.Goodein, S.A.Jones. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2001. – V.98. – P.3369–3374.
13. *Watkins R.E.* The human nuclear xenobiotic receptor PXR: structural determinants of directed promiscuity / R.E.Watkins, G.B.Wisely, L.B. Moore // *Science.* – 2001. – V.292. – P.2329–2333.
14. An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway / S.A.Kliewer, J.T.Moore, L.Wade [et al.] // *Cell.* – 1998. – V.92. – P.73–82.
15. The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions / J.M. Lethmann, D.D. McKee, M.A. Watson [et al.] // *J Clin Invest.* – 1998. – V.102. – P.1016–1023.
16. *Ивашкин В.Т.* Ядерные рецепторы и патология печени / В.Т. Ивашкин // *РЖГГК.* – 2010. – Т.20, – №4. – С.7–15
17. Expression of androgen receptor coregulators in prostate cancer / M.J.Linja, K.P.Porkka, Z.Kang [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – V.3, N 10. – P.1032–1040.
18. Binding of type II nuclear receptors and estrogen receptor to full and half-site estrogen response elements in vitro / C.M.Klinge, D.L.Bodenner, D.Desai [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 1997. – V. 10, N 25. – P. 1903–1912.
19. *Seol W.* Isolation of proteins that interact specifically with the retinoid X receptor: two novel orphan receptors/W.Seol, H.S.Choi, D.D.Moore//*Mol. Endocrinol.* – 1995. – N 9. – P. 72 – 85.
20. Orphan nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor share xenobiotic and steroid ligands / L.B.Moore, D.J.Parks, S.A.Jones [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000. – V.275. – P.15122–15127.
21. Pregnane X receptor (PXR), constitutive androstane receptor (CAR), and benzoate X receptor (BXR) define three pharmacologically distinct classes of nuclear receptors / L.B. Moore, J.M. Maglich, D.D. McKee [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2002. – V.16. – P.977–986.
22. *Шептулина А.Ф.* Ядерные рецепторы в регуляции транспорта и метаболизма желчных кислот /А.Ф. Шептулина, Е.Н. Широкова, В.Т. Ивашкин //РЖГГК.– 2013. – Т.23. – №.5. – С.32–45.
23. Regulation of absorption and ABCI-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers / J.J.Repa, S.D.Turley, J.A.Lobaccaro [et al.] // *Science.* – 2000. – V.289. – P.1524–1529.
24. Pregnane and xenobiotic receptor (PXR): a promiscuous xenosensor in human health and disease / M.Saradhi, N.Kumar, R.C.Reddy [et al.]// *J.E.R.* – 2006. – V.10, N.1. – P.1–12.
25. *Staudinger J.* Coordinate regulation of xenobiotic and bile acid homeostasis by pregnane X receptor / J.Staudinger, Y.Liu, A.Madan // *Drug Metab. Dispos.*– 2001. – V.29. – P.3369–3374.
26. Pregnane X receptor prevents hepatorenal toxicity from cholesterol metabolites/J.Sonoda, L.W.Chong, M.Downes [et al.]//*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*–2005.–V.102.–P.2198–2203.
27. Rabbit pregnane X receptor is activated by rifampicin / U.Savas, M.R.Wester, K.J.Griffin [et al.]// *Drug Metab. Dispos.* – 2000. – V.28. – P.529–537.
28. Comparative analysis of cytochrome P4503A induction in primary cultures of rat, rabbit and human hepatocytes / T.A.Kocarek, E.G.Schuetz, S.C.Strom [et al.] // *Drug Metab. Dispos.* – 1995. – V.23. – P.415–421.
29. Regulation of human liver cytochromes P–450 in family 3A in primary and continuous culture of human hepatocytes / E.G.Schuetz, J.D.Schuetz, S.C.Strom [et al.] // *Hepatology.* – 1993. – V.18. – P.1254–1262.
30. Metabolism of ciclosporin A. IV. Purification and identification of the rifampicin-inducible human liver cytochrome P–450 (ciclosporin A oxidase) as a product of P450III_A gene subfamily / J. Combalbert, I. Fabre, G. Fabre [et al.] // *Drug Metab Dispos.* – 1989. – V.17. – P.197–207.
31. Rat pregnane X receptor: molecular cloning, tissue distribution, and xenobiotic regulation/H. Zhang, E. LeCulyse, L. Liu [et al.]//*Arch Biochem Biophys.*–1990.–V.1.–P.69–80.
32. The expression of pregnane X receptor and its target gene, cytochrome P450 3A1, in perinatal mouse / H.Masuyama, Y.Hiramatsu, Y.Mizutani [et al.] // *Mol Cell Endocrinol.* – 2001. – V.172. – P.14–22.
33. *Stieger B.* Bile acid and xenobiotic transporters in liver / B.Stieger, P.J.Meier // *Curr Opin Cell Biol.* – 1998. – V.10. – P.462–467.
34. *Schuetz E.G.* Environmental xenobiotics and the antihormones cyproterone acetate and spironolactone use the nuclear hormone pregnenolone X receptor to activate the CYP3A23 hormone response element / E.G.Schuetz, C.Brimer, J.D.Shuetz // *Mol Pharmacol.* – 1998. – V.54. – P.1113–1117.
35. *Wright M.C.* The cytochrome P450 3A4 inducer metyraphone is an activator of the human pregnane X receptor / M.C.Wright // *Biochem Soc Trans.*– 1999. – V.27. – P.387–391.
36. *Drocourt L.* Calcium channel modulators of dihydropyridine family are human pregnane X activators and inducers CYP 3A, CYP 2B and CYP 2C in human hepatocytes / L.Drocourt, J.M.Pascussi // *Drug Metab Dispos.*–2001. – V.29. – P.1325–1331.
37. Peptide mimetic HIV protease inhibitors are ligands for the orphan receptor SXR / I.Dussault, M.Lin, K.Hollister [et al.] // *J Biol Chem.* – 2001. – V.276. – P.33309–33312.
38. *Synold T.W.* The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux / T.W.Synold, I.Dussault, B.M.Forman // *Nat Med.* – 2001. – V.7. – P.584–590.
39. Induction of cytochrome P450 3A4 in primary human hepatocytes and activation of the human pregnane X receptor by tamoxifen and 4-hydratamoxypfen / P.B.Desai, S.C.Nallani, R.S.Sane [et al.]// *Drug Metab Dispos.* – 2002. – V.30. – P.608–612.
40. Endocrine disrupting chemicals, phthalic acid and nonylphenol, activate pregnane X receptor-mediated transcription / H.Masuyama, Y.Hiramatsu, M.Kunitomi [et al.] // *Mol Endocrinol.* – 2000. – V.14. – P.421–428.
41. *Takeshita A.* Bisphenol-A an environmental estrogen, activates the human orphan nuclear receptor, steroid and xenobiotic receptor-mediated transcription / A.Takeshita, N.Koibuchi, J.Oka. // *Eur J Endocrinol.* – 2001. – V.145. – P.513–517.
42. Synergistic activation of human pregnane X receptor by binary cocktails of pharmaceutical and environmental compounds / V.Delfosse, B.Dendele, T.Huet [et al.] // *Nature Commun.* – 2015. – V.6. – P.80–101.
43. The environmental pollutant 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethylene induces rat hepatic cytochrome P450 2B and 3A expression through the constitutive androstane receptor and pregnane X receptor / M.E.Wyde, E.Bartolucci, A.Ueda [et al.] // *Molecul. Pharmacol.* – 2003. – V.64. – P.2474–2481.
44. Identification of clinically used drugs that activate pregnane X receptors / S.J.Shukla, S.Sakamuru, R.Huang [et al.] // *Drug Metabolism &disposition.* – 2011. – V.39, N.1. – P.151–159.
45. *Iyer M.* A PXR reporter gene assay in stable cell culture system: CYP 3A4 and CYP 2B6 induction by pesticides / M.Iyer, E.J.Reschly, M.D.Krasovsky // *Biochem.Pharmacology.* – 2004. – V.68. – P.2347–2358.
46. *Guengerich F.P.* Cytochrome P450 and chemical toxicology / F.P. Guengerich // *Chem. Res. Toxicol.* – 2008. – V.21, N.1. – P.70–83.
47. Mesitov M.V. Molecular logic of the endoplasmic reticulum stress signal pathways: the system of unfold protein response

- / M.V.Mesitov, A.A.Moskovtcev, A.A.Kuvatiev // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* – 2013. – V.4. – P.97–108.
48. Evidence for the presence of a functional pregnane X receptor response element in CYP 3A7 promoter gene / J.M.Pascussi, Y.Jounaidi, L.Drocourt [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1999. – V.260. – P.377–381.
 49. Regulation of the human CYP2B6 gene by the nuclear pregnane X receptor / B.Goodwin, L.B.Moore, C.M.Stoltz [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 2001. – V.60. – P.427–431.
 50. The pregnane X receptor: A promiscuous xenobiotic receptor that has diverged during evolution / S.A.Jones, L.B.Moore, J.L.Shenk [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2000. – V.14, N.1. – P.27–39.
 51. *Kliewer S.A.* The nuclear pregnane X receptor: A key regulator of xenobiotic metabolism / S.A.Kliewer, B.Goodwin, T.M.Wilson // *Endocrine Reviews.* – 2001. – V.5(23). – P.687–702.
 52. *Xue Y.* Crystal structure of the pregnane X receptor – estradiol complex provides insights into endobiotic recognition / Y.Xue, B.Linda, J.O.Moore // *Mol. Endocrinol.* – 2007. – V.5(21). – P.1029–1038.
 53. Endocrine disruptors provoke differential modulatory responses on androgen receptor and pregnane and xenobiotic receptor: potential implications in metabolic disruptors / N.K.Chaturvedi, S.Kumar, S.Negi [et al.] // *Mol. Cell Biochem.* – 2010. – V.345(1–2). – P.291–308.
 54. Identification of new human pregnane X receptor ligands among Pesticides using a stable Reporter Cell System / G.Lemare, W.Mnif, J.M.Pascussi [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2006. – V.91(2). – P.501–509.
 55. PXR and CAR: nuclear receptors which play a pivotal role in drug disposition and chemical toxicity / L.A.Stanley, B.C.Horsburgh, J.Ross [et al.] // *Drug Metab. Rev.* – 2006. – V.38. – P.515–597.
 56. *Willson T.* PXR, CAR and drug metabolism / T.Willson, S.A.Kliewer // *Nat Rev Drug Discov.* – 2002. – V.1. – P.259–266.
 57. *Coumoul X.* PXR-dependent induction of human CYP3A4 gene expression by organochlorine pesticides / X.Coumoul, M.Diry, R.Barouki. // *Biochem. Pharmacol.* – 2002. – V.64. – P.1513–1519.
 58. CYP superfamily perturbation by diflubenzuron or acephate in different tissue of CD1 mice / A.Sapone, L.Pozzetti, D.Canistro [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2005. – V.43. – P.173–183.
 59. *Hurley P.M.* Mode of cancerogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodent / P.M.Hurley // *Environ. Health Perspect.* – 1998. – V.106. – P.437–445.
 60. *Paolini M.* Molecular non-genetic biomarkers related to Fenarimol cocarcinogenesis: Organ- and sex-specific CYP induction in rat / M.Paolini, R.Mesirca, L.Pozzetti // *Cancer Lett.* – 1996. – V.101. – P.171–178.
 61. *Dalton S.R.* The herbicide metolachlor induces liver cytochrome P450s 2B1/2 and 3A1/2, but not thyroxine-uridine dinucleotide phosphate glucuronosyltransferase and associated thyroid gland activity / S.R.Dalton, R.T.Miller, S.A.Meyer // *Int. J. Toxicol.* – 2003. – V.22. – P.287–295.
 62. Induction of cytochrome P450 2B1 by perethroids in primary rat hepatocyte cultures / A.F.Heber, K.I.Hirsh-Ernst, D.Bauer [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 2001. – V.62. – P.71–79.
 63. *Sun G.* Propiconazole-inducer cytochrome P450 gene expression and enzymatic activities in rat and mouse liver / G.Sun, S.Thai, D.B.Tully // *Toxicol. Lett.* – 2005. – V.155. – P.277–287.
 64. Orphan nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor share xenobiotic and steroid ligands / L.B.Moore, D.J.Parks, S.A.Jones [et al.] // *J Biol Chem.* – 2000. – V.275. – P.15122–15127.
 65. *Kodama S.* Nuclear receptors CAR and PXR cross-talk with FOXO1 to regulate genes that encode drug-metabolizing and gluconeogenic enzymes / S.Kodama, C.Koike, M.Negishi // *Mol Cell Biol.* – 2004. – V.24. – P.7931–7940.
 66. Control of steroid, heme, and carcinogen metabolism by nuclear pregnane X receptor and constitutive androstane receptor / W.Xie., M.F.Yeuh, A.Radominska-Pandya [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2003. – V.100. – P.4150–4155.
 67. Expression of CYP3A4, CYP2B6, and CYP2C9 is regulated by the vitamin D receptor pathway in primary human hepatocytes / L.Drocourt, J. C.Ourlin, J. M.Pascussi [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2002. – V.277. – P. 25125–25132.
 68. Handschin C. Introduction of drug metabolism: the role of nuclear receptors / C.Handschin, U. Meyer // *Pharmacol Rev.* – 2003. – V.55. – P.649–673.
 69. Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor / M.Makishima, T.TLU, W.XIE [et al.] // *Science.* – 2002. – V.296(5571). – P.1313–1316.
 70. Identification of an alternative ligand-binding pocket in the nuclear vitamin D receptor and its functional importance in 1 α ,25(OH) $_2$ -vitamin D $_3$ signaling / M.T.Mizwicki, D.Keidel, C.M.BULA [et al.] // *Proc Nat Acad Sci USA.* – 2004. – V.101(35). – P.12876–12881.
 71. Possible involvement of pregnane X receptor-enhanced CYP24 reversion in drug-induced osteomalacia. First report indicating the of PXR in vitamin D homeostasis via the regulation of CYP24 / J.M.Pascussi, A.Robert, M.Nguyen [et al.] // *J Clin Invest.* – 2005. – V.115. – P.177–186.
 72. *Shulman A.I.* Retinoid X receptor heterodimers in the metabolic syndrome / A.I.Shulman, D.J.Mangelsdorf // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – V.353. – P.604–615.
 73. *Lamba J.* Genetic variants of PXR (NR1H2) and CAR (NR1H3) and their implications in drug metabolism and pharmacogenetics / J.Lamba, V.Lamba, E.Schuetz // *Curr Drug Metab.* – 2005. – V.6(4). – P.369–383.
 74. Hepatocyte-specific mutation establishes retinoid X receptor alpha as a heterodimeric integrator of multiple physiological processes in the liver / Y.J.Wan, D.An, Y. Cai [et al.] // *Mol. Cell Biol.* – 2000. – V.20. – P.4436–4444.
 75. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor ameliorate cholestatic liver injury / C.A.Stedman, C.Liddle, S.A.Coulter [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – V.102. – P.2063–2068.
 76. The constitutive androstane receptor and pregnane X receptor function coordinately to prevent bile acid-induced hepatotoxicity / J.Zhang, W.Huang, M.Qatanani [et al.] // *J Biol Chem.* – 2004. – V.279. – P.49517–49522.
 77. Pregnane X receptor prevents hepatorenal toxicity from cholesterol metabolites / J.Sonoda, L.W.Chong, M.Downes [et al.] // *Proc Nat Acad Sci USA.* – 2005. – V.102(6). – P.2198–2203.
 78. Hepatic fatty acid transporter Cd36 is a common target of LXR, PXR, and PPAR γ in promoting steatosis / J.Zhou, M.Febbraio, T.Wada [et al.] // *Gastroenterology.* – 2008. – V.134. – P.556–567.
 79. Nuclear pregnane X receptor cross-talk with FoxA2 to mediate drug-induced regulation of lipid metabolism in fasting mouse liver / K.Nakamura, R.Moore, M.Negishi [et al.] // *J Biol Chem.* – 2007. – V.282. – P.9768–9776.
 80. *Dai G.* Pregnane X receptor is essential for normal progression of liver regeneration / G.Dai, L.He, P.Bu, Y.J.Wan // *Hepatology.* – 2008. – V.47. – P.1277–1287.
 81. *Grun F.* Perturbed nuclear receptor signaling by environmental obesogens as emerging factors in the obesity crisis / F.Grun, B.Blumberg // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* – 2007. – V.8. – P.161–171.
 82. *Klaassen C.D.* Regulation of hepatic transporters by xenobiotic receptors / C.D.Klaassen, A.L.Slitt // *Curr Drug Metab.* – 2005. – V.6. – P.309–328.
 83. The pregnane X receptor locus is associated with susceptibility to inflammatory bowel disease / M.M.Dring, C.A.Goulding, V.I.Trimble [et al.] // *Gastroenterology.* – 2006. – V.130. – P.341–348.
 84. Loss of detoxification in inflammatory bowel disease: dysregulation of pregnane X receptor target genes. First indicating the association between PXR and inflammatory bowel diseases /

- T.Langmann, C.Moehle, R.Mauerer [et al.] // *Gastosterology* – 2004. – V.127. – P.26–40.
85. Чиркова О.В. Белки теплового шока: физиологическая роль, методики определения и клиническое значение / О.В.Чиркова // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2006. – Т.ХІІІ, N3. – С.45–48.
86. Orans J. The nuclear xenobiotic receptor Pregnane X Receptor: recent insights and new challenges / J. Orans, D.J. Teotico, M.R. Redinbo // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – V.19. – P.2891–2900.
87. Rathold V. Human pregnane X receptor: a novel target for anti-cancer drug development / V.Rathold, S.Jain // *Drug Discov Today*. – 2014. – V.19. – P.63–70.
88. Hans J. Calcium channel blockers and the risk of cancer: A pre-clinical assessment / J.Hans, B.Ernst, E.Holland // *Cardiovascular Drugs and Therapy*. – 1998. – V.12. – Is.2. – P.157–169.

ЯДЕРНІ РЕЦЕПТОРИ - КЛЮЧОВІ РЕГУЛЯТОРИ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ

Частина I. ПРЕГНАНОВИЙ І АНДРОСТАНОВИЙ РЕЦЕПТОРИ В ПРОЦЕСІ МЕТАБОЛІЗМУ ТА ЕЛІМІНАЦІЇ ПЕСТИЦИДІВ ТА ІНШИХ КСЕНОБІОТИКІВ

Г.М.Балан, Н.М.Бубало, І.В.Лепешкін, В.О.Бубало

ДП "Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя МОЗ України", м.Київ.

РЕЗЮМЕ. За останні роки накопичено інформацію про структуру та функції ядерних рецепторів, активація яких викликає експресію генів, що регулюють індукцію білків сімейства цитохрому P450, які забезпечують I фазу біотрансформації – окислювальну модифікацію пестицидів, ліків та інших ксенобіотиків, а також основних ендогенних субстратів (білірубину, ліпідів, жовчних кислот, гормонів, вітамінів, токсинів та ін.) як у фізіологічних умовах, так і за різних захворювань. Ядерні рецептори регулюють II і III фази біотрансформації, активізуючи експресію генів, що контролюють синтез ферментів реакції кон'югації та білків-транспортерів, що забезпечують елімінацію сторонніх сполук. Ключовими регуляторами метаболізму і транспорту ксенобіотиків та ендогенних сполук є прегнановий X рецептор (PXR) і конститутивний андростановий рецептор (CAR). Кооперативні взаємодії PXR, CAR та інших ядерних рецепторів, а також білків-шаперонів, коактиваторів і корепресорів модулюють експресію генів, що беруть участь у біотрансформації. Оцінка і моделювання функції ядерних рецепторів знайде широке застосування в експериментальній і клінічній токсикології.

Ключові слова: ядерний прегнановий і андростановий рецептори, біотрансформація та елімінація ксенобіотиків.

THE NUCLEAR RECEPTORS - A KEY REGULATORS OF BIOTRANSFORMATION OF XENOBIOTICS

Part I. PREGNANE AND ANDROSTANE RECEPTORS IN THE METABOLISM AND ELIMINATION OF PROCESSES PESTICIDES AND OTHER XENOBIOTICS

G. Balan, N. Bubalo, I. Lepeshkin, V. Bubalo

State Enterprise "L.I.Medved's Research Centre of preventive toxicology, food and chemical safety Ministry of Health Ukraine", Kiev.

SUMMARY. In recent years, the accumulated information about the structure and function of nuclear receptors, whose activation induces expression of genes that regulate the induction family proteins cytochrome P450, providing phase I biotransformation - oxidative modification of pesticides, drugs and other xenobiotics, as well as the main endogenous substrates (bilirubin, lipids, bile acids, hormones, vitamins, toxins, etc.), both in physiological conditions and at various diseases. Nuclear receptors regulate II and III biotransformation phase, activating the expression of genes that control the synthesis of enzymes and conjugation reaction transporter proteins, providing elimination of foreign compounds. The key regulators of metabolism and transport of xenobiotics and endogenous compounds are pregnane X receptor (PXR) and constitutive androstane receptor (CAR). Cooperative interaction PXR, CAR and other nuclear receptors, and chaperone proteins, co-activators and corepressors modulate the expression of genes involved in the biotransformation. Evaluation and simulation function of nuclear receptors will be widely used in experimental and clinical toxicology.

Key words: nuclear receptors pregnane and androstane, biotransformation and elimination of xenobiotics.

Надійшла до редакції 18.12.2015 р.