



Модулирование действия ядерных рецепторов и регуляция биотрансформации лекарств

С.Н.Ларина, Н.В.Чебышев, Е.В.Ших, В.Н.Каркищенко

ММА им. И.М.Сеченова, Москва

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

Ядерные рецепторы являются транскрипционными факторами, которые играют важную роль в ходе эмбрионального развития, поддержании дифференцировки клеток, метаболизме. Лиганд-регулируемый ядерный PXR рецептор, взаимодействует с разнообразными химическими лигандами и лекарственными препаратами и регулирует экспрессию генов, которые участвуют в метаболизме ксенобиотиков и лекарств. Строение этого рецептора обеспечивает связывание с широким спектром лигандов, которые могут действовать как агонисты или антагонисты. Изучение модуляции действия ядерных рецепторов важно для разработки лекарственных препаратов, регулирующих метаболизм, а также при изучении взаимодействия лекарств.

Ключевые слова: ядерные рецепторы, PXR рецептор, биотрансформация ксенобиотиков, CYP3A4 цитохром.

Ядерные рецепторы являются транскрипционными факторами, которые играют важную роль в ходе эмбрионального развития, поддержании дифференцировки клеток, метаболизме и клеточной гибели. Нарушение сигнальной функции ядерных рецепторов ведет к болезням обмена веществ, таким как рак, бесплодие, ожирение, диабет, нарушениям пролиферации клеток. Гены ядерных рецепторов включают лиганд-зависимые и лиганд-независимые транскрипционные факторы. Фармацевтические препараты-агонисты или антагонисты ядерных рецепторов, такие как тамоксифен для эстрогенового рецептора, (используемый в лечении рака молочной железы), тиазолидиндионы для рецептора PPAR- γ (при лечении диабета типа 2) или дексаметазон для глюкокортикоидного рецеп-

тора (при лечении воспалительных заболеваний) являются одними из наиболее часто используемых лекарств. Ряд ядерных рецепторов регулируют экспрессию генов биотрансформации ксенобиотиков и лекарств.

Структура ядерных рецепторов включает N-концевой активируемый домен и консервативные ДНК-связывающие и лиганд-связывающие домены. Ядерные рецепторы, выполняющие ключевую роль в регуляции биотрансформации ксенобиотиков, функционируют как лиганд-зависимые транскрипционные факторы. После активации лигандом происходит связывание со специфическими последовательностями ДНК; т.н. распознаваемыми элементами внутри регуляторной области промоторов соответствующих генов-мишеней. Каждый

такой элемент состоит из последовательности (AGGTCA). Эта последовательность может присутствовать в виде одного элемента или двух tandemных повторов в разных направлениях (прямом, инвертированном или развернутом). Эти последовательности обеспечивают связывание ядерных рецепторов в виде мономеров, гомодимеров или гетеродимеров. Ряд ядерных рецепторов, в том числе и PXR, образует гетеродимеры, которые могут связываться с распознаваемыми участками ДНК и активировать экспрессию генов-мишеней [28]. Лиганд-связывающие домены имеют структуру, состоящую из 12 альфа-спиралей с центральным гидрофобным карманом, который непосредственно связывается с рядом гормонов, липидов, синтетических лигандов. Структура многих ядерных рецепторов при связывании с агонистами принимает чрезвычайно сходную активную конформацию в различных ядерных рецепторах [4]. Ядерные рецепторы активируют или подавляют экспрессию генов-мишеней через лиганд-зависимые взаимодействия с дополнительными белками, известными как коактиваторы и корепрессоры. Эти кофакторы образуют комплексы из многих субъединиц, которые локально модифицируют структуру хроматина и собирают транскрипционный механизм на промоторах генов [6]. Коактиваторы и корепрессоры распознают изменение конформации AF2 рецепторного участка ядерных рецепторов при связывании с лигандом. В ходе многочисленных исследований была выявлена центральная роль ядерных рецепторов, в качестве сенсоров различных липидов образуемых в организме и ксенобиотиков. Действие рецепторов может моделироваться с использованием

соответствующих лекарственных препаратов, которые являются лигандами агонистами или антагонистами.

Примеры модулирования действий ядерных рецепторов с помощью лекарств

Тамоксифен стал первым селективным модулятором эстрогенового рецептора, который был разработан и использован для клинического применения при лечении рака груди [8]. Он проявляет себя как агонист или антагонист в зависимости от транскрипционных факторов, которые присоединяются к промотору и от строения распознаваемого ДНК-элемента в промоторе эстрогенового рецептора и состава клетки. Ралоксифен является другим классическим модулятором, который имел положительный защитный эффект в отношении костных тканей и антипролиферативное действие в отношении клеток опухоли молочной железы. Действие тамоксифена как агониста определяется через связывание рецептора с промотором, который не содержит классического ДНК-элемента эстрогеновых рецепторов. В ответ на лиганды изоформы эстрогеновых рецепторов ER- α и ER- β могут регулировать транскрипцию генов, связываясь со специфическими ERE элементами в промоторах генов-мишеней, либо путем связывания с другими транскрипционными факторами, действуя на определенные участки белков активаторов (AP-1) и (SP1) [5]. Связывание эстрогенового рецептора с соответствующим элементом ERE является, по-видимому, путем, через который эстрадиол модулирует транскрипцию гена, включает клеточную дифференцировку. Взаимодействие эстрогенового рецептора с AP1

и SP1 участками белка-активатора, возможно, влияет на клеточную пролиферацию. Можно предположить, что эстрадиол опосредует дифференцировку и пролиферацию различными путями. При разработке селективных лигандов, целью является не только достижение селективности в отношении ER α и ER β , но также селективности для взаимодействия с ERE элементами (эстрадиол-индуцируемая дифференцировка) в противоположность взаимодействию с AP1 участкам (эстрадиол-индуцируемая пролиферация). Эта схема, тем не менее, еще требует окончательного подтверждения.

Эффект комплекса тамоксифен-ER α противоположен эффекту комплекса тамоксифен-ER β [18]. Если комплекс ER α ингибирует пролиферацию, то ER β комплекс усиливает ее. В таком случае присутствие ER β в клетках рака груди может значительно подавлять антипролиферативные эффекты тамоксифена. Транскрипционная активация опосредованная ER основана на подборе нескольких коактиваторов и ацетилировании гистонов. Эстрогеновые рецепторы ER связанные с антагонистом, взаимодействуют с корепрессорами такими как NCoR1, NCoR2, набором HDAC [26]. В клетках млекопитающих как тамоксифен, так и ралоксифен индуцируют подбор корепрессоров на промоторах генов-мишеней, однако, в клетках эндометрия тамоксифен, но не ралоксифен действует подобно эстрадиолу, т.е. подбирает коактиваторы на некоторых генах. Эстрадиол подобная активность тамоксифена в матке требует высокого уровня экспрессии коактиватора ядерного рецептора (N Co A1, также известного, как коактиватор стероидного рецептора 1 (SRC1) [27]. При связывании рецептора с лигандом происходят

определенные изменения конформации, которые препятствуют связыванию с коактиватором или способствуют взаимодействию с корепрессором.

Концепцию селективных модуляторов эстрогенового рецептора, по-видимому, можно обобщить в отношении других ядерных рецепторов. Возможно, для других членов суперсемейства ядерных рецепторов существуют лиганды, которые не являются только антагонистами, но также имеют ткане-селективное фармакологическое действие (агонисты в одних тканях, антагонисты в других и смешанного действия в третьих). В случае эстрогенового рецептора, было показано противоположное действие тамоксифена в тканях грудных желез (антагонист) и матки (агонист). Действие тамоксифена зависело от условий взаимодействия между ER α и специфическим ко-активатором SRC1, который присутствует в не значительно большем уровне в клетках матки, чем в клетках молочных желез [27].

Особое место в фармакологии ядерных рецепторов занимают так называемые «орфановые» рецепторы. «Орфановые» рецепторы определялись как рецепторы, не имеющие эндогенных лигандов. Они модулируют действие других ядерных рецепторов и, следовательно, могут изменять их фармакологическую активность. Эти рецепторы способны связываться с ксенобиотиками или эндогенными лигандами.

В некоторых случаях были найдены специфические лиганды для орфановых рецепторов. Первыми клонированными рецепторами (например, ER, GR и TR) являются рецепторы для гидрофобных гормонов, которые связываются с высокой аффинностью и специфичностью.

Большинство орфановых рецепторов, для которых были найдены лиганды (например, PXR, PPAR, CAR и т.д.) связываются с этими молекулами с низкой аффинностью и широкой специфичностью. Для того чтобы различать их с классическими высоко-аффинными и специфичными рецепторами такими, как рецепторы стероидных и тиреоидных гормонов, эти рецепторы называют (рассматривают как) сенсоры, т.к. их функция заключается в регуляции определенного физиологического состояния организма (например, количества жирных кислот или холестерина) и тонкой регуляции гомеостаза [5]. Изучение свойств ядерного рецептора PXR и подбор соответствующих лигандов позволит регулировать процессы метаболизма ксенобиотиков и взаимодействия лекарств.

Роль PXR в биотрансформации ксенобиотиков и регуляция его активности

Ядерный прегнан X рецептор (PXR; NR1I2, также известный как SXR и PAR [10]) является членом семейства ядерных рецепторов – лиганд-зависимых факторов транскрипции и ключевым регулятором генов, вовлеченных в метаболизм ксенобиотиков и эндобиотиков. Считалось, что PXR выполняет функцию выявления эндогенных прегнанов [9], но в последствии его стали рассматривать как центральный рецептор ксенобиотиков, отвечающий на многие лекарственные вещества. PXR функционирует как гетеродимер с ретиновым X рецептором α (RXR α) и связывается с различными распознаваемыми элементами (прямыми повторами DR-3, DR-4, DR-5 и развернутыми наружу повторами ER-6, ER-8) в промоторных областях генов-мишеней. Его умеренная

основная активность и повышение регуляции транскрипции опосредуется подбором коактиваторов семейства p160, например, коактиватор стероидного рецептора (SRC). Подавление генной экспрессии включает физический контакт с корепрессорами транскрипции.

PXR рецептор экспрессируется преимущественно в печени и активируется разнообразными лигандами, которые способны индуцировать экспрессию генов CYP450, играющих ключевую роль в метаболизме лекарств [22]. К соединениям, индуцирующим CYP450 относятся фенobarбитал, рифампицин, дексаметазон, нифедипин, таксол, гиперфорин и другие. PXR регулирует активность генов I фазы метаболизма лекарств (CYP3A4, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9), карбоксиэстеразы, дегидрогеназы, а также ферментов, участвующих в образовании гема [22]. PXR является главным регулятором экспрессии CYP3A4, который метаболизирует более 50% лекарств. PXR также контролирует экспрессию генов фазы II метаболизма, кодирующих UDP-глюкуронозилтрансферазы и глутатион-S-трансферазы, а также белки III фазы выведения, такие как белок множественной устойчивости 1 к лекарствам и белок множественной устойчивости 2. Таким образом, PXR является важным и эффективным регулятором экспрессии генов участвующих во всех фазах метаболизма и экспрессии лекарств [1, 3, 12, 14].

PXR также активируется различными эндогенными лигандами, включая прегнаны, желчные кислоты, гормоны и витамины [9]. В ответ на желчные кислоты и окистеролы PXR регулирует экспрессию генов, участвующих в метаболизме и транспорте желчных кислот, включая CYP7A, Oatp2 и 3-гидрокси-3-

метилглутарилкофермент-А синтетазы. Эти данные и последующие исследования на животных моделях с холестатической болезнью печени установили, что PXR играет решающую роль в гомеостазе холестерина и защищает ткани от потенциально токсических эндобиотиков [30].

Подобно большинству членов суперсемейств ядерных рецепторов PXR содержит ДНК-связывающий участок (DBD) связанный через гибкий «шарнирный» участок с лиганд-связывающим доменом (LBD), который содержит область с функцией лиганд-зависимой активации (AF-2). ДНК-связывающие участки проявляют высокую консервативность у различных видов животных, более чем 90% сходства внутри DBD. Однако в отличие от большинства других ядерных рецепторов лиганд-связывающие участки LBD PXR различных видов значительно различаются. Например, изоформы PXR млекопитающих имеют менее 80% сходства последовательностей внутри LBD. Профиль активации PXR различными лигандами соответствует активации цитохромов CYP3A. При этом, чем ближе структурное сходство PXR разных видов, тем более сходен профиль активации различными лигандами рецепторов PXR и соответствующих цитохромов. Хотя каждый из этих PXR является «неразборчивым» в связывании с лигандами (отвечая на соединения различные по размеру, форме, химическому составу), PXR определенного вида животных является относительно специфическим [33].

Взаимодействие с другими ядерными рецепторами

Функциональная активность PXR перекрывается с активностью CAR (конститу-

тивный андростановый рецептор) по связыванию с лигандами и активацией генов. PXR является центральным регулятором генов CYP3A [9], тогда как CAR взаимодействует с ДНК-элементами, расположенными на генах CYP2B [7]. В 2000 г. Moore с соавторами [20] показали, что оба рецептора могут быть активированы некоторыми одинаковыми ксенобиотиками и эндобиотиками, включая рифампицин и фенобарбитал. Затем было показано, что CAR и PXR имеют общие ДНК-связывающие участки, PXR может активировать экспрессию CYP2B генов, используя те же регуляторные элементы, что и CAR, и наоборот CAR, может регулировать CYP3A гены [34]. Таким образом, PXR и CAR работают согласованно, связываясь с одинаковыми лигандами и регуляторными элементами. Недавние исследования показали, что PXR, CAR и функционируют совместно, регулируя экспрессию различных генов – мишеней, играющих центральную роль в метаболизме лекарств и глюконеогенезе [11, 13, 16, 29].

PXR может также индуцировать недостаточность витамина D, метаболизма Ca и заболевания костей благодаря способности взаимодействовать с ДНК-элементами, которые связываются с рецептором витамина D. Рецептор витамина D (VDR) также является членом суперсемейства ядерных рецепторов. Связываясь с соответствующими распознаваемыми ДНК-элементами, он регулирует экспрессию генов-мишеней, которая приводит к различным физиологическим эффектам, включая метаболизм кальция, костный метаболизм, рост клеток, образование ренина и инсулина. В условиях избытка витамина D рецептор VDR индуцирует его разрушение, усиливая экспрессию соответствующе-

го цитохрома CYP24 [24]. Длительное использование противозепилептических препаратов и ряда лекарств, таких как, рифампицин, карбамазепин, глюкокортикоидов и противовирусных препаратов приводит к нарушению костной минерализации. Общим свойством этих препаратов является способность индуцировать цитохромы печени, связываясь с PXR как лиганды. PXR имеет 60% гомологии в аминокислотной последовательности ДНК-связывающего участка с ДНК-связывающим участком рецептора витамина D – VDR. Это позволяет PXR рецептору связываться с соответствующими генами-мишенями VDR, в том числе и CYP24, что приводит к разрушению витамина D. Кроме того, было показано, что лиганд-связывающие домены VDR и PXR имеют 37% идентичности и литохолевая кислота и ее производные являются активаторами как VDR так и PXR. Таким образом, активаторы PXR влияют на экспрессию CYP24, контролируемую VDR. Длительное применение ряда препаратов-лигандов PXR могут усиливать разрушение витамина D, приводя к его недостаточности и нарушению метаболизма в костной ткани.

Связывание с лигандами определяет структура PXR

PXR у различных видов связываются с широким спектром эндогенных и экзогенных лигандов, различающихся по химическому строению. PXR активируется путем непосредственного связывания лигандов внутри лиганд-связывающей полости в рецепторе [10]. Агонисты PXR включают природные и синтетические стероиды, такие как 5β -прегнан-3,20 дион и эстрадиол и ксенобиотики, по-

добные холестерол понижающему препарату ловастатину и SR12813 [17], и противораковым лекарствам тамоксифену и таксолу, антибиотику рифампицину, и активному компоненту экстракта зверобоя – гиперфорину. Эти лиганды широко варьируют по форме, химическим свойствам и имеют массу от 250 до более 800 Da [22]. Ядерные рецепторы PXR имеют настолько широкий спектр связывания с лигандами, какого нет ни у одного другого ядерного рецептора [10]. Кристаллографическое изучение строения PXR выявило новый участок (вставку) в LBD наряду с большим и вместительным «карманом» для связывания [33]. Эти структуры позволяют объяснить как видоспецифичность, так и широкий спектр связывания рецепторов. В настоящее время определены кристаллические структуры LBD PXR в различных состояниях: не связанном (апо-) состоянии, в комплексе с активирующими лигандами и фрагментами корегуляторов транскрипции. Опубликованные данные включают LBD PXR, связанный с SR 12813, LBD PXR в присутствии и в отсутствие пептида коактиватора SRC-1, в комплексе с гиперфоринном и макролидным антибиотиком рифампицином [22]. Подобно другим ядерным рецепторам лиганд связывающий домен LBD PXR рецептора состоит из 12 α -спиралей, которые укладываются, образуя гидрофобный карман в структуре белка. Однако LBD PXR имеют несколько уникальных характеристик, которые отличают его от других членов суперсемейства ядерных рецепторов. Объем лиганд-связывающего кармана составляет более $1300 \text{ \AA}^3$, что значительно больше, чем лиганд-связывающие карманы других ядерных рецепторов. Большой объем достигается присутствием двух

дополнительных цепочек β -складчатого листа, которых нет у других ядерных рецепторов. Кроме того, LBD PXR имеет уникальную гладкую эллиптическую форму. Сочетание большого объема и гладкой формы, по-видимому, обеспечивает широкую субстратную специфичность PXR [24, 25].

Способность центральных областей LBD PXR изменять конформацию является определяющей для связывания с соединениями различного размера и формы. Недавние данные о строении PXR в комплексе с большим макролидным антибиотиком рифампицином показали важность этого свойства гибкости в связывании рецептора с лигандом. Когда в 2001 г. впервые сообщалось об апоструктуре LBD PXR, было показано, что рецептор-связывающий карман хотя и является большим, все же недостаточно велик для связывания PXR – агониста рифампицина [33]. Последующее изучение структуры комплекса PXR-рифампицин показало, что три области LBD изменяют свою упорядоченность, создавая пространство, необходимое для связывания с агонистом размером 823 Da. Это изменение конформации позволяет расширяться лиганд-связывающему карману от 1280 Å³ по объему при образовании комплекса с SR12813 до более чем 1600 Å³ в комплексах с другими соединениями [22].

Выделяют шесть аминокислотных остатков, которые постоянно вовлечены в связывание с лигандом во всех структурах LBD PXR, которые определены на сегодняшний день: три полярных остатка (Met243, Trp299, Phe420). Направленное (детерминированное) разнообразие в связывании, проявляемое различными видами PXR может быть частично обусловлено изменениями в этих аминокис-

лотных остатках, участвующих в связывании с лигандами. Например, остатки Gln285, His407 и Met243 не сохраняются в PXR мыши. Этот рецептор проявляет меньшую степень разнообразия в связывании и не проявляет или имеет минимальную активность в отношении SR12813, гиперфорина или рифампицина. Подобная тенденция наблюдается в отношении PXR рыбки *Danio rerio*. Анализ аминокислотных последовательностей PXR млекопитающих показывает, что наибольшее сходство обнаруживается между рецепторами человека и макаки-резус (96%). Проявляется консервативность тех же самых шести аминокислотных остатков и оба рецептора взаимодействуют практически с теми же самыми соединениями [21]. Движущей силой в формировании свойств PXR, по-видимому, являются различия в диете разных видов животных и человека. Желчные кислоты служат основными лигандами, обеспечивающими эволюцию PXR в сторону увеличения разнообразия связывания.

Были получены мутантные варианты с точечными мутациями PXR, в которых были заменены различные аминокислоты. Некоторые из этих мутаций приводят к повышению основного уровня активации [22] рецепторов, что приводит к стабилизации связывания с коактиватором и увеличению основной транскрипционной активности. В других случаях структурные изменения в результате мутаций нарушали связывание рецептора с корепрессором или усиливали связь с коактиватором. Напротив, некоторые мутации повышали связывание с корепрессором или снижали связывание с коактиватором, приводя к частичной или полной потере основной (базовой)

активности. Наряду с получением мутантных вариантов PXR, к настоящему времени для PXR человека выявлено 55 аллельных вариантов и три основных варианта, возникающих при альтернативном сплайсинге [24]. Принимая во внимание различные уровни экспрессии всех этих изоформ PXR, а также их различный транскрипционный потенциал можно ожидать огромного разнообразия уровня экспрессии генов-мишеней и соответствующих индивидуальных различий активации генов биотрансформации ксенобиотиков.

Гетеродимеризация с RXR

Подобно многим другим ядерным рецепторам PXR контролирует транскрипцию в качестве гетеродимера с ретиноидным X рецептором RXR α , что так же может служить дополнительным уровнем регуляции. PXR связывается, по меньшей мере, с четырьмя различными элементами ДНК включая как прямые, так и инвертированные повторы. Некоторые другие рецепторы, которые образуют гетеродимеры с RXR α , также используют как прямые DR, так и развернутые (ER – everted repeat) ДНК – элементы. К ним относятся CAR, рецептор витамина D, рецептор тиреоидного гормона [2].

Ретиноидный X рецептор (RXR), который так же является членом суперсемейства ядерных рецепторов, служит общим партнером при образовании гетеродимеров с группой других ядерных рецепторов. Гетеродимеры связываются с ДНК-элементами целевых генов и активируют их экспрессию [19]. Многочисленные исследования последних лет выявили центральную роль этих гетеродимеров как сенсоров различных экзо-

эндогенных липидов. Партнерами RXR рецептора могут служить такие ядерные рецепторы как RAR α , RAR β , RAR γ , VDR-рецептор витамина D, TR α и TR β (рецепторы тиреоидных гормонов), PPAR α , PPAR γ , а также рецепторы ксенобиотиков CAR и PXR. Лекарственные средства, которые взаимодействуют с RXR и его партнерами используются для лечения рака, дерматологических болезней, нарушений эндокринной системы и в лечении метаболического синдрома

Ядерные рецепторы, которые взаимодействуют с RXR, образуя гетеродимеры, могут быть функционально разделены на пермиссивные и непермиссивные. Гетеродимеры образуемые RXR и пермиссивными рецепторами (например, PPAR, LXR, FXR) могут активироваться агонистами, действующими как на RXR так и на рецептор-партнер [28]. Например, RXR-PPAR гетеродимер может активироваться агонистами RXR и PPAR независимо или совместно, вызывая синергическую активацию. Напротив, гетеродимеры RXR, которые содержат непермиссивные партнеры (например, рецептор витамина D и рецептор тиреоидного гормона) могут активироваться только агонистами рецептора-партнера, но не агонистами RXR. Пермиссивные партнеры служат рецепторами для липидов, поступающих с пищей, и могут активировать RXR для установления постоянного уровня экспрессии ферментов метаболизма и транспортеров. Непермиссивные партнеры функционируют, прежде всего, как рецепторы гормонов и могут ингибировать активацию RXR, для того чтобы взять соответствующие целевые гены под строгий гормональный контроль. В этом случае небольшое изменение концентрации гормона су-

щественно изменит уровень экспрессии целевого гена, что необходимо в физиологии эндокринной системы.

Способность агонистов RXR регулировать целевые гены многих пермиссивных партнеров позволяет предположить, что *in vivo* такие соединения могут иметь фармакологическое применение как общие агонисты нескольких важных путей метаболизма [17]. Делеция RXR у мышей в печени приводит к нарушениям путей метаболизма, регулируемых гетеродимерами RXR, что указывает на центральную плеiotропную роль RXR [32].

Лигандом RXR рецептора являются 9-цис ретиновая кислота (селективные лиганды RXR называют «рексиноиды» – *rexinoids*). Возможность моделирования активности RXR гетеродимеров с помощью этих соединений является очень перспективной. Например, действуя на PPAR γ – RXR гетеродимер рексиноиды повышали чувствительность к инсулину на модельных объектах у грызунов при инсулиннезависимом диабете [5]. Исходный рексиноид бексаротен (LGD 1069) давал значительные побочные дефекты, но недавно синтезированные рексиноиды повышали чувствительность к инсулину и имели значительно меньше побочных эффектов

Наряду с ретиноидами, рексиноиды также проявляют противораковую активность. Они могут использоваться либо отдельно, как при лечении кожной Т-клеточной лимфомы [5], и как общие агонисты RAR-RXR комплекса алитретиноин (9-цис ретиновая кислота) для лечения саркомы Капоши. Обсуждается роль ретиноидов и рексиноидов как кандидатов для предупреждения различных видов рака.

Заключение

Ядерный прегнан X рецептор RXR является ключевым рецептором ксенобиотиков, отвечающим на многие лекарственные вещества. Этот лиганд-регулируемый транскрипционный фактор регулирует экспрессию ферментов и белков-транспортёров разных фаз биотрансформации ксенобиотиков. Взаимодействие с лигандами агонистами или антагонистами позволит регулировать экспрессию соответствующих генов-мишеней. Изучение ядерных рецепторов раскрывает молекулярные и физиологические основы для разработки нового класса фармакофоров, и позволяет предвидеть нежелательные вредные эффекты взаимодействия лекарств. Для этой цели используются различные подходы, включая скрининг химических соединений, изучение структуры лиганда и рецептора, исследования путей регуляции активности ядерных рецепторов, создание каталога ядерных рецепторов их экспрессии и функционирования (Nuclear Receptor Signaling Atlas – www.nurse.org).

Литература

1. Barwick J.L., Quattrochi L.C., Mills A.S. *et al.* Trans-species gene transfer for analysis of glucocorticoid-inducible transcriptional activation of transiently expressed human CYP3A4 and rabbit CYP3A6 in primary cultures of adult rat and rabbit hepatocytes // *Mol. Pharmacol.*, 50:10-16, 1996.
2. Drocourt L., Ourlin J.C., Pascussi J.M. *et al.* Expression of CYP3A4, CYP2B6, and CYP2C9 is regulated by the vitamin D receptor pathway in primary human hepatocytes // *J. Biol Chem.*, 277:25125-25132, 2002.
3. Glass C.K. Differential recognition of target genes by nuclear receptor

monomers, dimers, and heterodimers // *Endocrinol. Rev.*, 15: 391, 407, 1994.

4. Greschic H., Moras D. Structure – activity relationship of nuclear receptor – ligand interactions // *Curr. Top. Med. Chem.*, 3:1573-1599, 2003.

5. Gronemeyer H., Gustaffson J. A., Laudet V. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily // *Nature Rev. Drug Discovery*, 3: 950-964, 2004.

6. Hermanson O., Glass C.K., Rosenfeld M.G. Nuclear receptor coregulators: multiple modes of modification // *Trends Endocrinol Metab.*, 13:55-60, 2002.

7. Honkakoski P., Negishi M. Characterization of a Phenobarbital-responsive enhancer module in mouse P450 Cyp2b10 gene // *J. Biol. Chem.*, 272:14943-14949, 1997.

8. Jordan V.C. Antioestrogens and selective oestrogen receptor modulators as multifunctional medicines. Clinical considerations and new agents // *J. Med. Chem.*, 46 1081-1111, 2003.

9. Kliewer S.A., Moore J.T., Wade L. et al. An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway // *Cell* 92:73-82, 1998.

10. Kliewer S.A., Goodwin B., Wilson T.M. The nuclear pregnane X receptor: a key regulator of xenobiotic metabolism // *Endocr. Rev.*, 23:687-702, 2002.

11. Kliewer S.A. The nuclear pregnane receptor regulates xenobiotic detoxification // *J. Nutr.* 133: 2444-2447, 2003.

12. Kocarek T.A., Schuetz E.G., Guzelian P.S. Differentiated induction of cytochrome P450b/e and P450p mRNAs by dose of Phenobarbital in primary cultures of adult rat hepatocytes // *Mol. Pharmacol.*, 38:440-444, 1990.

13. Kodama S., Koike C., Negishi M., Yamamoto Y. Nuclear receptors Car and PXR cross talk with FOXO1 to regulate

genes that encode drug-metabolizing and gluconeogenic enzymes // *Mol. Cell Biol.*, 24:7931-7940, 2004.

14. Kushner P.J. et. Al. Estrogen receptor pathways to AP-1 // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 74, 311-317, 2000.

15. Krasowski M.D., Yasuda K., Hagey L.R. et al. Evolution of the pregnane X receptor: adaptation to cross – species differences in biliary bile salts // *Mol. Endocrinol.*, 19 : 1720-1739, 2005.

16. Lee C.H., Olson P., Evans R.M. Lipid Metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors // *Endocrinology*, 144, 2201-2207, 2003.

17. Lehmann J.M., McKee D.D., Watson M.A. et al. The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions // *J. Clin. Invest.*, 102:1016-1023, 1998.

18. Liu M.M. et. al. Opposing action of estrogen receptors α and β on cyclin D1 gene expression // *J. Biol. Chem.*, 277, 24353-24360, 2000.

19. Mangelsdorf D.G., Evans R.M. The RXR heterodimers and orphan receptors // *Cell*, 83:841-850, 1995.

20. Moore L.B., Parks D.J., Jones S.A. et al. Orphan nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor share xenobiotic and steroid ligands // *J. Biol. Chem.*, 275:15122-15127, 2000.

21. Moore L.B., Maglich J.M., McKee D.D. et al. Pregnane X receptor (PXR), constitutive androstane receptor (CAR), and benzoate X receptor (BXR) define three pharmacologically distinct classes of nuclear receptors // *Mol. Endocrinol.*, 16:977-986, 2002.

22. Orans J., Teotico D.J., Redinbo M.R. The nuclear xenobiotic receptor Pregnane X Receptor: recent insights and

new challenges // *Mol. Endocrinol.*, 19: 2891-2900, 2005.

23. Repa J.J., Turley S.D., Lobaccaro J.A., et al. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers // *Science*, 289:1524-1529, 2000.

24. Saradhi M., Kumar N., Reddy R.C., Tyagi R.K. Pregnane and xenobiotic receptor (PXR): a promiscuous xenosensor in human health and disease // *J.E.R.*, 10 (1): 1-12, 2006.

25. Savas U., Wester M.R., Griffin K.J., Johnson E.F. Rabbit pregnane X receptor is activated by rifampicin // *Drug Metab. Dispos.*, 28:529-537, 2000.

26. Shang Y., Hu X., Di Renzo J. et al. Cofactor dynamics and sufficiency in estrogen receptor-regulated transcription // *Cell*, 103, 843-852, 2000.

27. Shang Y., Brown, M. Molecular determinants for the tissue specificity of SERMs // *Science*, 295, 2465-2468, 2002.

28. Shulman A.I., Mangelsdorf D.J. Retinoid X receptor heterodimers in the metabolic syndrome // *N. Engl. J. Med.*, 353:604-615, 2005.

29. Staudinger J., Liu Y., Madan A. et al.

Coordinate regulation of xenobiotic and bile acid homeostasis by pregnane X receptor // *Drug Metab. Dispos.*, 29:3369-3374, 2001.

30. Sonoda J., Chong L.W., Downes M. et al. Pregnane X receptor prevents hepatorenal toxicity from cholesterol metabolites // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102:2198-2203, 2005.

31. Synold T.W., Dussault I., Forman B.M. The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux // *Nat. Med.*, 7:584-590, 2001.

32. Wan Y.J., An D., Cai Y. et al. Hepatocyte-specific mutation establishes retinoid X receptor alpha as a heterodimeric integrator of multiple physiological processes in the liver // *Mol. Cell Biol.*, 20:4436-44, 2000.

33. Watkins R.E., Wisely G.B., Moore L.B. et al. The human nuclear xenobiotic receptor PXR: structural determinants of directed promiscuity // *Science*, 292:2329-2333, 2001.

34. Xie W., Barwick J.L., Simon C.M. et al. Reciprocal activation of xenobiotic response genes by nuclear receptors SXR/PXR and CAR // *Genes Dev.*, 14:3014-3023, 2000.

MODELING OF NUCLEAR RECEPTORS ACTIONS AND DRUG INTERACTION BIOTRANSFORMATION

S.N.Larina, N.V.Tchebyshev, E.V.Shikh, V.N.Karkischenko

Moscow Sechenov Medical Academy,

Research Centre for Biomedical Technologies RAMS, Moscow

Nuclear receptors are transcription factors that are essential in embryonic development, cellular differentiation, metabolism. Ligand-regulated nuclear PXR receptor responds to diverse array of chemically distinct ligands, xenobiotics, clinical drugs and regulates the expression of genes involved in xenobiotic and drug metabolism. The structural basis of this receptor allows to interact to variety of ligands which are agonists or antagonists. Nuclear receptors researches are important to metabolism regulating drug development and drug interaction studying.

Key words: nuclear receptors, PXR receptor, xenobiotic biotransformation, CYP3A4 cytochrome.