

DANUTA PALUT, GRAŻYNA KOSTKA, PAWEŁ STRUCIŃSKI

ROLA RECEPTORÓW JĄDROWYCH W INDUKCJI FORM  
MOLEKULARNYCH CYTOCHROMU P-450 POD WPŁYWEM SUBSTANCJI  
OBCYCH

THE ROLE OF NUCLEAR RECEPTORS IN CYTOCHROME P-450 INDUCTION  
BY XENOCEMICALS

Zakład Toksykologii Środowiskowej  
Państwowy Zakład Higieny  
00–791 Warszawa, ul. Chocimska 24  
Kierownik: prof. dr hab. J.K. Ludwicki

*Omówiono mechanizmy leżące u podstaw indukcji podrodziny CYP2B, 3A i 4A oraz udział w tych procesach heterodimerycznych receptorów jądrowych.*

Artykuł przedstawia krótkie podsumowanie ostatnich osiągnięć w dziedzinie mechanizmów molekularnych indukcji cytochromów P-450 pod wpływem endogennych substratów a zwłaszcza pod wpływem substancji obcych. Podstawą w wyjaśnieniu mechanizmów indukcji rodziny 2, 3 i 4 cytochromu P-450 było zidentyfikowanie grupy receptorów jądrowych (NRs) do niedawna noszących nazwę „sierocych” (*orphan receptors*). Nazwa ta nie jest już obecnie w pełni uzasadniona, ponieważ zidentyfikowano większość endogennych ligandów tych receptorów.

W artykule zastosowano ogólnie przyjęte nazewnictwo cytochromu. Nazwa cytochromu zaczyna się od CYP (skrót pochodzący od cytochromu), po nim następuje numer rodziny, następnie dużą literą oznaczone są podrodziny i na końcu liczba oznacza określony enzym. Nazwy odpowiednich genów pisane są kursywą [35, 37].

CYP [E.C.1.14.14] stanowi końcową oksydazę układu enzymatycznego uczestniczącego w metabolizmie dziesiątek tysięcy ksenobiotyków, czyli substancji organicznych, które w postaci leków, pestycydów lub zanieczyszczeń środowiska i żywności trafiają do organizmu. Rodziny CYP biorą też udział w syntezie i biotransformacji ważnych fizjologicznie substancji endogennych (np. kwasów tłuszczowych, kwasów żółciowych, cholesterolu, hormonów steroidowych i amin biogennych) [14, 29, 55]. U ssaków formy molekularne CYP są z reguły białkami błonowymi występującymi praktycznie we wszystkich typach komórek za wyjątkiem mięśni szkieletowych i erytrocytów, przy czym najwyższą aktywnością charakteryzuje się wątroba. Formy molekularne CYP oprócz specyficzności substratowej wykazują również specyficzność gatunkową, tkankową, osobnicze różnice oraz zależność od płci i wieku. Ogromna różnorodność i niezliczona liczba substratów tłumaczy występowanie nie jednej, ale szeregu form

molekularnych CYP o różnej lecz częściowo nakładającej się na siebie specyficzności substratowej [29, 30].

Podstawową rolą CYP jest detoksykacja ksenobiotyków. Metabolizm degradacyjny nie jest jednak regułą i w wielu przypadkach reakcje katalizowane przez CYP prowadzą do powstawania bardziej toksycznych metabolitów w porównaniu ze związkiem macierzystym jak również mutagennych/kancerogennych produktów pośrednich [15, 36, 56].

Niektóre formy CYP są stale obecne w określonych tkankach, inne zaś pojawiają się w odpowiedzi na określony induktor. W pierwszym przypadku mówi się o konstytutywnej ekspresji genów, w drugim o ekspresji indukowanej. Wzrost stężenia CYP wywołują liczne substancje chemiczne, które ze względu na budowę chemiczną oraz rodzaj indukowanej rodziny CYP sklasyfikowano w grupy [11, 12]. Grupa związków obejmująca wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksynę (TCDD), planarne polichlorowane bifenyle (PCB), dibenzofurany (PCDF) i  $\beta$ -naftoflawnon indukuje rodzinę CYP1; fenobarbital, większość pestycydów z grupy węglowodorów chloroorganicznych i niektóre związki pyretroidowe oraz szereg rozpuszczalników organicznych – rodzinę CYP2; syntetyczne steroidy, niektóre pestycydy z grupy cyklodienowych węglowodorów chlorowanych (m.in. chlordan), polichlorowane bifenyle zawierające atomy chloru w pozycji orto oraz leki przeciwgrzybicze i antybiotyki indukują rodzinę CYP3; natomiast rodzinę CYP4 indukują tzw. proliferatory peroksysomów (PPs). Do induktorów proliferacji peroksysomów należą endogenne wielonienasycone kwasy tłuszczowe o długich łańcuchach, leki stosowane w miażdżycy i cukrzycy, kwas acetylosalicylowy (aspiryna) oraz szereg zanieczyszczeń środowiskowych takich jak rozpuszczalniki organiczne, ftalany stosowane jako plastyfikatory m.in. w przemyśle medycznym oraz liczna grupa herbicydów z grupy pochodnych kwasów fenoksy-alkanokarboksylowych [1, 12, 29, 38]. Większość induktorów CYP jest również substratami tych oksydacyjnych enzymów.

W metabolizmie substancji obcych zaangażowane są podrodziny genowe *CYP1A*, *CYP2B*, *CYP3A* i *CYP4A*. Pozostałe CYPs występujące u ssaków biorą udział w syntezie i biotransformacji endogennych substratów.

Liczne dane wskazują, iż zjawisko indukcji enzymatycznej wynika przede wszystkim ze wzrostu transkrypcji genów *CYP* i zwiększenia ilości białka P-450 [8, 34]. Należy jednak podkreślić, że niektóre formy CYP tylko w niewielkim stopniu ulegają indukcji, a różnice osobnicze w ich ekspresji są wynikiem polimorfizmu genetycznego.

Najlepiej zbadanym i opisanym procesem jest indukcja podrodziny genów *CYP1A1* i *CYP1A2*, która znajduje się pod kontrolą receptora cytoplazmatycznego Ah (*AhR* – *aryl hydrocarbon receptor*) i białka jądrowego Arnt (*aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*) [9, 54]. Białko receptorowe Ah wykazuje znaczne powinowactwo do ligandów np. typu WWA. Receptor Ah należy do białek regulatorowych posiadających strukturę bHLH – heliks-pętla-heliks (ang. *helix-loop-helix*). Obszar bHLH jest domeną niezbędną do dimeryzacji i wiązania się z regulatorową sekwencją DNA. Receptor Ah w stanie latencji występuje w cytoplazmie jako heterodimeryczny kompleks z białkiem szoku cieplnego (hsp 90 – *heat shock protein*). Przyłączenie liganda powoduje uwolnienie białka szoku cieplnego i przemieszczenie się kompleksu ligand-białko Ah do jądra, gdzie powstaje dimer z białkiem Arnt. Kompleks pretranskrypcyjny reaguje ze specyficzną sekwencją DNA, tzw. wzmacniaczami odpowiedzi na ksenobiotyki (XRE<sub>s</sub> –

*xenobiotic responsive enhancers*) w obszarze 5' promotora genów *CYP1A*. Związanie się kompleksu ze strefą regulacyjną genów *CYP1A* umożliwia polimerazie RNA syntezę specyficznego pre-mRNA. Następnie pre-mRNA przekształca się w mRNA, który koduje enzymy z podrodziny *CYP1A*. Należy zaznaczyć, że w genach *CYP1A* występują co najmniej trzy specyficzne sekwencje DNA, do których może się przyłączać kompleks pretranskrypcyjny, w zależności od rodzaju ligandu wiążącego się z Ah (WWA, dioksyna lub inne ksenobiotyki). Indukcja form molekularnych *CYP1A* wiązana jest najczęściej z aktywacyjnymi szlakami metabolicznymi prowadzącymi do powstawania toksycznych mutagennych i/lub kancerogennych metabolitów [8, 9, 14 54, 56]. Większość jednak induktorów *CYP1A1* jest również substratami tego enzymu. Należy zatem sądzić, że chociaż indukcja jest odpowiedzią adaptacyjną ułatwiającą detoksykację, to jednak zaburzenia równowagi pomiędzy procesami aktywacyjnymi a detoksykacyjnymi substancji chemicznych, wywołane indukcją enzymatyczną, mogą prowadzić m.in. do rozwoju nowotworów [54].

Stosunkowo niedawno zidentyfikowano hydroksylazę *CYP1B1* zależną od receptora Ah [4, 46], której ekspresję stwierdzono u zwierząt laboratoryjnych oraz u ludzi w wątrobie, mózgu, śledzionie, sutku, macicy i prostaty. U ludzi, *CYP1B1* katalizuje metaboliczną aktywację znacznej liczby chemicznych zanieczyszczeń środowiska m.in. WWA oraz amin aromatycznych i heterocyklicznych [48]. Enzym ten katalizuje też hydroksylację 17 $\beta$ -estradiolu i powstawanie 4-hydroksyestronu – metabolitu o działaniu genotoksycznym [16]. Induktory *CYP1A1/2* i *1B1* typu WWA rozpatrywane są jako czynniki wywołujące nowotwory płuc [54], 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksyna (TCDD) została zakwalifikowana przez grupę roboczą IARC [23] do związków o kancerogennym działaniu u ludzi (Grupa 1), a badania *in vitro* i *in vivo* sugerują potencjalną rolę ekspresji *CYP1B1* w etiologii nowotworów m. in. raka sutka [60]. W tym miejscu należy dodać, że TCDD jest przykładem związku wolno metabolizowanego, który kumulując się w tkankach stwarza potencjalną możliwość aktywacji metabolicznej innych substancji chemicznych.

Dotychczas nie wykryto endogennych ligandów receptora Ah, jednakże istnieją przesłanki, na podstawie których można sądzić, że w najbliższej przyszłości zostaną one zidentyfikowane.

Odkrycie działania kilku jądrowych receptorów „sierocych”, których fizjologiczna rola polega na regulacji przemiany kwasów tłuszczowych i steroidów, pozwoliło na wyjaśnienie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw ekspresji genów *CYP2*, *3* i *4* pod wpływem substancji obcych.

W odróżnieniu od aktywacji genów *CYP1A*, w indukcji ekspresji genów *CYP2*, *3* i *4* uczestniczą receptory jądrowe czyli białka zlokalizowane w jądrze komórkowym pełniące funkcję czynników transkrypcji. Są to receptor CAR (*constitutive androstane receptor*) – konstytutywny receptor androstanu; receptor PXR (*pregnane X receptor*) – receptor pregnanu X oraz PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) – receptor aktywowany przez czynniki proliferacji peroksomów [5, 19, 28, 30, 33, 45, 53]. W miarę poznawania ligandów omawianych receptorów okazało się, że ligandy obejmują liczną grupę ksenobiotyków zróżnicowanych pod względem budowy chemicznej i aktywności biologicznej, jak też endogenne związki takie jak lipidy, hormony i prostaglandyny (Tabela I i II).

Tabela I. Receptory jądrowe uczestniczące w aktywacji rodziny genów *CYP2B*, *3A* i *4A* pod wpływem wybranych substancji obcych  
Nuclear receptors involved in activation of *CYP2B*, *3A* and *4A* genes by some xenobiotics

Czynnik indukujący	Podrodzina CYP	Receptor
Fenobarbital, insektycydy chloroorganiczne, pirydyna, nieplanarne PCB	2B1, 2B2	CAR
Antybiotyki, leki przeciwgrzybicze, niektóre insektycydy (np. chlordan), deksametazon, 16 $\alpha$ -karbonitryl pregnenolonu	3A1, 3A4, 3A23	PXR/SXR
Fibraty (leki przeciwmiażdżycowe), ftalany (plastifikatory), kwasy fenoksykarboksylowe (herbicydy)	4A1, 4A2, 4A3	PPAR $\alpha$
Leki przeciwcukrzycowe		PPAR $\gamma$

Tabela II. Receptory jądrowe, endogenne ligandy i elementy odpowiedzi w docelowych genach *CYP2B*, *3A* and *4A*  
Nuclear receptors, endogenous ligands and response elements in targeted *CYP2B*, *3A* and *4A* genes

Receptor jądrowy	Związek	Rozpoznawalna sekwencja DNA	
		Motyw	konfiguracja*
CAR	metabolity testosteronu: androstanol, androstenol	(AGGTCA-Xn) <sub>2</sub>	DR5
PXR/SXR	steroidy: estrogeny, pregnany, kortykosteroidy i ich metabolity	(AGGTCA-Xn) <sub>2</sub>	DR3/IR6
PPAR $\alpha$	kwasy linoleinowy, arachidonowy, pochodne kwasu eikozatetraenowego	(AGGTCA-Xn) <sub>2</sub>	DR1
PPAR $\gamma$	prostaglandyna A		

\* Konfiguracja motywów DNA rozpoznawalna przez receptory jądrowe:

DR<sub>x</sub> – (direct repeats) – kierunek sekwencji motywów → →

IR<sub>x</sub> – (inverted repeats) – kierunek sekwencji motywów → ←

Xn – liczba nukleotydów (1, 3, 5 i 6)

Uogólniając zagadnienie, receptory jądrowe CAR, PXR i PPAR uczestniczące w aktywacji transkrypcji podrodziny genów *CYP2B*, *CYP3A* i *CYP4A*, tworzą heterodimery z RXR (receptor typu X retinoidu 9-*cis*) zapewniające wysokie powinowactwo do DNA. Aktywne heterodimery, po przyłączeniu się ligandu, mają zdolność do aktywacji transkrypcji, ponieważ w regionie promotorowym posiadają one dwie

powtórzone sekwencje AGGTCA oddzielone od siebie o kilka (X) nukleotydów czyli element odpowiedzi AGGTCA-X-AGGTCA (motyw). Przeważnie liczba nukleotydów wynosi od jednego do pięciu i stanowi o swoistości wiązania się heterodimeru z ligandem. Dwie rozpoznawalne sekwencje AGGTCA są ułożone jako tzw. powtórzenie proste DR (*direct repeats*) lub odwrócone IR (*inverted repeats*) (Tabela II) [5, 26, 30, 33, 45, 53].

Odkrycie receptora PXR (receptor pregnanu X) rzuciło nowe światło na indukcję podrodziny CYP3A pod wpływem różnego typu ksenobiotyków. Receptor został zidentyfikowany w hepatocytach szczura myszy i chomika; u szczura PXR występuje też w jelitach [19, 28, 53]. Wykazano, że szereg związków chemicznych wywołuje asocjację heterodimeru PXR:RXR z rozpoznawalnymi sekwencjami DNA (element odpowiedzi) o konfiguracji DR3 (proste powtórzenie sekwencji AAGCTA oddzielonych od siebie 3 nukleotydami, Tabela II); konsekwencją jest aktywacja transkrypcji genu kodującego enzym – hydroksylazę CYP3A23 [47, 53]. Homologiczny receptor występujący u ludzi określono jako receptor steroidów i ksenobiotyków – SXR (*steroid and xenobiotic receptors*) [2]. Element odpowiedzi w regionie promotorowym podrodziny genów CYP3A stanowi odwrócone powtórzenie IR6 (Tabela II). Aktywny kompleks ligand-SXR-RXR po przyłączeniu się do elementu odpowiedzi aktywuje transkrypcję genu kodującego hydroksylazę CYP3A4. Aktywatorami receptora PXR/SXR jest wiele substancji, różniących się zarówno budową chemiczną jak i aktywnością biologiczną. Grupa ta obejmuje syntetyczne steroidy, związki chloroorganiczne, nieplanarne polichlorowane bifenyle zawierające atomy chloru w pozycji orto, antybiotyki i leki przeciwgrzybicze. Naturalnymi aktywatorami PXR/SXR okazały się endogenne steroidy: pregnany, estrogeny i kortykosteroidy [19, 30, 47, 53]. Wg piśmiennictwa hydroksylazy CYP3A23 i CYP3A4, występujące głównie w wątrobie gryzoni i człowieka, katalizują utlenianie i degradację połowy wszystkich ksenobiotyków [42, 47]. Jednakże przy udziale CYP3A4 zachodzi hydroksylacja 17 $\beta$ -estradiolu w pozycji 16 i powstawanie 16 $\alpha$ -hydroksyestronu, aktywnego biologicznie metabolitu wykazującego aktywność genotoksyczną [59, 60].

Fenobarbital i inne lipofilne związki należące do induktorów podrodziny CYP2B indukują transkrypcję odpowiednich genów za pośrednictwem receptora CAR (*constitutively activated receptor*) występującego głównie w wątrobie [19, 28, 53, 58]. Receptor ten w odróżnieniu od większości innych receptorów jądrowych wykazuje aktywność konstytutywną co oznacza, że transaktywacja genów nie wymaga wiązania się z ligandem. Naturalnymi ligandami CAR są hydroksylowe metabolity testosteronu (3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -andros-tenol i 3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -androstanol). Przyłączenie tych naturalnych ligandów nie obniża wprawdzie zdolności dimeryzacji receptora CAR z RXR, ani też wiązania się dimeru z elementem odpowiedzi, natomiast hamuje transaktywację wykazywaną przez wolny heterodimer [19, 28, 53]. Wydaje się zatem, że endogenne ligandy pełnią rolę inhibitorów ekspresji docelowych genów [53]. Jednakże w obecności egzogenego ligandu tj. fenobarbitalu i innych induktorów CYP2B, metabolity androstanu nie wiążą się z CAR, w związku z czym receptor w postaci heterodimeru (CAR:RXR) indukuje transkrypcję genów CYP2B [53] i innych genów zawierających element odpowiedzi na fenobarbital (PBER, *phenobarbital response element*) [50]. Badania PBERs w regionie promotorowym podrodziny genów CYP2B wykazały występowanie motywu o konfiguracji DR4 (proste powtórzenie sekwencji AGGTCA oddzielone 4 nukleotydami, Tabela II).

Fenobarbital indukuje też hydrolazę epoksydową, UDP-glukuronylotransferazy i transferazy S-glutationowe [52].

Induktory typu fenobarbitalu wykazują właściwości promotorów procesu nowotworowego: stymulują proliferację komórek w docelowych tkankach, hamują apoptozę i uszkodzają błony komórkowe (połączenia neksus) i w konsekwencji hamują wymianę metaboliczną i jonową pomiędzy komórkami [44]. W dwustopniowym modelu hepatokancerogenezy inicjowanej u zwierząt czynnikami genotoksycznymi wzmagają proces nowotworowy na etapie promocji [40].

Ostatnio dokonano niezwykłych obserwacji. W hodowlach komórkowych i u transgenicznymy myszy wykazano krzyżową aktywację receptorów SXR/PXR i CAR [59]. Sugeruje to, że ligandy SXR/PXR mogą aktywować geny *CYP2B* na drodze rozpoznawania elementów odpowiedzi na fenobarbital (PBERs), zaś ligandy receptora CAR mogą indukować transkrypcję genu *CYP3A23* i *CYP3A4* [61]. Powyższe obserwacje nie tylko wyjaśniają indukcję szeregu form molekularnych CYP np. przez fenobarbital (m.in. *CYP2B* i *3A*), lecz także sugerują występowanie mechanizmu, który chroni komórki przed szkodliwymi skutkami wynikającymi z narażenia na ksenobiotyki [5, 61].

Analizując rolę ww. CYP w metabolizmie substancji obcych nie sposób pominąć faktu, że wzajemne oddziaływanie aktywnych receptorów jest podłożem rozwoju różnego typu interakcji [61]. Zjawiska te mogą zmieniać bardzo radykalnie toksykodynamiczne właściwości substancji chemicznych. Temat ten jest szczególnie aktualny w świetle powszechnego stosowania leczenia skojarzonego oraz narażenia ludzi na różnorodne chemiczne zanieczyszczenia środowiska i żywności.

Proliferatory peroksysomów (PPs) indukujące podrodzinę *CYP4A* [1, 11, 13] obejmują heterogenną grupę substancji chemicznych, które zwiększają liczbę tych organelli w komórkach wątroby gryzoni oraz stymulują przemianę lipidów, a zwłaszcza usuwanie ich z osocza zarówno u ludzi jak i u zwierząt. Jak już wspomniano należą tu ksenobiotyki tzw. fibraty (fenoksyizomaślany) stosowane jako leki obniżające poziom lipidów, aspiryna, plastyfikatory o budowie ftalanów, herbicydy z grupy kwasów fenoksykarboksylowych jak również leki przeciwcukrzycowe [1, 13, 38, 39]. Na poziomie molekularnym PPs aktywują receptor jądrowy PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*), który występuje w postaci trzech izoform  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  [10, 19, 31]. Formy te różnią się lokalizacją, powinowactwem do ligandów oraz odpowiedzią komórek. PPAR $\alpha$  występuje głównie w wątrobie, a także w nerkach i sercu, PPAR $\gamma$  w adipocytach, okrężnicy, sercu, wątrobie, śledzionie i gonadach, PPAR $\beta$  we wszystkich praktycznie tkankach, ale najmniej jest go w wątrobie [6, 30, 33].

Naturalnymi ligandami wszystkich form PPAR są kwasy tłuszczowe, zwłaszcza nienasycone, takie jak oleinowy, linolenowy i arachidonowy [19, 21, 28, 30]. Oprócz kwasów tłuszczowych, poszczególne formy PPAR wiążą też selektywnie pewne ligandy. PPAR $\alpha$  wiąże substancje chemiczne wywołujące proliferację peroksysomów w wątrobie gryzoni (hypolipidemiczne leki, ftalany, herbicydy) [1, 13, 38], zaś PPAR $\gamma$  leki przeciwcukrzycowe i prostaglandynę A [5, 27, 28]. Formy molekularne PPAR podobnie jak inne receptory jądrowe tworzą heterodimer z receptorem RXR i po przyłączeniu się ligandu kompleks pretranskrypcyjny rozpoznaje w regionie promotorowym docelowych genów elementy odpowiedzi na PPs (PPRE<sub>s</sub>, *peroxisome proliferator response elements*).

o konfiguracji DR1 (Tabela II) wywołując ekspresję genów *CYP4A*, uczestniczących w mikrosomalnej  $\omega$ -oksydacji kwasów tłuszczowych [1, 11, 53].

Forma molekularna receptora PPAR $\alpha$  uczestniczy w plejotropowych efektach obserwowanych u gryzoni pod wpływem m.in. fibratów, ftalanów i herbicydów z grupy PPs. Efekty te obejmują przerost mięszczynek wątroby w wyniku wzrostu gładkiej siateczki cytoplazmatycznej oraz wzrostu liczby peroksisomów z towarzyszącym wzrostem aktywności enzymów peroksisomalnych uczestniczących w  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych [1, 13, 38]. Wyniki badań sugerują ponadto, że ww. związki o właściwościach PPs wywołują u gryzoni zakłócenia w homeostazie komórkowej, ponieważ stymulują nadmierną proliferację hepatocytów i jednocześnie hamują ich zdolność do samozagłady na drodze apoptozy [43]; w długookresowych badaniach większość PPs wywołuje pierwotne nowotwory wątroby u myszy i szczurów, pomimo negatywnych wyników w testach *in vivo* i *in vitro* na działanie genotoksyczne [1, 13, 38]. Opisane wyżej plejotropowe efekty, w tym również proces kancerogenezy, wymagają aktywacji formy PPAR $\alpha$  w wątrobie gryzoni [1, 13, 38]. W ciągu ostatnich lat zagadnieniom tym poświęcono wiele uwagi; pomimo tego precyzyjne mechanizmy leżące u podstaw rakotwórczego działania PPs u gryzoni nie zostały wyjaśnione i pozostają jedynie w sferze hipotez. Szereg kontrowersji budzi również oddziaływanie PPs na naczelną i człowieka. Utrwała się jednak pogląd, że PPs należy rozpatrywać jako grupę związków chemicznych o nieznaczącym ryzyku dla ludzi [23, 24], ponieważ w wątrobie człowieka obserwuje się niski poziom i słabą ekspresję PPAR $\alpha$  [13, 18, 33, 51]. Nie można wykluczyć możliwości, że ta forma receptora uczestniczy u ludzi wyłącznie w metabolizmie kwasów tłuszczowych zwłaszcza, że hypolipidemia jest jednym z plejotropowych efektów PPs występującym zarówno u gryzoni [3, 41] jak i u ludzi [17]. Biologiczna aktywność hypolipidemicznych leków z grupy PPs polega na obniżaniu VLDL (*very low density lipoproteins*), triacylogliceroli i całkowitego cholesterolu w osoczu. W związku z tym szereg środków farmaceutycznych o właściwościach PPs znajduje zastosowanie w leczeniu hiperlipoproteinemii typu IV i przeciwdziałaniu jej skutkom: chorobie niedokrwiennej serca i zawałom [57].

Na temat PPAR $\gamma$  dotychczas wiadomo, że odgrywa rolę w różnicowaniu preadipocytów, stymuluje też różnicowanie monocytów i makrofagów [7, 19, 27, 28]. W monocytach ligandy PPAR $\gamma$  hamują za jego pośrednictwem syntezę cytokin uczestniczących w procesach zapalnych [22]. Receptor ma też silny wpływ na przemianę lipidów. Leki przeciwcukrzycowe, które wiążą się z nim wybiórczo, powodują obniżenie zawartości lipidów w osoczu, co pośrednio wpływa na stężenie glukozy [30]. Aktywacja PPAR $\gamma$  wywołuje hamowanie wzrostu komórek nowotworowych [19, 28] oraz różnicowanie komórek nowotworowych sutka [32]. Jednakże nie można wykluczyć możliwości, że aktywacja PPAR $\gamma$  może powodować też szkodliwe skutki. Leki przeciwcukrzycowe aktywując receptor wywołują u myszy polipy – prekursorzy nowotworów jelita grubego [19, 28].

Dotychczas najmniej wiadomo o działaniu PPAR $\beta$ . Forma ta jest silnie aktywowana przez kwasy tłuszczowe o długim łańcuchu. Nic też dziwnego, że uwagę autorów przyciągają nadal wszystkie trzy formy molekularne receptora PPAR. Zapewne w niedalekiej przyszłości ich fizjologiczna i ewentualna patologiczna rola w odpowiedzi komórki będzie wymagała osobnego omówienia.

Na podstawie przedstawionego piśmiennictwa trudno jest jednoznacznie ocenić znaczenie indukcji enzymatycznej przy oddziaływaniu substancji obcych, jednakże przeważa pogląd, że proces jest w wielu przypadkach niekorzystny. Wprawdzie zidentyfikowano mechanizm chroniący komórkę przed skutkami narażenia na ksenobiotyki, ale jednocześnie mechanizm ten jest podłożem różnego typu interakcji pomiędzy związkami [61]. Zdolność określonego związku do indukcji CYP wzmacniać może metabolizm np. leków, które w ten sposób tracą aktywność biologiczną. Zachwianie równowagi w procesach biotransformacji i przewaga procesów aktywacji metabolicznej może prowadzić do niepożądanych skutków wywoływanych powstawaniem toksycznych i/lub reaktywnych produktów pośrednich. Ponadto, wyniki badań epidemiologii molekularnej sugerują, że u ludzi genetyczny polimorfizm w zakresie enzymów metabolizujących takich jak CYP1A1, CYP1B1 i S-transferaz glutationowych jest przyczyną zwiększonej osobniczej podatności m. in. na nowotwory [49]. W nawiązaniu do aktywacji metabolicznej substancji chemicznych do reaktywnych produktów pośrednich wydaje się, że w sprawnie działającym organizmie, dzięki genom supresorowym, błędy np. w DNA są szybko wykrywane i usuwane przez enzymatyczne układy naprawcze, zanim uszkodzenie materiału genetycznego zostanie przekazane komórce potomnej; natomiast uszkodzone komórki są eliminowane na drodze apoptozy. Należy jednak zaznaczyć, że induktory CYP aktywujące opisane receptory jądrowe mogą wywoływać zaburzenia w homeostazie komórkowej. Na zakończenie należy dodać, że indukcję CYP pod wpływem ksenobiotyków mogą hamować endogenne mediatory takie jak cytokiny, hormony i czynniki wzrostu [53].

D. Palut, G. Kostka, P. Struciński

#### THE ROLE OF NUCLEAR RECEPTORS IN CYTOCHROME P-450 INDUCTION BY XENOCEMICALS

##### Summary

This review summarizes recent findings indicating that members of the orphan nuclear receptor superfamily regulate the synthesis of their *CYP* genes which code *CYP* enzymes involved in metabolism of endogenous and exogenous compounds.

The foreign compounds metabolism and the role played by individual cytochrome P450 (*CYP*) enzymes in the activation and detoxification of xenochemicals prevalent in the environment are important areas of molecular pharmacology and toxicology. The advances in our understanding of the mechanisms through which foreign chemicals impact on these *CYP*-dependent metabolic processes have been made during the past years. Role for three „orphan” nuclear receptor superfamily members, designated CAR (constitutive androstane receptor), PXR/SXR (pregnenolone X receptor) and PPAR (peroxisome proliferator activated receptor), in respectively mediating the induction of hepatic *CYP*s belonging to families *CYP*2, *CYP*3, and *CYP*4 has now been established. The *CYP* gene products such as *CYP*3A, *CYP*2B and PPAR are essential for metabolism of endogenous steroid hormones, fatty acids and various xenobiotics including drugs. Unexpectedly, it has been shown that SXR, which regulates *CYP*3A, can also regulate *CYP*2B via recognition of the phenobarbital response element (PBRE). In a type of functional symmetry, orphan receptor CAR was found to activate *CYP*3A through SXR/PXR response element. Indeed, SXR/PXR binds to inverted (IR-6) and direct (DR-4) response element localized to regulatory DNA regions of human *CYP*3A4 and rat *CYP*3A23 genes, respectively. These observations provide a rational explanation for the activation of multiple *CYP* gene classes by certain xenobiotics as well as the propensity for drug-drug interactions. In



addition, both endogenous and egzogenous ligands which act as activators of nuclear receptors can result in disruption of cellular homeostasis.

#### PIŚMIENICTWO

1. *Ashby J., Brady A., Elcombe C.R., Ishamel J., Odum J., Tugwood J.D., Kettle S., Purchase I.F.H.*: Mechanistically-based human hazard assessment of peroxisome proliferator-induced hepatocarcinogenesis. *Hum. Exp. Toxicol.* 1994, 13 (Suppl. 2), S1–S117.
2. *Bertilsson G., Heidrich J., Svensson K., Asman M., Jendeberg L., Sydow-Backman M., Ohlsson R., Postlind H., Blomquist P., Berenstam A.*: Identification of human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95, 12208–12213.
3. *Best M.M., Duncan C.H.*: Hypolipidemia and hepatomegaly from ethyl chlorophenoxyisobutyrate (CPIB) in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 1964, 64, 634–642.
4. *Bhattacharyya K., Brake P., Eltom S.E., Otto S., Jefcoate C.R.*: Identification of a rat adrenal cytochrome P450 active in polycyclic hydrocarbon metabolism as rat CYP1B1. Demonstration of a unique tissue-specific pattern of hormonal and aryl hydrocarbon receptor-linked regulation. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 11595–11602.
5. *Blumberg B., Evans R.M.*: Orphan nuclear receptor new ligands and new possibilities. *Gen. Dev.* 1998, 12, 3149–3155.
6. *Braissant O., Fouffelle F., Scotto C., Dauca M., Wahli W.*: Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptor (PPARs): Tissue distribution of PPAR $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  in the adult rat. *Endocrinology* 1996, 137, 354–365.
7. *Chawla A.E.J., Schwarz E.J., Dimaculangan D.D., Lazar M.A.*: Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ : Adipose-predominant expression and induction early adipocyte differentiation. *Endocrinology* 1994, 135, 798–800.
8. *Denison M.S., Whitlock J.P.*: Xenobiotic-inducible transcription of cytochrome P-450 genes. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 18175–18178.
9. *Denison M.S., Heath-Pagliuso S.*: The Ah receptor: A regulator of the biochemical and toxicological actions of structurally diverse chemicals. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1998, 61, 557–568.
10. *Desvergne B., Wahli W.*: Peroxisome proliferator-activated receptors. *Endocr. Rev.* 1999, 20, 649–688.
11. *Gibson G.G.*: Comparative aspects of the mammalian cytochrome P-450IV gene family. *Xenobiotica* 1989, 19, 1123–1148.
12. *Gonzalez F.J.*: Molecular genetics of the P-450 superfamily. *Pharmacol. Ther.* 1989, 45, 1–38.
13. *Gonzalez F.J., Peters J. M., Cattley R.C.*: Mechanism of action of the nongenotoxic peroxisome proliferators: role of the peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$ . *J. Natl. Cancer Inst.* 1998, 22, 1702–1709.
14. *Guengerich F.P.*: Reactions and significance of cytochrome P-450 enzymes. *J. Biol. Chem.* 1991, 266, 10019–10024.
15. *Guengerich F.P., Shimida T.*: Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450. *Chem. Res. Toxicol.* 1991, 4, 391–407.
16. *Hayes C.L., Spink B.C., Cao J.Q., Walker N.J., Sutter T.R.*: 17 $\beta$ -estradiol hydroxylation catalysed by human cytochrome P-450 1B1. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1996, 93, 9776–9781.
17. *Hertz R., Bishara-Shieban J., Barr-Tana J.*: Mode of action of peroxisome proliferators as hypolipidemic drugs. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 13470–13475.
18. *Holden R.R., Tugwood J.D.*: Peroxisome proliferator-activated receptor alfa: role in rodent liver cancer and species differences. *J. Mol. Endocrinol.* 1999, 22, 1–8.
19. *Honkakoski P., Negishi M.*: Regulation of cytochrome P-450 genes by nuclear receptors. *Bioch. J.* 2000, 347, 321–337.

20. *Issemann I., Green S.*: Activation of member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990, 347, 645–650.
21. *Issemann I., Prince R.A., Tugwood J.D., Green S.*: The peroxisome proliferator-activated receptor: retinoid X receptor heterodimer is activated by fatty acids and fibrate hypolipidaemic drugs. *J. Mol. Endocrinol.* 1993, 11, 37–47.
22. *Jiang C., Ting A.T., Seed B.*: PPAR- $\gamma$  agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 1998, 391, 82–86.
23. International Agency for Research on Cancer (IARC). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans. Lyon, France, 1997.
24. International Agency for Research on Cancer (IARC). Consensus report on peroxisome proliferation. Lyon, France, p. 19, 1995.
25. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of carcinogenic risk to humans. Sci. Publ. 66, 1–514. Lyon, France, 1999.
26. *Khorasanizadeh S., Rastinejad F.*: Nuclear receptor interactions on DNA-response elements. *Trend in Biochem. Sci.* 2001, 26, 384–390.
27. *Klewier S.A., Lenhard J.M., Willson T.M., Patel I., Morris D.C., Lehmann J.M.*: A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and promote adipocyte differentiation. *Cell* 1995, 83, 813–819.
28. *Klewier S.A., Lehmann J.M., Willson T.M.*: Orphan nuclear receptors: shifting endocrinology into reverse. *Science* 1999, 24, 757–560.
29. *Kobylińska K.*: Formy molekularne cytochromu P-450 wątroby szczura. *Post. Biochemii* 1994, 40, 248–252.
30. *Kwiatkowska-Korczak J., Kwiatkowska D.*: Heterodimeryczne receptory jądrowe. II. Regulacja przemiany kwasów tłuszczowych i steroidów. *Post. Biochemii* 2000, 46, 125–129.
31. *Michalik L., Wahli W.*: Peroxisome proliferator-activated receptors. Three isotypes for a multitude of functions. *Curr. Opin. Biotechnol.* 1999, 10, 564–570.
32. *Mueller E., Sarraf P., Tontozon P., Evans R.M., Martin K.J., Zhang M., Fletcher C., Singer S., Spiegelman B.M.*: Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR $\gamma$ . *Mol. Biol.* 1998, 1, 465–470.
33. *Mukherjee R., Jow L., Noonan D., McDonnell D.P.*: Human and rat peroxisome-activated receptor (PPARs) demonstrate similar tissue distribution but different responsiveness to PPAR activators. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1994, 51, 157–166.
34. *Muller M.*: Transcriptional control of hepatocanalicular transporter gene expression. *Seminars in liver disease.* 2000, 20, 323–337.
35. *Nebert D.W., Nelson D.R., Coon M.J., Estabrook R.W., Feyereisen R., Fujii-Kuriyama Y., et al.*: The 450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. *DNA Cell Biol.* 1991, 10, 1–14.
36. *Nebert D.W.*: Role of genetics and drug metabolism in human cancer risks. *Mut. Res.* 1991, 247, 267–281.
37. *Nelson D.R., Koymans L., Kamataki T., Stegeman J.J., Feyereisen R., Waxman D.J., et al.*: P-450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996, 6, 1–42.
38. *Palut D.*: Proliferacja peroksysomów a proces hepatokancerogenezy. *Roczn. PZH* 1997, 48, 1–11.
39. *Palut D., Ludwicki J.K., Kostka G., Kopeć-Szlezak J., Wiadrowska B., Lembowicz K.*: Studies of early hepatocellular proliferation and peroxisomal proliferation in *Wistar* rats treated with herbicide diclofop. *Toxicology* 2001, 58, 119–126.
40. *Peraïno C., Mickael F., Staffed E., Christopher J.P.*: Comparative enhancing effects of phenobarbital, diphenylhydantoin, and dichlorodiphenyltrichloroethane on 2-acetylaminofluorene-induced hepatic tumorigenesis in the rat. *Cancer Res*, 1975, 35, 2884–2890.

41. *Peters J.M., Hennuyer N., Staels B., Fruchart J.C., Fievet C., Gonzalez F.J., et al.*: Alterations in lipoprotein metabolism in peroxisome proliferator-activated receptor *alfa*-deficient mice. *J. Biol. Chem.* 1997, 272, 27307–27312.
42. *Rendic S., Di Carlo F.J.*: Human cytochrome P-450 enzymes: A status report summarizing their reactions, substrates, inducers and inhibitors. *Drug Metab. Rev.* 1997, 29, 413–580.
43. *Roberts R.A., James N.H., Woodyatt N., Macdonald N., Tugwood J.*: Evidence for the suppression of apoptosis by the peroxisome proliferator activated receptor *alfa* (PPAR $\alpha$ ). *Carcinogenesis* 1998, 19, 43–48.
44. *Ruch R.J., Klauning J.E.*: Effects of tumor promoters, genotoxic carcinogens and hepatotoxins on mouse hepatocyte intracellular communication. *Cell Biol.* 1986, 29, 413–580.
45. *Savas U., Keith J., Griffin J., Johnson E.R.*: Molecular mechanisms of cytochrome P-450 induction by xenobiotics: an expanded role for nuclear hormone receptors. *Mol. Pharmacol.* 1999, 56, 851–857.
46. *Savas U., Bhattacharyya K., Christou M., Alexander D., Jetcoate C.R.*: Mouse cytochrome P-450EF: Representative of a new 1B subfamily of cytochrome P-450s. Cloning, sequence determination and tissue expression. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 14905–14911.
47. *Schuetz E.G., Brimer C., Schuetz J.D.*: Environmental xenobiotics and the antihormones cyproterone acetate and spironolactone use the nuclear hormone pregnenolone X receptor to activate the CYP3A23 hormone response element. *Mol. Pharmacol.* 1998, 54, 1113–1117.
48. *Shimida T., Hayes C.L., Yamazaki H., Amin S., Hecht S.S., Guengerich F.P., Sutter T.R.*: Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. *Cancer Res.* 1996, 2979–2984.
49. *Taninger M., Malacarne D., Izzotti A., Ugolini D., Parodi S.*: Drug metabolism polymorphisms as modulators of cancer susceptibility. *Mut. Res.* 1999, 436, 227–261.
50. *Trotier E., Belzil A., Stoltz C., Anderson A.*: Localization of a phenobarbital-responsible element (PBRE) in the 5'-flanking region of the rat CYP2B gene. *Gene*, 1995, 158, 263–268.
51. *Togwood J.D., Aldridge T.C., Lambe K.G., MacDonald N., Woodyatt N.J.*: Peroxisome proliferator-activated receptor: structure and function. *Ann. NY Acad. Sci.* 1996, 804, 252–256.
52. *Waxman D.J., Azaroff L.*: Phenobarbital induction of cytochrome P-450 gene expression. *Biochem. J.* 1992, 28, 577–592.
53. *Waxman D.J.*: P-450 gene induction by structurally diverse xenochemicals: central role of nuclear receptors CAR, PXR and PPAR. *Arch. Biochem. Biophys.* 1999, 369, 11–23.
54. *Whitlock J.P.*: Induction of cytochrome P4501A1. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1999, 39, 103–125.
55. *Whitlock J.P., Denison M.S.*: Induction of cytochrome P-450: structure, mechanism and biochemistry. New York, Plenum Press 1995, 367–390.
56. *Wolf C.R.*: Cytochrome P-450s, polymorphic multigene families involved in carcinogen activation. *TIGS* 1986, 2, 209–214.
57. *Vamecq J., Latruffe N.*: Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors. *Lancet* 1999, 354, 141–148.
58. *Zelko J., Negishi J.*: Phenobarbital – elicited activation of nuclear receptor CAR in induction of cytochrome P-450 genes. *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 2000, 277, 1–6.
59. *Zheng W., Xie D.W., Jin F., Cheng J.R., Dai Q., Wen W.Q., Shu X.O., Gao Y.T.*: Genetic polymorphism of cytochrome P-450 and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000, 9, 147–150.
60. *Zhu B.T., Conney A.H.*: Functional role of estrogen metabolism in target cells: review and perspectives. *Carcinogenesis* 1998, 19, 1–27.

61. Xie W., Barwick J.L., Simon C.M., Pierce A.M., Safe S., Blumberg B., Guzelian P.S., Evans R.M.: Reciprocal activation of xenobiotics response genes by nuclear receptors SXR/PXR and CAR. *Gen. Dev.* 2000, 14, 3014–3023.

Otrzymano: 2002.06.24