Зміст

Вступ

1. Сімейство цитохромів P450

1.1. Поняття цитохромів

1.2. Історія відкриття цитохромів

1.3. Розмаїтість цитохромів

1.4. Класифікація цитохромів

1.5. Основні цитохроми

2. Особливості цитохромів P450

2.1. Подвійність природи цитохромів P450

2.2. Вариабельность дії цитохромів

2.3. Поліморфізм CYP 450

2.4. Цитохроми і метаболізм лікарських засобів

2.5. Основні види цитохромів р450 у людини

3. Індукція ферментів CYP450

3.1. Значення індукції ферментів

3.2. Здатність цитохромів Р450 до індукції

3.3. Механізм індукції цитохрома Р450 1А1

3.4. Конститутивна експресія цитохрома Р450 1А2 і його індукція

3.5. Механізм індукції цитохромів Р450 2В, 2С і 3А барбитуратами

3.6. Вплив індукторів на токсичність ксенобіотиків

Висновки

Список використаної літератури

# Вступ

Пацієнтам (особливо літнім чи із серйозними хронічними захворюваннями) рідко коли призначають один препарат. Перед лікарями і пацієнтами питання про небезпеку полипрагмазии (одночасного призначення безлічі лікарських чи засобів лікувальних процедур) коштує дуже гостро. У світі витрачаються мільйони доларів на створення комп'ютерних експертних систем, що дозволяють зменшити ризик виникнення несприятливих ефектів лікарської взаємодії. Однак проблема взаємодії лік дуже складна і, незважаючи на наявність великої кількості таких експертних систем, ще ніде не вирішена ідеально.

Під лікарською взаємодією розуміють посилення (синергизм, аддитивное дія) чи ослаблення (антагонізм) терапевтичного ефекту при одночасному чи послідовному введенні двох чи декількох лікарських препаратів.

Механізмів взаємодії лікарських засобів (ВЛС) дуже багато. Існують дві основні їхні класифікації: фармакокінетична і фармакодинамічна.

*Фармакокинетичні взаємодії -* зміна однієї чи декількох характеристик об'єкта: усмоктування, розподілу, метаболізму чи екскреції. Такі типи взаємодії звичайно визначаються наступними параметрами: концентрація в сироватці, час напіввиведення, зв'язування з білками, кількість у крові вільного препарату, і швидкість і кількість екскретуємого препарату.

Основний орган, у якому відбувається метаболізм лікарських речовин — печінка. У печінці відбуваються дві фази біотрансформації. У першій фазі відбувається окислювання, опосередковуване системою цитохромів P450 (CYP450). Ці ферменти можуть індукуватися чи інгибуватися, що веде до чи прискорення уповільнення метаболізму лікарських речовин.

Вивчення процесів індукції цитохромів P450 має велике значення.

# 1. Сімейство цитохромів P450.

## 

## 1.1. Поняття цитохромів

***Цитохром р450*** ( CYP 450) – так називається велика родина універсальних ферментів організму людини, що відповідають за метаболізм більшості лік і інших чужорідних органічних сполук (ксенобіотиків) .

Метаболізм багатьох класів лікарських засобів (антигістамінних препаратів, інгібіторів ретровирусної протеази, бензодіазепинів, блокаторів кальцієвих каналів і ін.) відбувається за участю цитохромів.

Крім цього, цитохроми забезпечують різні фізіологічні процеси, включаючи біосинтез стероїдів і холестерину, метаболізм жирних кислот і забезпечення кальцієвого обміну (гідроксилювання вітаміну D3, що складає перший етап в утворенні кальцитріола).

## 1.2. Історія відкриття цитохромів

Цитохром Р450 був відкритий наприкінці 50-х років ХХ століття М. Клингенбергом і Д. Гарфинкелем. Термін «цитохром» ( cito –клітка; з hromos –колір) з'явився в 1962 р. як тимчасова назва для виявленої в клітках пофарбованої субстанції.

Як виявилося, різні види цитохрома Р450 широко поширені в клітках мікроорганізмів, рослин і ссавців. Відсутні ці ферменти тільки в анаеробних бактерій.

Учені припускають, що всі гени, що кодують різні види CYР450, відбулися від одного гена-попередника, що існував ще два більйони років тому. Функція цього «оригінального» гена полягала в утилізації енергії. На даний момент у природі виявлено більш 1000 різних видів цитохрома CYP 450.

## 1.3. Розмаїтість цитохромів

На сьогоднішній день у ссавців виявлено близько 55 різних видів цитохромів, у рослин – більш 100.

Завдяки успіхам генної інженерії, удалося установити, що ферменти сімейства цитохромів виконують різні функції, що й обумовлює їхній розподіл на три основних класи:

* що беруть участь у метаболізмі лікарських препаратів і ксенобіотиків;
* що беруть участь у синтезі стероїдів;
* участвующие в інших важливих ендогенних процесах, що протікають в організмі.

## 1.4. Класифікація цитохромів

Усі цитохроми і гени, що кодують їхній синтез, називають у відповідності з наступними рекомендаціями:

* у назві цитохрома обов'язково вказується корінь CYP;
* у назві гена, що кодує синтез відповідного цитохрома, також є присутнім CYP , але прописаний похилим шрифтом;
* цитохроми розділені на сімейства (позначаються цифрами), підродини (позначаються буквами) і изоформи (позначаються цифрами, що відбивають номер гена, що кодує, ).

Наприклад, CYP 2 D 6 відноситься до 2-му сімейства, підродині D , кодується геном 6. Назва ж самого гена виглядає як CYP 2 D 6.

## ****1.5. Основні цитохроми****

Незважаючи на розмаїтість цитохромів в організмі людини, метаболізм лікарських засобів відбувається за участю переважно обмеженої кількості CYP 450. Найбільш розповсюдженими представниками цієї групи є: CYP 1А2, CYP 2С9, CYP 2С19, CYP 2 D 6, CYP 2E1, CYP 3A4.

Ці ферменти катализируют широкий спектр метаболічних реакцій:

* один цитохром може метаболізувати кілька лікарських препаратів, що мають різну хімічну структуру;
* той самий лікарський препарат може піддаватися впливу різних CYP 450 у різних органах і системах людського організму.

# ****2. Особливості цитохромів P450****

## 

## ****2.1. Подвійність природи цитохромів P450****

У більшості випадків жиророзчинні лікарські засоби й інші хімічні субстанції трансформуються у водорозчинні метаболіти, що легше виводяться з організму.

Уведення гідроксильних груп (завдяки цитохрому Р450) збільшує полярність молекул і їхню розчинність, що також сприяє їхньому виведенню з організму. Майже всі ксенобіотики, що попадають у печінку, окисляються якою-небудь ізоформою цитохрома р450.

Однак ті ж ферменти, катализирующие процеси «очищення», можуть активувати інертні хімічні молекули до високо реактивного стану. Такі молекули-посередники можуть взаємодіяти з білками і ДНК. Таким чином, вплив цитохромів р450 може відбутися по одному з двох конкурентних шляхів: метаболической детоксикації або активації.

## 2.2. Вариабельность дії цитохромів

Для кожної людини характерний свій метаболізм лікарських речовин, що відрізняється від такого інших людей. Індивідуальні особливості залежать від генетичних факторів, віку пацієнта, його підлоги, стану здоров'я, характеру харчування, що супроводжує фармакотерапії і т.д. Генетична вариабельность лікарського метаболізму була установлена випадково: стандартні дози лік зненацька викликали нестандартні реакції в різних індивідуумів.

Активність ферментів буває двох (іноді трьох) основних видів: інтенсивна і слабка (середня), відповідно метаболізм лікарських речовин може відбуватися швидко і повільно.

### 2.3. Поліморфізм CYP 450.

У різних людей, різних популяцій активність цитохромної системи різна. Генетичні розходження різних популяцій, у яких кожен ген зустрічається з частотою як мінімум 1%, називається поліморфізмом. Це явище відіграє велику роль у клінічній практиці: не рідкі випадки, коли ліків, що діють на одну групу людей, зовсім не ефективні для іншої групи [11].

Наприклад, один з 15 представників білої чи негроїдної рас може мати надмірну відповідь на бета-адреноблокатори (наприклад, метопролол) чи немаїн аналгетичного ефекту при застосування трамадолу.

Певний ген кодує певний фермент CYP 450. Кожна людина успадковує по одному алелю від кожною з батьків. Алелі отримали назву "wild type"- дикі, які найчастіші зустрічаються у загальній популяції, та "variant"- мінливі.

На рівні генотипу виділяють нормальну незмінений алель ***“wild type”,*** та змінений внаслідок мутації – ***“variant type”.*** На рівні цілісного організмі генотип проявляється фенотипом, що визначаються як генотип + зовнішні середовище = фенотип. Вплив зовнішніх факторів може сприяти деякому відхиленню від генетичної активності, що частіше не перевищує 20-26%.

За швидкістю активності генотипів визначають:

* люди-гомозиготи (носії WW) - називаються ***швидкими метаболізаторами*** (extencive metabolizer, EM),
* гомозиготі. носії мутантного алелю (VV) – ***повільними метаболізаторами*** (poor metabolizer, РМ),
* гетерозиготи (WV) - ***проміжними метаболізаторами*** (intermediate metabolizer, ІМ),
* носії двох і більше ідентичних генів (дуплікація, ампліфікація геніи) називаються ***ультрашвидкими метаболізаторами*** (ultrarapid metabolizer UM).

При низькій швидкості метаболізму ліків основними ферментами може спостерігатись його альтернативна утилізація іншим ферментом, в деяких випадках це призводить до появи токсичних сполук.

Екстенсивні (нормальні) метаболізатори отримали у спадок дві копії "wild type" алелей. Поліморфізм відбувається, коли "variant" аллелі змінюють один чи два "wild type" алелей. "Variant" алель зазвичай коди фермент CYP 450 з дефектними властивостями - знижена або відсуїня активність ферменту. Особи з двома копіями "variant" алелей є "poor" (повільними) метаболізаторами, з одним "wild type" та одним "variant" алелем мають уповільнення ферментативної активності. Крім того, особи з багатократними (мульти) копіями "wild type" алелей мають надлишкову ферментативну активність. Цей фенотип назвати "ultrarapid" метаболізатори.

Поліморфізм ферментів CYP 450 відповідальний за певні особливості при лікуванні пацієнтів різних етнічних груп. Наприклад, 7% осіб білої раси га 2-7% осіб негроїдної раси є повільними метаболізаторами препаратів, іалежних від активності CYP 2D6. Один з 5 азіатів є повільним метаболізатором ліків, залежних від CYP 2СІ9 (метаболізує фенітоїн, фенобарбітал, омепразол та ін.). Різниця у відповіді на ліки серед етнічних груп також може залежати від інших ферментативних систем метаболізму, переносників та рецепторів.

## 2.4. Цитохроми і метаболізм лікарських засобів

**Цитохром CYP 1А2** бере участь у метаболізмі багатьох ліків, включаючи еуфілін і кофеїн. Активність цього ферменту підвищується під впливом хімічних речовин, що попадають в організм людини під час паління.

**Цитохром CYP 2А6** відіграє важливу роль у метаболізмі кумарину (непрямий антикоагулянт) і нікотину.

**Цитохром CYP 2С9** втягнутий у метаболізм фенітоїна, толбутаміда, варфарина. Якщо в структурі гена, що кодує синтез даного цитохрома, змінюється хоча б одна амінокислота, то порушується його ферментативна активність. Ферментна недостатність цього цитохрома обумовлює уроджену схильність до інтоксикації фенітоїном і до ускладнень у результаті терапії варфарином.

**Цитохром CYP 2С19** бере участь у метаболізмі омепразола, діазепама, іміпраміна. Однак клінічне значення поліморфізму цього ферменту залишається спірним. Ефективні дози багатьох препаратів, метаболізуємих CYP 2С9, настільки далекі від токсичних, що потенційні відхилення в активності цитохрома CYP 2С9 не грають значної ролі.

**Цитохром CYP 2 D 6** являє приклад генотипічних розходжень серед різних етнічних груп. У 70-х роках минулого сторіччя вивчали фармакокінетику антигіпертензивного препарату дебрізохіна й антиаритміка спартеїна. Отримано наступні результати: при загальній тенденції до надшвидкого метаболізму дебрізохіна, серед облич європеоїдної раси повільний метаболізм спостерігався в 5–10% випадків, серед японців цей показник склав менш 1%.

Препарати, метаболізуємі CYP2D6 (b-блокатори, антиаритміки, психоаналептики, антидепресанти і наркотичні анальгетики), мають вузький терапевтичний індекс, тобто між дозою, необхідної для досягнення лікувального ефекту, і токсичною дозою існує невелика різниця. У такій ситуації індивідуальні відхилення в метаболізмі ліків можуть зіграти драматичну роль: підвищення концентрації останнього до токсического рівня, або зниження до втрати ефективності.

Історія застосування пергексилина (Австралія) яскраво продемонструвала величезне значення поліморфізму CYP2D6. Після першого досвіду призначень препарат був вилучений з арсеналу засобів для лікування стенокардії унаслідок високої гепато- і нефротоксичності. Але в даний час пергексилин знову застосовується і визнаний високоефективним засобом, оскільки є токсичним тільки для пацієнтів зі слабким метаболізмом CYP2D6. Безпека призначення пергексилина забезпечується попереднім визначенням індивідуального рівня цього цитохрома.

**Цитохром CYP 3А4** приблизно метаболизирует близько 60% усіх лікарських речовин. Це основний цитохром печінки і кишечнику (від загальної кількості цитохромів він складає 60%). Активність його може підвищуватися під впливом ріфампіцина, фенобарбітала, макролідів і стероїдів.

## 2.5. ****Основні види цитохромів р450 у людини****

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Цитохром** | **Субстрати, на які здійснюється вплив** | **Інгібітор** | **Індуктор** |
| CYP1А2 | Амітриптилін, кофеїн, кломіпрамін, іміпрамін, клозапін, мексилетин, естрадіол, парацетамол, пропранолол, такрин, теофілін, R -варфарин | Циметидин, флувоксамін, фторхинолонові антибіотики (ципрофлоксацин, норфлоксацин), грейпфрутовий сік | Омепразол, фенобарбітал, фенітоїн, поліциклічні ароматичні гідрокарбонати (наприклад шашлик), паління сигарет |
| CYP2С9 | Діклофенак, індометацин, лосартан, напроксен, фенітоїн, піроксикам, толбутамід, S -варфарин | Аміодарон, хлорамфенікол, циметидин,  флуконазол, флуоксетин, ізоніазид, омепразол, сертралін, сульфинпіразон | Ріфампіцин |
| CYP2С19 | Кломіпрамін, клозапін, діазепам, іміпрамін, лансопразол, омепразол, фенітоїн, пропранолол | Флуоксетин, флувоксамін, ізоніазид, омепразол, сертралин | Ріфампіцин |
| CYP2D6 | Амітриптилін, хлорпромазін, кломіпрамін, клозапін, кодеїн, дезипрамін, декстрометорфан, доксепін, флуоксетин, галоперидол, іміпрамін, лабеталол, метадон, метопролол, прокаїнамід, прометазин, пропафенон, пропранолол, тіоридазин, тімолол | Аміодарон, циметидин, галоперидол, мібефраділ, хінідин, пропафенон, всі інгібітори зворотного захоплення серотоніну |  |
| CYP2E1 | Кофеїн, етанол, парацетамол, теофілін | Циметидин, дисульфирам | Етанол, ізоніазид |
| CYP3 A4 | Аміодарон, амітриптилін, аторвастатин, бупренорфин, карбамазепін, кларитроміцин, кломіпрамін, клоназепам, кокаїн, кортизол, циклофосфамід, циклоспорин, дексаметазон, дигитоксин, ділтіазем, діазепам, доксорубіцин, еритроміцин, фелодипін, фентаніл, іміпрамін, кетоконазол, лоратадин, міконазол, мідазолам, ніфедипін, естрадіол, омепразол, пропафенон, хінідин, симвастатин, теофілін, верапаміл, вінкристин, варфарин | Аміодарон, циметидин, кларитроміцин, клотримазол, ділтіазем, еритроміцин, грейпфрутовий сік, кетоконазол, метронідазол, міконазол | Карбамазепін, глюкокортикоїди, фенітоїн, ріфампіцин, сульфадимідин |

# 3. Індукція ферментів CYP450

## 

## 3.1. Значення індукції ферментів.

Відомо, що ще в стародавності Митридат систематично приймав невеликі дози отрут, щоб уникнути гострого отруєння. "Ефект Митридата" заснований на індукції визначених захисних систем: фенобарбітал индуцирует систему цитохрома Р-450, глутатион- і Удф-глюкуронілтрансферази і епоксидгідролази; дибунол (бутилокситолуол) і бутилоксианізол - ці ж трансферази і ферменти синтезу глутатиона; протиракові ліки - Р-глікопротеїн і синтез глутатіона; метали викликають нагромадження обох видів єднальних їхніх SH-речовин. У результаті зростає стійкість кліток і організму до отрут і ліків. Так, снотворна дія фенобарбітала поступово усе більше знижується. Курсове уведення фенобарбітала в немовлят збільшує зв'язування і, отже, знешкодження вільного білірубіна при спадкоємному дефекті цієї системи чи гемолитичній жовтяниці [2-5, 10]. При хіміотерапії злоякісних процесів початкова ефективність ліків часто поступово падають, більш того, розвивається множинна лікарська стійкість, тобто стійкість не тільки до цього засобу, але і цілому ряду інших. Речовини, інгибуючі Р-гликопротеин чи його індукцію і ферменти синтезу глутатиона, перспективні для підвищення ефективності хіміотерапії [9].

## 3.2. Здатність цитохромів Р450 до індукції

Одним з найважливіших властивостей компонентів монооксигеназної системи, зокрема цитохрома Р-450, є здатність до індукції під дією зовнішнього стимулу, у ролі якого можуть виступати ксенобіотики, визначені фізичні впливи, стрес. В окремих випадках екзогенні речовини индуцируют ферменти (у тому числі цитохроми Р-450) свого метаболізму, що важливо мати на увазі при прийомі лік, побічною дією яких є індукція ферментів власного метаболізму. Феномен індукції цитохромів Р450 є найважливішою складовою адаптивної відповіді на чужорідні з'єднання, що попадають у клітку. Це приводить до посилення детоксификационної функції організму з наступним виведенням ксенобіотика. Хронічне введення пацюкам барбітуратів поступово зменшувало час сну від цих препаратів через посилення їхнього метаболізму. Звідси був зроблений висновок, що дані метаболічні зміни викликані індукцією визначених форм цитохрома Р450. Процес індукції цитохромів Р450 синтетичними чи природними з'єднаннями зареєстрований у ссавців, птахів, риб, безхребетних, рослинах, дріжджах і бактеріях. Усе це свідчить про біологічну важливість цього явища.

Деякі цитохроми P-450 є високо індуцибельними: наприклад, експресія Р-450 1А1 може збільшуватися більш ніж у сто разів у печінці і багатьох інших тканинах під дією 2,3,7,8,-тетрахлородибензо-р-діоксина, 3-метилхолантрена чи інших поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАУ). Експресія Р-450 2Е1 у печінці зростає під впливом етанола, ацетону, ізоніазида, імідазола й інших речовин, а експресія цитохромів підродини 4А в печінки і нирках викликається клофібратом і іншими пероксисомальними пролифераторами. Ефективними індукторами Р-450 підродини 3А є макролідні антибіотики, синтетичні стероїди (наприклад, дексаметазон), і фенобарбітал (ФБ). ФБ разом з великою групою структурно різних хімічних сполук, може також збільшувати експресію індивідуальних членів підродин підродин цитохромів Р-450 2А, 2В и 2С як у лабораторних тварин, так і в людей (наприклад, індукція цитохромів Р-450 2С під дією ФБ у культурах людських гепатоцитов). Параметри індукції деяких цитохромів Р450 приведені в табл.

#### Табл. Індукція цитохромів Р450 різними з'єднаннями

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Форма Р450 | Типові індуктори | Механізм первинної індукції |
| 1А1 | Діоксин (ТХДД),  3-метилхолантрен | Активація транскрипції ліганд-активуємих Ah-рецептором |
| 1А2 | 3-метилхолантрен | Стабілізація мРНК |
| 2В1/2 | Фенобарбітал | Активація транскрипції під дією CAR-рецептора |
| 2Е1 | Етанол, ацетон, ізоніазид | Стабілізація білка |
| 3А1 | Дексаметазон | Активація транскрипції під дією PXR-рецептора |
| 3А1 | Триацетилоліндоміцин | Стабілізація білка |

Як видно з таблиці, ряд цитохромів Р450 активується при участі специфічних рецепторів. Лише для Р-450 1А1 і, відповідно, Ah-рецептора відомий детальний механізм дії. Для інших Р450, як правило, ідентифікований специфічний рецептор, але механізм дії до дійсного часу детально не описаний. Крім транскрипційного механізму індукції для цитохромів Р450 відомі також посттранскрипционние (стабілізація мРНК) і пострансляционние (стабілізація білка, модифікація ферменту) механізми. Останні характерні для цитохромів Р450 1А2, 2Е1 і 3А1.

## 3.3. Механізм індукції цитохрома Р450 1А1

Важливість вивчення цитохромів Р450 1А підродини в людини й експериментальних тварин обумовлена їхньою роллю в хімічно індукованому канцерогенезі. Саме ці ферменти здійснюють метаболическую активацію багатьох кацерогенних з'єднань, включаючи поліциклічні ароматичні вуглеводні, гетероциклические аміни, ароматичні аміну й інші з'єднання. У більшості видів ссавців 1А підродина складається з 2-х членів: 1А1 і 1А2 . CYP1A1 не виявляється в нормальній печінці, а експрессируется лише під впливом ксенобіотиків-індукторов, до яких відносяться ПАУ. Цитохроми Р450 1А1 і 1А2 здійснюють біоактивацию наступних прооксидантов і проканцерогенов: Р450 1А1 – бензапірена й інших ПАУ, Р450 1А2 – ПАУ, ароматичних амінів, нітрозоамінів, парацетамола, гетероциклічних амінів.

Для CYP1А1 характерний генетичний поліморфізм індуцибельності серед інбредних ліній мишей. Деякі лінії (наприклад, C57Bl/6) чуттєві до індукції ПАУ-з'єднаннями, тоді як інші (DBA/2) не відповідають на введення цих з'єднань.Такий поліморфізм зв'язаний з генетичним локусом Ah (Aryl Hydrocarbon Rесерtоr), що кодує білок, названий Ah-рецептором. З цим білком зв'язується хімічний індуктор. Канцерогенні ПАУ з'єднання, такі як МХ, - типові індуктори CYP1А1.

Лігандами для Ah яляются планарні молекули типу ПАУ. Пізніше був знайдений ще більш могутній індуктор, 2,3,7,8- тетрахлордибензо-р-діоксин (ТХДД), здатний через високу афинність до Ah-рецептора викликати індукцію в дозах, на порядок менших, чим для інших ПАУ. Наявність у клітці рецептора для з'єднання, зробленого людиною відносно недавно, залишається загадкою для дослідників. Можливо, що ТХДД мімікрирує якесь ендогенне природне з'єднання, здатне зв'язуватися з Ah-рецептором. Такі з'єднання були знайдені в деяких рослинах. Як показали експерименти з нокаутними мишами, можливо також існування й ендогенного ліганда, схожого за структурою з ТХДД. Під час відсутності індуктора Ah-рецептор зв'язан з білком теплового шоку hsp90, що являє собою компонент системи шейперонів, що регулюють стероїд - і діоксин-залежні шляхи передачі сигналу. У цьому випадку взаємодії білок-білок здійснюються через PAS-домен Ah-рецептора. Точна роль hsp90 в індукції CYP1А1 не визначена, хоча думають, що він підтримує конфігурацію Ah-рецептора в стані, що сприяє взаємодії з лігандом. У цитоплазмі Ah-рецептор і hsp90 також взаємодіють з білком 37-38кд, гомологічним FK506-єднальним білкам, що мають три тетратрикопептидних повтори. Посилення експресії цього білка супроводжується майже 2-х кратним посиленням індукції CYP1А1. Роль цього білка в індукції CYP1А1 також неясна. Можливо, він може впливати на взаємодію Ah-рецептора з лігандом і/чи сприяти його транслокації в ядро. Ah-рецептор відноситься до сімейства факторів транскрипції, названих “helix-loop-helix/PAS”, тобто спіраль-петля-спіраль, що містять PAS домен, завдяки якому здійснюється взаємодія з іншим білковим фактором ARNT (Ah Receptor Nuclear Translocator), що необхідно для активації транскрипції гена CYP1А. У результаті гетеродимеризації цих білків, що відбувається в ядрі, утвориться ДНК єднальний фактор транскрипції. ARNT експрессируется в багатьох тканинах. Нокаутні по цьому білку миші гинули на 10-ий день розвитку, що, можливо, відбиває участь ARNT як фактора транскрипції в сигнальній трансдукції.

Гетеродимеризації ARNT і Ah-рецептора здійснюється через HLH і PAS домени, у результаті чого позитивно заряджені області білків можуть розпізнати XRE елементи ДНК. Дослідження Днк-білкових взаємодій показало, що ARNT зв'язується з 5' GTG 3' областю ХRЕ, а Ah – із сусіднім нуклеотидом. Промотор містив трохи сайтов зв'язування для базальних факторів транскрипції, включаючи ТАТА-зв'язуючі білки (ТВР). Аналіз мутацій в області промотору показав, що Що ТВР- зв'язуючі сайти також необхідні для транскрипції гена CYP1А1. Коли енхансери неактивні, промотор не функціонує, отже, взаємодія білків із проксимальними елементами гена є индуцибельним і залежить від активації Ah-рецептора і ARNT білка. Ці результати представляються цікавими, тому що з них випливає кілька важливих висновків:

1. Промотор знаходиться під контролем енхансера;
2. Повинний існувати механізм, що підтримує промотор у неактивному стані;
3. Взаємодія енхансера з промотором є необхідним етапом в активації транскрипції гена CYP1А1.

Таким чином, Ah-рецептор і ARNT білок підсилюють транскрипцію гена CYP1А1. Показано також, що з XRE можуть взаємодіяти також молекули, що не відносяться до рецепторів. До дійсного часу сформувалося представлення про те, що події, що випливають після зв'язування комплексу с-Srс-аh-рецептор з лігандом, можуть протікати в двох незалежних напрямках:

1. Цей комплекс може транслоцироваться в ядро, як це вже було описано вище, і зв'язуватися зі специфічними XRE (DRE)-елементами;
2. Активація Ah-рецептора підсилює активність тирозинкіназ, у результаті чого зростає транспорт глюкози, підсилюються процеси фосфорилирования, а також активність липопротеинлипази. Цей, так називаний DRE-незалежний шлях відіграє істотну роль у розвитку токсических процесів, викликаних диоксинами й іншими ПАУ-з'єднаннями.

Існує також негативна регуляція, у тому числі в різних тканинах і видах тварин.

Було показано, що деякі ДНК-єднальні білки можуть конкурувати за зв'язування з цис-активними елементами.

Виявлені також цис-активні негативні елементи, що ингибируют конститутивну і індуцируєму транскрипцію гена CYP1А1. Молекулярні механізми цього явища залишаються нез'ясованими.

Крім того, що Ah-рецептор регулює експресію генів CYP1А, він також визначає токсичність багатьох ПАУ-соединений. Дослідження з вивчення залежності структура-активність з використанням інбредних ліній мишей, що розрізняються по чутливості до індукції цими з'єднаннями, показали, що багато хто з галогенованих поліциклічних вуглеводнів, зв'язуючись з Ah-рецептором, індуцирують не тільки CYP1А, але і виявляють високу токсичність.

Ці дані, доповнені експериментами з Ah-нокаутними мишами, що виявилися стійкими до токсичної дії ТХДД, підтвердили гіпотезу, що ксенобіотики, подібні ТХДД, реалізують біохімічні і токсичні ефекти через Ah-рецептор.

Наявність цього білка, зміст якого широко варіює для багатьох видів тварин і в багатьох тканинах, а також його здатність зв'язуватися з лігандами й активувати експресію багатьох генів, дало можливість припустити, що токсична дія ПАУ здійснюється через зміну експресії генів у чуттєвих клітках.

## 3.4. Конститутивна експресія цитохрома Р450 1А2 і його індукція

При індукції Пау-соединениями в печінці експериментальний тварин поряд з CYP1А1 реєструється інший білок цієї підродини – цитохром Р450 1А2. CYP1А2, на відміну від CYP1А1, конститутивно експресується в печінці експериментальних тварин і людини і, отже, метаболізуєт багато хімічних сполук без індукції. Субстратами для CYP1А2 є гетероциклічні аміни, ариламіни і нітрозоаміни. Останнім часом з'явилися докази участі цього ферменту в метаболізмі ендогенних з'єднань, у тому числі стероїдів.

Під дією таких індукторів, як ТХДД, МХ чи бензантрацен відбувається індукція CYP1А2, що супроводжувалося помітним збільшенням рівня мРНК, кількості білка, визначеного імуноферментним аналізом, а також посиленням фенацетин-о-діетилазної активності. Показано роль Ah-рецептора і ARNT білка в активації транскрипції гена CYP1А2.

СYР1А2, як і CYP1A1 може бути активований через Ah-рецептор. У 5'-фланкуючій області даного гена знайдені елементи, з якими зв'язується Ah-рецептор у комплексі з Arnt. Для цього гена також були ідентифіковані негативні і позитивні елементи. В експериментах з мишами, нокаутними по Ah-рецепторі (генотип Ah-/-) показане зниження конститутивного рівня мРНК СYР1А2 на 80% . Механізм конститутивної експресії залишається невідомим. Можливо, існує ендогенний ліганд, взаємодіючий з даним рецептором, оскільки в експериментах in vitro показано, що під час відсутності ліганда Ah-рецептор не здатний зв'язуватися з ДНК. З іншого боку, маються дані про те, що ксенобіотики, що не є високоафінними лігандами, чи взагалі що не є лігандами, наприклад омепразол, можуть змінювати експресію гена СYР1А2. Можливо, у подібних випадках Ah-рецептор активується без прямого зв'язування, приблизно генеруючи метаболіти з дуже коротким часом життя.

В даний час накопичуються докази загального сигнального шляху запуску транскрипції генів CYP1А різними з'єднаннями. Механізм активації конститутивної експресії цього гена через Ah-рецептор залишається невідомим. Одним з можливих пояснень може бути існування ендогенного ліганда, що взаємодіє з даним рецептором. З іншого боку, з'являється усе більше повідомлень про те, що індукція CYP1А2 може здійснюватися не тільки через Ah-рецептор. Точний механізм цього явища залишається на сьогоднішній день невідомим. Передбачається, що в таких випадках активізуються посттранскрипционние механізми стабілізації мРНК чи пострансляционная стабілізація білка через утворення комплексу фермент-індуктор.

## 3.5. Механізм індукції цитохромів Р450 2В, 2С і 3А барбитуратами

Цитохроми Р450 2В підродини катализируют метаболізм багатьох лікарських препаратів і інших ксенобіотиків з найрізноманітнішою хімічною структурою. Ідентифіковано такі гени цієї підродини, як: СYР2В1, СYР2В2, СYР2В3, СYР2В8, СYР2В14, СYР2В14Р; у кроликів: СYР2В4, СYР2В4Р, СYР2В5; у мишей: СYР2b-9, СYР2b-10, СYР2b-13, у людини: СYР2В6 і псевдоген СYР2В7Р.

У метаболізмі ксенобіотиків беруть участь головним чином СYР 2В1 і 2В2 білки.Каталітичні властивості цих ферментів і регуляція експресії генів істотно розрізняються. CYP2В1 активно метаболизирует широкий спектр липофильних ліків і стероїдів. CYP2В2 можуть метаболизировать ті ж субстрати, що і CYP2В1, однак, швидкість метаболізму помітно нижче. Обидва білки складаються з N-термінальних гідрофобних ділянок порядку 20 амінокислот, що служить для закріплення в мембрані; цис/гем сполучного пептиду; субстрат-сполучного ділянки і району, що взаємодіє з НАДФ-Н-цитохром Р450 редуктазой.

Фенобарбітал є прототипом великої групи структурно неспоріднених індукторів (органічні розчинники, пестициди, хлоровані бифенили і ліки), що впливають на багато клітинних процесів і викликають посилення експресії різних генів. Механізм індуцирующої дії ФБ широко дискутується і поки до кінця не ясний. Крім цього, невідомо, чи є дія індукторів ФБ-типу універсальної, як це описано для поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАУ), що мають планарну будову.

ФБ-подобними індукторами є ізосафрол, транс-стильбен оксид, алілізопропілацетамід, хлордан і інші хлорорганічні пестициди, різні фенотіазіни, неплоскі галогеновані біфеніли, і канцерогени, такі як ацетиламінофлуорен. При порівнянні ФБ із близькими барбітуратами рівень індукції тісно корелює з періодом напіврозпаду барбитурата в плазмі; речовини з низьким рівнем метаболізму і відповідно великим часом напіврозпаду є більш могутніми індуцирующими агентами.

У випадку ФБ, саме вихідна речовина, а не його основний метаболіт, р-гідроксифенобарбітал, очевидно, є індуктором. Фенобарбіталом индуцируются наступні підродини цитохромів: CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2H, CYP3A, CYP6A, CYP102/106. Індукція цитохрома Р450 барбитуратами прямо зв'язана з періодом напівжиття ліків в плазмі крові. ФБ індуцирує не тільки цитохроми Р450, але й інші ферменти, що беруть участь у метаболізмі ксенобіотиків: альдегид-дегідрогеназу, епоксидгідролазу, НАДФ-Н-цитохром Р450 редуктазу, УДФ-глюкуронілтрансферазу і деякі глютатіон S-трансферази. При цьому підсилюється також проліферація гладкого ЕПР, збільшується вага печінки. Крім того, ФБ є промотором раку. Усе перераховане вище говорить про плейотропну дію цих ліків на багато ферментативних систем клітки, але індуцируються найбільше ефективно цитохроми Р450 підродини 2В. На противагу генам CYP1А, у механізм індукції генів CYP2В вовлечени так називані орфанові рецептори, фізіологічні ліганди для яких залишаються невідомими. Ці білки належать до сімейства ядерних стероїдних рецепторів. Недавно був ідентифікований новий орфановий рецептор СА, що бере участь в активації генів CYP2В. Показано, що цей рецептор зв'язується з PBRE цис-активними елементами гена CYP2В2 лише у виді гетеродимера з ретиноидним рецептором RXR. Передбачається, що активація ДНК-єднальної здатності CAR білка може відбуватися за рахунок фенобарбітала, що може стимулювати транслокацию рецептора в ядро і його зв'язування з PBRE-елементами. Загальноприйнята на сьогоднішній день схема індукції фенобарбіталом, разработанна американським ученим Негіши. Можливо також існування іншого механізму, відповідно до якого CAR білок може знаходитися в ядрі, а ФБ лише підсилює його ДНК-єднальну здатність. Приклади для обох типів регуляції показані для інших ядерних рецепторів

Знайдено регуляторні ділянки генів - ФБ-відповідальні елементи (PBRs), з якими взаємодіють фактори транскрипції. Основний принцип цього механізму полягає в тому, що при ФБ-индукції відбувається дерепресія гена CYP через звільнення белка-репресора. Цей білок тримає в зв'язаному стані ділянку ДНК розміром 17 п.о., названий Барбі-бокс (Barbie box). Цікавий той факт, що подібна область з характерним мотивом АААГ була знайдена в генах ФБ-індуцируємих цитохромів Р450 ссавців: CYP 2В1, 2В2, 3А2, 2С1

## 3.6. Вплив індукторів на токсичність ксенобіотиків

Досить часте посилення метаболізму ксенобіотиків приводить до зниження їхньої токсичності.

Так, повторне уведення фенобарбітала білим пацюкам самцям приводить до збільшення резистентності тварин приблизно в півтора разу до таким високо токсичним ФОС, як зарин, зоман, ДФФ і ін. Знижується чутливість експериментальних тварин до ціанідів. Разом з тим токсичність інших речовин, при цьому, істотно зростає. Наприклад, підсилюється гепаттоксична дія алкалоїду монокротоліна і циклофосфаміда, канцерогенна активність 2-нафтиламіна. Внаслідок індукції підсилюється також токсичність чотирьоххлористого вуглецю, бромбензола, іприту й ін.

Іншим наслідком індукції може бути зміна співвідношення інтенсивності метаболізму ксенобіотиків у різних органах і тканинах, у результаті чого основним органом біоперетворення ксенобіотика в експериментальної тварини, що получали індуктори, стає інший орган, чим у інтактних тварин. Так, після введення пацюкам 3-метилхолантрена (індуктор) основним органом метаболізму 4-іпометанола (токсичний дериват фурана) стають не легені (як у нормі), а печінка.

Індуктори з групи похідних барбітурової кислоти здатні одночасно активувати синтез одних ізоферментов (наприклад, цитохром Р450 залежних оксидаз) і гнітити активність інших. У цьому зв'язку a priori важко пророчити наслідки впливу індукторів на токсичність ксенобіотиків.

У людини індукція микросомальних ферментів нерідко стає наслідком різних звичок (паління, прийом алкоголю і т.д.), професійного й екологічного контакту з речовинами (ПАУ, органічні розчинники, діоксини, галогеновані інсектициди і т.д.), тривалого прийому деяких ліків (барбітурати, антибіотики типу ріфампіцин і т.д.).

Тривале застосування фенобарбітала приводить до зміни пігментного метаболізму печінки. Багато інших лікарських препаратів, лікарські речовини, і продукти можуть підвищувати активність цитохрома Р450 і відповідно, змінювати час напівжиття ліків. Швидкість розвитку й оборотність індукції ферментів залежить від індуктора і швидкості синтезу нових ферментів. Цей адаптаційний процес відносно повільний і може займати від декількох днів до декількох місяців. Він також може прискорювати метаболізм самого індуктора - це ауто-індукція. Два препарати - індуктора широко застосовуються в практиці відділення інтенсивної терапії - це ріфампіцин і фенобарбітал. На відміну від фенобарбітала, розвиток дії якого як індуктора вимагає принаймні, декількох тижнів, ріфампіцин як індуктор діє швидко і таку його дію може бути виявлене вже через 2-4 дня і досягати свого максимуму через 6-10 днів. Індукція ферментів, викликана рифампицином, може приводити до більш виражених взаємодій з варфарином, циклоспорином, глюкокортикоїдами, кетоконазолом, теофіліном, хінідином, дигитоксином і верапамілом, що вимагає пильного спостереження за пацієнтом і частою корекцією доз препарату. Цитохром може також індуцироватися протисудомними препаратами, ріфампіцином, глюкокортикоїдами і деякими антибіотиками з групи макролідов. Це також може приводити до появи лікарських взаємодій.

Етанол індуцирує синтез P450-2E1 і тим самим збільшує токсичність парацетамола. Токсичність парацетамола збільшується і при лікуванні ізоніазидом, що також індуцирує синтез P450-2E1 [129].

Ріфампіцин і стероїди індуцирують P450-3А, метаболізуючий циклоспорин. Цим і порозумівається зниження рівня циклоспорина в крові при його прийомі у сполученні з зазначеними препаратами. За ділянку зв'язування изофермента P450-3А конкурують циклоспорин, FK506, еритроміцин і кетоконазол, тому при призначенні названих препаратів рівень циклоспорина в крові збільшується.

Омепразол индуцирует P450-1A [35]. Цей изофермент відіграє важливу роль у биотрансформації проканцерогенів, канцерогенів і багатьох лікарських речовин. Можливо, прийом омепразола збільшує ризик розвитку пухлин.

Зниження рівня кальциферола вітаміну D може привести до порушення кальцієвого метаболізму і спонтанних переломів кіст в облич літнього і старечого віку, що довгостроково одержує снотворні засоби, у тому числі ноксирон. Фенітоїн прискорює метаболізм глюкокортикоїдів, тестостерону і тироксину. Почато спробу використовувати препарати-індуктори, зокрема зиксорин, при захворюваннях печінки, жовтяниці немовлят.

У майбутньому стане можливим визначати профілі Р450 і виявляти обличчя з високим ризиком побічних реакцій на ліки. Для зміни профілю Р450 можна буде використовувати селективні інгібітори чи індуктори [217].

# Висновки

Якщо головний шлях елімінації препарату - метаболізм, то прискорення метаболізму приводить до зниження концентрації препарату в органах-мішенях. Велика частина лікарських речовин метаболізується в печінці - органі з великою клітинною масою, високим кровотоком і змістом ферментів. Перша реакція в метаболізмі багатьох препаратів каталізується мікросомальними ферментами печінки, зв'язаними з цитохромом Р450 і містяться в ендоплазматичному ретикулумі. Ці ферменти окисляють молекули лікарських засобів за допомогою різних механізмів - гідроксилювання ароматичного кільця, N-деметилювання, О-деметилювання і сульфоокисления. Молекули продуктів цих реакцій звичайно більш полярні, чим молекули їхніх попередників, і тому легше віддаляються нирками.

Експресія деяких ізоферментов цитохрома Р450 регулюється, і їхній вміст у печінці може збільшуватися під дією деяких лікарських засобів.

Типова речовину, що викликає індукцію мікросомальних ферментів печінки, - це фенобарбітал. Так само діють і інші барбитурати. Індуцируючий ефект фенобарбітала виявляється вже в дозі 60 мг/добу.

Індукцію микросомальних ферментів печінки викликають також ріфампіцин, карбамазепін, фенітоїн, глутетимід; вона спостерігається в курців, при впливі хлорвмісних інсектицидів типу ДДТ і постійному вживанні алкоголю.

Фенобарбітал, ріфампіцин і інші індуктори мікросомальних ферментів печінки викликають зниження сироваткової концентрації багатьох лікарських засобів, і в тому числі - варфарина, хінідина, мексилетина, верапаміла, кетоконазола, ітраконазола, циклоспорина, дексаметазона, метилпреднізолона, преднізолону (активного метаболіту преднізона), стероїдних пероральних контрацептивів, метадона, метронідазола і метирапона. Ці взаємодії мають велике клінічне значення. Так, якщо в хворого на тлі непрямих антикоагулянтів досягається належний рівень згортаємості крові, але одночасно він приймає який-небудь індуктор мікросомальних ферментів печінки, то при скасуванні останнього (наприклад, при виписці) сироваткова концентрація антикоагулянту зросте. У результаті може виникнути кровоточивость.

Існують значні індивідуальні розходження в індуцируємости ферментів метаболізму лікарських засобів. В одних хворих фенобарбітал різко підвищує цей метаболізм, в інших - майже не впливає.

Фенобарбітал не тільки викликає індукцію деяких изоферментов цитохрома Р450, але і підсилює печіночний кровоток, стимулює секрецію жовчі і транспорт органічних аніонів у гепатоцитах.

Деякі лікарські речовини можуть підсилювати також кон'югацію інших речовин з білірубіном.

Здатність ряду препаратів порушувати метаболізм інших лікарських речовин іноді використовується в медичній практиці. Прикладом тому є застосування дисульфирама при лікуванні алкоголізму. Цей препарат блокує руйнування ацетальдегіду, нагромадження якого в крові викликає в людини неприємні відчуття. Подібним чином діють метронідазол і похідні сульфанілсечовини. Гноблення біотрансформації однієї лікарської речовини іншим можливо й у тих випадках, коли в метаболізмі обох речовин беруть участь ті самі ферменти. Однак клінічне значення такого роду конкурентних взаємин препаратів поки остаточно не з'ясовано.

# Список використаної літератури

1. Верткин А.Л., Клиническая фармакология: Учебное пособие/А.Л. Верткин, С.Н. Козлов. - М.: ГЕОТАР - Медиа, 2007. - 461с.
2. Клиническая фармакология: Учебник / Под ред. В.Г. Кукеса. - 3-е изд. перераб. и доп. - М.: ГЕОТАР - Медиа, 2006. - 944с.
3. Клиническая фармакология: Учебник для вузов / Под ред. В.Д. Соколова. - М.: "Колос", 2002. - 464с.
4. Кузнецова Н.В., Клиническая фармакология: Учебник/Н.В. Кузнецова. - 2-е изд. перераб. и доп. - М.: ГЕОТАР - Медиа, 2009. - 271с.
5. Мешковский А.П. Надлежащая клиническая практика/А.П. Мешковский // Фармаптека. - 2008. - №12. - с.13-17.
6. Сидоренкова Н.Б., Манукян, А.В., Пронина, Н.В. Основы клинической фармакологии / Под ред. Н.Б. Сидоренковой. - Барнаул: Издательство АГМУ, 2003. - 337с.
7. Харкевич Д.А., Фармакология: учебник для медвузов / Д.А. Харкевич. - 8-е изд. перераб. и доп. - М.: ГЕОТАР - медиа, 2005. - 735с.