

Новые механизмы действия метформина на систему цитохрома P450

Андреева С.И.

ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва

Metformin represses drug – induced expression of CYP2B6 by the constitutive androstane receptor phosphorylation

Andreeva S.I.

Endocrinology Research Centre; Ul. Dmitriya Ulyanova dom 11, Moscow, Russia 117036

DOI: 10.14341/OMET2014360-61

В настоящее время метформин является основным сахароснижающим препаратом для лечения сахарного диабета 2 типа. Основной антигипергликемический эффект метформина – подавление печеночного глюконеогенеза и гликолиза. Однако сахарный диабет 2 типа, как правило, ассоциирован с другими сопутствующими заболеваниями и коморбидными состояниями, что требует полифармакологического лечения.

Американские исследователи под руководством Н. Wang в опытах *in vitro* показали, что метформин может воздействовать на метаболизм и клиренс лекарственных препаратов, являющихся субстратами гена CYP2B6 (ген системы цитохрома P450). В этом исследовании авторы доказали, что в гепатоцитах человека метформин мощно подавляет лекарственно – индуцированную экспрессию гена CYP2B6 (характерного таргетного гена CAR – конститутивного андростанового рецептора) за счет увеличения фосфорилирования CAR и его деактивации. CAR является ксенобиотическим сенсором, который регулирует транскрипцию многих печеночных ферментов и транспортеров и влияет на метаболизм и клиренс как эндобиотических, так и ксенобиотических веществ, включающих лекарственные препараты. В отличие от большинства ядерных рецепторов активация CAR может быть осуществлена как через прямой механизм (CITCO – [6-(4-хлорофенил) имидазо [2,1-бета] 1,3тиазол-5-карбальдегид о-(3,4 – дихлорбензил) оксим), так и через косвенный (PB – фенобарбитал). В гепатоцитах человека лечение PB и CITCO увеличило экспрессию мРНК CYP2B6 более чем в 25 раз по сравнению с группой контроля. В то же время индукция мРНК CYP2B6 была подавлена фармакологически соответствующим уровнем метформина. Экспрессия белка CYP2B6, индуцированная PB и CITCO, также была значительно подавлена присутствием метформина. Учитывая, что CITCO и PB – прямой и косвенный активаторы CAR, эти результаты демонстрируют, что метформин, скорее всего, воздействует на индукцию CYP2B6 через взаимодействие с CAR. В частности, совместное лечение с 1мМ метформина полностью отменяет PB и CITCO – опосредованную активацию CAR, а подавление индукции CYP2B6 происходит как на мРНК, так и на уровне белка.

Предыдущие исследования показали, что дефосфорилирование CAR (Thr-38) необходимо для ядерной транслокации и активации CAR. PB и CITCO уменьшают фосфорилирование CAR через 24 часа после начала лечения. В данном исследовании эффекты метформина на фосфорилирование CAR были оценены как во временной, так и концентрационной зависимости. Гепатоциты были обработаны метформином в концентрации 0,1, 0,5 и 1 мМ в течение 24 часов. Концентрационно – зависимое увеличение фосфорилирования CAR ясно наблюдалось при низком базальном уровне фосфорилированного CAR и, наоборот, минимальный эффект метформина был в случае с высоким базальным уровнем фосфорилированного CAR. Важно, что PB – опосредованное дефосфорилирование CAR эффективно восстанавливалось метформином в зависимости от его концентрации. В случае CITCO, совместное лечение с метформином увеличило фосфорилирование CAR, но не без зависимости от концентрации. Таким образом, авторы продемонстрировали подавление метформином активации CAR через увеличение фосфорилирования последнего.

Метформин является активатором AMPK (АМФ – активируемой протеинкиназы). PB и CITCO – опосредованная индукция CYP2B6 была значительно подавлена AICAR (прототипичным активатором AMPK). И наоборот, метформин – опосредованное подавление индукции CYP2B6 было частично восстановлено с помощью составляющей С (ингибитора AMPK). В сравнении с эффектами метформина, составляющая С в одиночку значительно уменьшала фосфорилирование AMPK и CAR. Метформин, наоборот, увеличивал фосфорилирование AMPK и CAR, что эффективно нарушалось присутствием составляющей С. Кроме того, PB и CITCO снижали фосфорилирование AMPK через 24 часа после начала лечения. В целом, эти результаты позволяют предположить, что увеличение фосфорилирования CAR, по крайней мере, частично зависит от активации AMPK.

Ранее сообщалось, что сигнальные пути ERK 1/2 (внеклеточная сигнал – регулируемая киназа – 1/2) и p38 MAPK (p38 митоген – активированная протеинкиназа) вовлечены в механизм фосфорилирования и активации CAR. В данном исследо-

вании лечение метформином (1 мМ) увеличивало количество фосфорилированных форм ERK 1/2, но уменьшало количество фосфорилированных форм p38 MAPK в гепатоцитах человека. Индукция экспрессии CYP2B6 ингибитором активации ERK 1/2 (U0126) подавлялась метформином в концентрационной зависимости. При этом, PB и CITCO — опосредованная индукция CYP2B6 ингибировалась метформином, но не SB202190 (ингибитором p38 MAPK). Эти результаты позволяют предположить, что в то время как активация ERK 1/2 может частично содействовать метформин — опосредованной супрессии CYP2B6, дефосфорилирование p38 MAPK в одиночку не является достаточным, чтобы изменить PB и CITCO — индуцированную экспрессию CYP2B6.

Совсем недавно EGFR (рецептор эпидермального фактора роста) был идентифицирован в качестве первоначальной цели для PB — опосредованной активации CAR, где PB напрямую связывает и нарушает сигнализацию EGFR, чтобы вызвать дефосфорилирование CAR. Авторы показали, что совместное лечение EGF (эпидермальным фактором роста) мощно уменьшает экспрессию мРНК CYP2B6, индуцированную PB и CITCO, в то время как, известный ингибитор EGFR, эртолиниб снижает фосфорилирование EGFR и индуцирует экспрессию CYP2B6 как на уровне мРНК, так и белка. Кроме того, метформин — опосредованное подавление экспрессии CYP2B6 не изменялось под влиянием

увеличивающихся доз эртолиниба, и, наоборот, метформин не воздействовал на экспрессию CYP2B6, индуцированную эртолинибом. Полученные данные указывают на то, что хотя EGFR сигнализация играет важную роль в фосфорилировании и активации CAR, метформин — опосредованная деактивация CAR является EGFR — независимым событием.

Ядерная трансактивация CAR осуществляется с помощью ко-активаторов. Метформин способен нарушать связывание CAR с коактиваторами. Кроме того, разобщение CAR и SRC1 (ко-активатор стероидного рецептора-1)/GRIP1 (белок 1, взаимодействующий с глюкокортикоидным рецептором) с помощью метформина было восстановлено посредством увеличения количества CITCO, но не PB. Вместе эти результаты, по мнению авторов работы, указывают на то, что метформин влияет на несколько стадий активации CAR, что по-разному связано с прямым и косвенным активаторами CAR.

Таким образом, авторы в данном исследовании доказали, что метформин мощно подавляет CITCO и PB — опосредованную индукцию экспрессии гена CYP2B6 посредством фосфорилирования и деактивации CAR через AMPK и ERK 1/2 — зависимые сигнальные пути. Но ни один из этих сигнальных путей в одиночку не способен справиться с мощным метформин — опосредованным подавлением экспрессии CYP2B6, предполагая наличие дополнительных сигнальных молекул, которые требуют дальнейшего изучения.

Реферат по материалам статьи

Yang H, Garzel B, Heyward S, Moeller T, Shapiro P, Wang H. Metformin represses drug-induced expression of CYP2B6 by modulating the constitutive androstane receptor signaling. *Mol Pharmacol* 2013;85(2):249-260. doi: 10.1124/mol.113.089763.