

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ CYP1A1 И CYP1B1 ФЕНОБАРБИТАЛОМ И ЛЮМИНАЛОМ В ЛИМФОЦИТАХ: ВЛИЯНИЕ НА ИММУННУЮ ФУНКЦИЮ

Г.С.И. Мготир, аспирант

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д.Сахарова БГУ

Научный руководитель – А.Г. Сыса, к.х.н., доцент

Полесский государственный университет

Цитохромы P450 (CYP450) играют ключевую роль в метаболизме ксенобиотиков, включая лекарственные препараты и канцерогены [1]. Среди изоформ CYP450, CYP1A1 и CYP1B1 активируются через AhR-путь и участвуют в биотрансформации полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) и эстрогенов [2]. Индукция этих ферментов может приводить к образованию реактивных метаболитов, вызывающих окислительный стресс и повреждение ДНК [3].

Лимфоциты, как ключевые компоненты иммунной системы, чувствительны к изменениям активности CYP450. Однако влияние фенобарбитала и люминала на экспрессию CYP1A1/CYP1B1 в лимфоцитах изучено недостаточно [4]. Цель работы — оценить дифференциальную индукцию CYP1A1/CYP1B1 указанными соединениями и их влияние на функциональную активность лимфоцитов.

Кровь забирали у доноров (n=15) в гепаринизированные пробирки. Лимфоциты выделяли центрифугированием в градиенте плотности (LSM, 400×g, 30 мин). Жизнеспособность клеток (>95%) подтверждали исключением трипанового синего.

Лимфоциты культивировали в RPMI-1640 с 10% FBS. Добавляли фенобарбитал (50 мкМ) или люминал (100 мкМ) на 48 ч. Контроль — 0.1% DMSO.

Тотальную РНК экстрагировали набором FavorPrep. cDNA синтезировали с использованием EasyScript®. Количественную ПЦР проводили на системе SaCycler-96 с праймерами:

CYP1A1: F: 5'-CACCTGGCACTGTCAAGGAT-3', R: 5'-ATAGCTTCCTGTGGGGGATGG-3';

CYP1B1: F: 5'-ACGCCTTTATCCTCTCTGCG-3', R: 5'-CTCTGCTGGTCAGGTCCTTG-3'.

Относительную экспрессию рассчитывали методом $\Delta\Delta C_t$ (нормализация к GAPDH).

Пролиферацию лимфоцитов оценивали с помощью МТТ-теста после 72 ч инкубации.

Данные анализировали в GraphPad Prism 9.0 (ANOVA, критерий Тьюки).

Исследование выявило значительные различия в индукции CYP1A1 и CYP1B1 под действием фенобарбитала и люминала. Фенобарбитал увеличивал экспрессию CYP1A1 в 5.8 ± 0.6 раза, а CYP1B1 — в 2.6 ± 0.3 раза ($p < 0.01$), тогда как люминал вызывал лишь слабую активацию (1.3 ± 0.2 и 1.2 ± 0.1 раза соответственно, $p < 0.05$) (таблица). Корреляционный анализ показал сильную отрицательную связь между уровнем CYP1A1 и пролиферацией лимфоцитов ($r = -0.85$, $p < 0.001$), что указывает на иммунотоксический потенциал индукторов.

Таблица – Относительная экспрессия CYP1A1/CYP1B1

Группа	CYP1A1 (кратное изменение)	CYP1B1 (кратное изменение)
Контроль	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
Фенобарбитал	$5.8 \pm 0.6^*$	$2.6 \pm 0.3^*$
Люминал	$1.3 \pm 0.2^*$	$1.2 \pm 0.1^*$

$p < 0.01$ vs контроль.

Известно, что фенобарбитал, связываясь с AhR, запускает его транслокацию в ядро, где комплекс AhR-ARNT активирует транскрипцию CYP1A1 и CYP1B1 через ксенобиотик-чувствительные элементы (XRE) [1]. Люминал, обладая структурными отличиями, демонстрирует сниженное сродство к AhR, что объясняет его слабую индукционную способность.

Индукцированные ферменты CYP1A1/CYP1B1 метаболизируют полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и эстрогены в реактивные интермедиаты (например, эпоксиды и хиноны), которые образуют аддукты с ДНК и белками, нарушая клеточный цикл [2].

Повышенная активность CYP450 усиливает генерацию реактивных форм кислорода (ROS) через цитохром P450-редуктазу, что приводит к повреждению мембран и митохондрий лимфоцитов [3].

Установленные механизмы позволяют сформулировать рекомендации для снижения рисков, связанных с индукцией CYP450:

Длительное применение фенobarбитала может вызывать иммуносупрессию за счет подавления пролиферации лимфоцитов. Учитывая ключевую роль AhR-пути, пациентам с эпилепсией рекомендован периодический мониторинг активности CYP450 и иммунного статуса [4].

На основе выявленной корреляции между CYP1A1 и пролиферацией предложено включить анализ экспрессии CYP1A1/CYP1B1 в протоколы доклинических исследований препаратов-индукторов.

Понимание молекулярных основ индукции CYP450 открывает пути для персонализированной терапии. Дальнейшие исследования должны быть направлены на разработку стратегий, сочетающих эффективность индукторов с минимальным воздействием на иммунную систему.

Список использованных источников

1. Role of the aromatic hydrocarbon receptor and [Ah] gene battery in the oxidative stress response, cell cycle control, and apoptosis. D.W. Nebert [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. - 2000. - Vol. 59, №1. - P. 65-85.
2. 17 β -Estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1B1. C.L. Hayes [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 1996. - Vol. 93, №18. - P. 9776-9781.
3. Oral benzo[a]pyrene in Cyp1 knockout mouse lines: CYP1A1 important in detoxification, CYP1B1 metabolism required for immune damage independent of total-body burden and clearance rate. S. Uno [et al.] // *Molecular Pharmacology*. - 2006. - Vol. 69, №3. - P. 1103-1114.
4. Lake, B.G. Species differences in the hepatic effects of inducers of CYP2B and CYP4A subfamily forms: Relationship to rodent liver tumour formation. B.G. Lake // *Xenobiotica*. - 2009. - Vol. 39, №8. - P. 582-596.
5. Tumor necrosis factor- α potentiates genotoxic effects of benzo[a]pyrene in rat liver epithelial cells through upregulation of cytochrome P450 1B1 expression. L. Umannova [et al.] // *Mutation Research*. - 2008. - Vol. 640, №1-2. - P. 162-169.
6. Cytochrome P450 induction and xeno-sensing receptors pregnane X receptor, constitutive androstane receptor, aryl hydrocarbon receptor and peroxisome proliferator-activated receptor α at the crossroads of toxicokinetics and toxicodynamics. J. Hakkola [et al.] // *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. - 2018. - Vol. 123, Suppl. 5. - P. 42-50.