

## **Влияние нейротропных препаратов на активность лейкоцитарной эластазы в сыворотке крови человека *in vitro***

**Зозуля С.А., Соколов О.Ю., Кост Н.В.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья».  
115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34

## **Effect of neurotropic drugs on the activity of leukocyte elastase in human serum *in vitro***

**Zozulya S.A., Sokolov O.Yu., Kost N.V.**

Mental Health Research Center,  
Kashirskoye shosse 34, Moscow 115522, Russian Federation

Согласно современным представлениям, активация воспалительных реакций является одним из патогенетических механизмов эндогенных психических заболеваний. Важную роль в воспалении играют нейтрофилы, азурофильные гранулы которых содержат лейкоцитарную эластазу (ЛЭ) — неспецифический фермент, выбрасываемый из клеток при их дегрануляции в очаге воспаления. ЛЭ гидролизует структурные белки эластина и коллаген, а также обладает протеолитической активностью в отношении большого числа белков плазмы крови, включая факторы гемокоагуляции, фибринолиза, калликреин-кининовой системы и комплемента. В организме человека существуют эндогенные ингибиторы ЛЭ, основным из которых является  $\alpha$ 1-протеиназный ингибитор ( $\alpha$ 1-ПИ). При некоторых формах психических заболеваний наблюдается повышение активности ЛЭ, которое, как правило, снижается в ходе фармакотерапии [1]. Можно предположить, что нейротропные препараты могут оказывать непосредственное влияние и на активность ЛЭ.

**Цель исследования:** оценить эффект нейротропных препаратов (антипсихотики, антидепрессанты, транквилизаторы, ноотропы, иммуномодуляторы, пептиды, НПВП) на активность ЛЭ в сыворотке крови человека *in vitro*.

**Материалы и методы.** Сыворотку крови 15 здоровых доноров (средний возраст  $25.0 \pm 3,5$  лет) пулировали, разливали на аликвоты и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Активность ЛЭ определяли по скорости гидролиза субстрата ВОС (ВОС-Ala-ONp) (Sigma, США) по методу, предложенному Доценко В.Л. [2]. Инкубацию проводили 3 минуты при комнатной температуре в 50мМ PBS pH 6.5. Активность  $\alpha$ 1-ПИ определяли по степени торможения ВАЕЕ-эстеразной активности трипсина (Sigma, США) [3].

Были использованы следующие нейротропные препараты: антипсихотики типичные — галоперидол, ами-

назин (хлорпромазин), сульпирид; атипичные — тералиджен (алимемазин), оланзапин, реагила (карипразина гидрохлорид), зелдокс (зипрасидон); антидепрессанты — амитриптилин, кломипрамин; транквилизаторы — реланиум (диазепам), феназепам (бромдигидрохлорфенилбензодиазепин); препараты, улучшающие мозговое кровообращение — кавинтон (винпоцетин); нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) — диклофенак (диклофенак натрия); пептиды — HLDF, Pro-Gly-Pro; иммуномодуляторы — галавит (аминодигидрофталиндион натрия), трегалоза. Каждый эксперимент проводили в триплетах с 3–4 повторами.

**Результаты.** Поскольку используемые аптечные формы препаратов содержали консерваторы (аскорбиновая кислота), стабилизаторы и соли, на предварительном этапе исследования оценивали способность этих компонентов влиять на активность ЛЭ. В результате проведенного исследования эффекта компонентов аптечных форм в концентрации до 1 мМ на активность ЛЭ обнаружено не было.

На первом этапе была исследована зависимость скорости гидролиза ВОС от его исходной концентрации (кривая Михаэлиса-Ментен) при различных концентрациях сыворотки. Были подобраны оптимальные условия, при которых скорость реакции соответствовала  $V_{\text{max}}/2$ : концентрация ВОС — 2 мМ, разведение сыворотки — 1:25. Такие условия позволяли оценить как ингибирующее, так и активирующее действие исследуемых веществ на активность ЛЭ.

Было обнаружено, что ингибирующим эффектом на активность ЛЭ *in vitro* обладали: реланиум ( $IC_{50}$  1 мМ), диклофенак ( $IC_{50}$  200 мкМ) и галавит ( $IC_{50}$  50 мкМ). Использованные концентрации препаратов были сопоставимы с терапевтическим диапазоном концентраций *in vivo* (0,05–1 мМ).

Некоторые препараты обладали активирующим эффектом в отношении ЛЭ. Обнаружена способность ан-

типсихотиков аминазина и тералиджена, а также ноотропа кавинтона дозозависимо (0.01–1 мМ) в 2–3 раза повышать активность ЛЭ. Влияния остальных исследованных препаратов на активность ЛЭ *in vitro* не обнаружено.

Предполагается, что активирующий эффект препаратов на активность ЛЭ в сыворотке крови может быть связан с их влиянием на комплекс эластаза-ингибитор, вызывающим разрушение данного комплекса, и со снижением активности эндогенных ингибиторов ЛЭ, присутствующих в реакционной смеси. В связи с этим, на втором этапе была исследована способность этих препаратов влиять на активность  $\alpha$ 1-ПИ.

Метод определения активности  $\alpha$ 1-ПИ оценивает ингибирующую активность сыворотки по способности ингибировать трипсин. Аналогичная способность была исследована для препаратов, активирующих ЛЭ. Для этого была построена кривая Михаэлиса-Ментен для гидролиза ВАЕЕ трипсином и выбраны оптимальные соотношения фермента и субстрата: реакционная смесь содержала PBS pH 6.5, 50мМ ВАЕЕ и 0,5 мг/мл трипсина. Смесь предварительно инкубировали в течение 3 мин.

Было показано, что в концентрации 1 мМ аминазин, тералиджен и кавинтон не оказывали влияния на активность трипсина. Поэтому было исследовано влияние этих препаратов на трипсинингибирующую активность сыворотки (разведение 1:50). В результате был обнаружен выраженный дозозависимый эффект тералиджена на способность сыворотки ингибировать трипсин ( $IC_{50}$  50 мкМ), т.е. на активность  $\alpha$ 1-ПИ. Таким образом, можно предположить, что активирующий эффект

тералиджена на ЛЭ сыворотки крови связан с его влиянием на комплекс ЛЭ –  $\alpha$ 1-ПИ. В свою очередь, аминазин и кавинтон подобной активностью не обладали. Можно предположить, обнаруженный активирующий эффект этих препаратов на активность ЛЭ связан с их влиянием на комплекс эластазы с другим эндогенным ингибитором, в частности, с  $\alpha$ 2-макроглобулином, что требует проведения дополнительных исследований.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о разнонаправленном влиянии нейротропных препаратов на активность ЛЭ в эксперименте *in vitro*. Выявленный выраженный ингибирующий эффект реланиума, диклофенака и иммуномодулятора галавита на активность фермента, предположительно, может свидетельствовать об их противовоспалительной активности при использовании *in vivo*. Активирующим эффектом на активность ЛЭ обладают аминазин, тералиджен и кавинтон. Однако, их доказанный терапевтический эффект, вероятно, связан с другими механизмами.

### Список литературы

1. Зозуля С.А., Тихонов Д.В., Каледа В.Г., Ключник Т.П. Иммуновоспалительные маркеры становления ремиссии после первого психотического приступа в юношеском возрасте. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2021; 121(6): 59–66. DOI: 10.17116/jnevro202112106159
2. Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Яровая Г.А. Выявление лейкоцитарной эластазы человека из комплекса с плазменным  $\alpha$ 1-протеиназным ингибитором по её энзиматической активности с синтетическим субстратом. *Вопросы медицинской химии*. 1994; 40(3): 20–25.
3. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности  $\alpha$ 1-антитрипсина и  $\alpha$ 2-макроглобулина активности в сыворотке крови человека (плазмы). *Вопросы медицинской химии*. 1979; 25(4): 494–499.