А.Д. Кручинина

Активность пептидил-дипептидазы *A* в отделах мозга крыс при однократном введении флуоксетина

В статье рассмотрена проблема депрессий, ставшая актуальной в связи с высокой распространенностью психических расстройств. Депрессию связывают со снижением уровня моноаминов, активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, повышением содержания цитокинов и изменением уровня регуляторных пептидов в мозге. Выявлено, что основным фактором, приводящим к развитию заболевания, является стресс. Для его лечения в настоящее время широко применяется селективный ингибитор обратного захвата серотонина — флуоксетин. Поскольку депрессия и сердечно-сосудистые патологии тесно связаны между собой, предполагается реализовать вовлеченность пептидил-дипептидазы *A* в патогенез данных заболеваний. Таким образом, антидепрессантный эффект препаратов может быть обусловлен изменением активности фермента. Данная работа направлена на изучение активности пептидил-дипептидазы А в отделах мозга крыс через 12 часов, 24 часа и 72 часа после однократного введения флуоксетина.

Ключевые слова: пептидил-дипептидаза *A*; серотонин; флуоксетин; регуляторные пептиды; депрессия.

В настоящее время отмечено ежегодное увеличение количества пациентов с психическими расстройствами. Самым распространенным из них является депрессия, приводящая к утрате трудоспособности взрослого населения [1]. В связи с этим, проблема депрессий становится одной из центральных в психиатрической и общемедицинской практике.

Рост заболеваемости связывают с повышением уровня стрессовых нагрузок на организм человека. Так, хронический стресс вызывают дезадаптивные изменения в цепи нейротрансмиттеров, ответственных за клиническое проявление патологии [7]. Данные о снижении уровня серотонина, норадреналина и дофамина и их метаболитов в цереброспинальной жидкости пациентов послужили толчком к развитию моноаминовой гипотезы депрессии [10]. И именно повышение концентрации моноаминов в синаптической щели лежит в основе антидепрессантного действия применяемых в терапии заболевания селективных ингибиторов обратного нейронального захвата [11]. Однако существующие способы лечения не всегда оказываются эффективными, что, по-видимому, свидетельствует о вовлеченности других систем организма в патогенез депрессии.

Так, с возникновением симптомов заболевания связаны нарушения глутаматергической, ГАМКергической нейротрансмиссии [3]. Главным эндокринным нарушением является активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [3], сопровождающаяся повышением уровня кортикотропин-рилизинг фактора, АКТГ и кортизола в период депрессивного эпизода, который нормализуется после клинической ремиссии. Причем, степень нарушения коррелирует с тяжестью заболевания и с числом предшествующих депрессивных эпизодов. Гиперсекреция цитокинов может вносить вклад в развитие депрессивных расстройств посредством стимуляции нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса, содержащих кортикотропин-рилизинг фактор [15]. Также, провоспалительные цитокины обладают свойством понижать внеклеточную концентрацию моноаминов, что может приводить к возникновению симптомов заболевания [15].

В настоящее время для лечения депрессии широко применяются препараты из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, наиболее известным из которых является флуоксетин [11]. Помимо повышения концентрации серотонина в синаптической щели при длительном приеме препарата обнаружено его влияние на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось [18] и обмен цитокинов [17].

Поскольку регуляция работы нервной, эндокринной и иммунной систем осуществляется посредством биологически активных пептидов, актуальным является изучение роли компонентов пептидергической системы в патогенезе депрессии и терапии антидепрессантами. Так, установлены изменения содержания регуляторных пептидов в мозге и крови пациентов с симптомами заболевания [12], при этом их уровень напрямую зависит от активности ферментов процессинга пептидов.

Пептидил-дипептидаза *A* играет важную роль в развитии депрессии и сердечно-сосудистых заболеваний [16]. Данный фермент, катализирующий реакцию образования ангиотензина II из ангиотензина I путем отщепления С-концевого дипептида, также регулирует обмен брадикинина, вещества *P*, холецистокинина, окситоцина, вазопрессина и т.д. [6]. Выявлено, что полиморфизм гена пептидил-дипептидазы *A rs*4291 приводит к развитию депрессии, при этом выраженность симптомов коррелирует с уровнем ангиотензина II в плазме крови [5]. Увеличение содержания ангиотензина II и активация АТ1-рецепторов вызывают запуск механизмов воспаления, приводящих к повышению уровня цитокинов, активных форм кислорода, простагландинов и *NO* [9].

Таким образом, целью данной работы явилось изучение активности фермента обмена регуляторных пептидов пептидил-дипептидазы *A* в отделах мозга крыс через 12 часов, 24 часа и 72 часа после однократного введения флуоксетина.

Исследование было проведено на 42 самцах белых беспородных крыс массой 200−250 г. Флуоксетин вводили внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг.

Контрольным животным вводили равный объем 0,9 % *NaCl*. Через 12 часов, 24 часа и 72 часа после инъекции проводили декапитацию животных под хлороформным наркозом. Отделы мозга гомогенизировали в натрий-ацетатном буфере ($pH = 5,6$) при температуре 4 °С, и в полученном гомогенате определяли удельную активность пептидил-дипептидазы *А*.

Содержание *Gly-Arg* определяли нингидриновым методом, при этом пробы колориметрировали на КФК-3 на длине волны 590 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см. Активность исследуемого фермента определяли по разности оптической плотности проб, не содержащих и содержащих каптоприл, и выражали в нмоль продукта, образовавшегося за 1 минуту инкубации на 1 мг белка [4]. Количество белка определяли по *Lowry* [13].

Статистическую обработку полученных данных проводили с привлечением *t*-критерия Стьюдента. Достоверными считали результаты при $p < 0,05$ [2].

Результаты исследования активности пептидил-дипептидазы *А* в отделах мозга крыс при введении флуоксетина представлены на рисунке 1.

В гипофизе активность фермента через 12 часов после инъекции снижалась на 26 %, через 24 часа и 72 часа увеличивалась в три раза и на 26 % соответственно по сравнению с контролем. В четверохолмии через 12 часов после введения активность исследуемого фермента не изменялась, а через 24 часа, 72 часа возрастала в 2,5 и 5,5 раз. В продолговатом мозге активность пептидил-дипептидазы *А* через 12 часов не изменялась, через 24 часа и 72 часа снижалась на 54 % и 31 % относительно контроля. В гипоталамусе активность фермента увеличивалась в 2 раза, 3,8 раза, 2,5 раза через 12 часов, 24 часа, 72 часа соответственно. В гиппокампе увеличение активности наблюдалось к 24 часам и 72 часам после инъекции на 34 % и в 2,4 раза соответственно. В амигдале активность пептидил-дипептидазы *А* снижалась на 45 %, 40 %, 66 % через 12 часов, 24 часа, 72 часа относительно контроля. В стриатуме повышение активности отмечено в 2 раза и в 2,4 раза через 12 часов и 24 часа по сравнению с контролем.

По-видимому, в ответ на стрессовое воздействие, которым является внутрибрюшинное введение препарата, происходит активация стресс-протекторных систем организма животного. При этом пептидергическая система принимает непосредственное участие в данных процессах. Вероятно, развитие адаптивных изменений в организме тесно связано с изменением уровня ряда регуляторных пептидов, который напрямую зависит от активности ферментов их обмена.

В результате исследования выявлено, что однократное внутрибрюшинное введение флуоксетина оказывает влияние на активность пептидил-дипептидазы *А* в исследуемых структурах мозга крыс. Повышение активности исследуемого фермента может приводить к увеличению уровня ангиотензина II, который, в свою очередь, стимулирует секрецию аргинин-вазопрессина и окситоцина гипоталамусом, что вызывает активацию гипоталамо-гипофизарно-

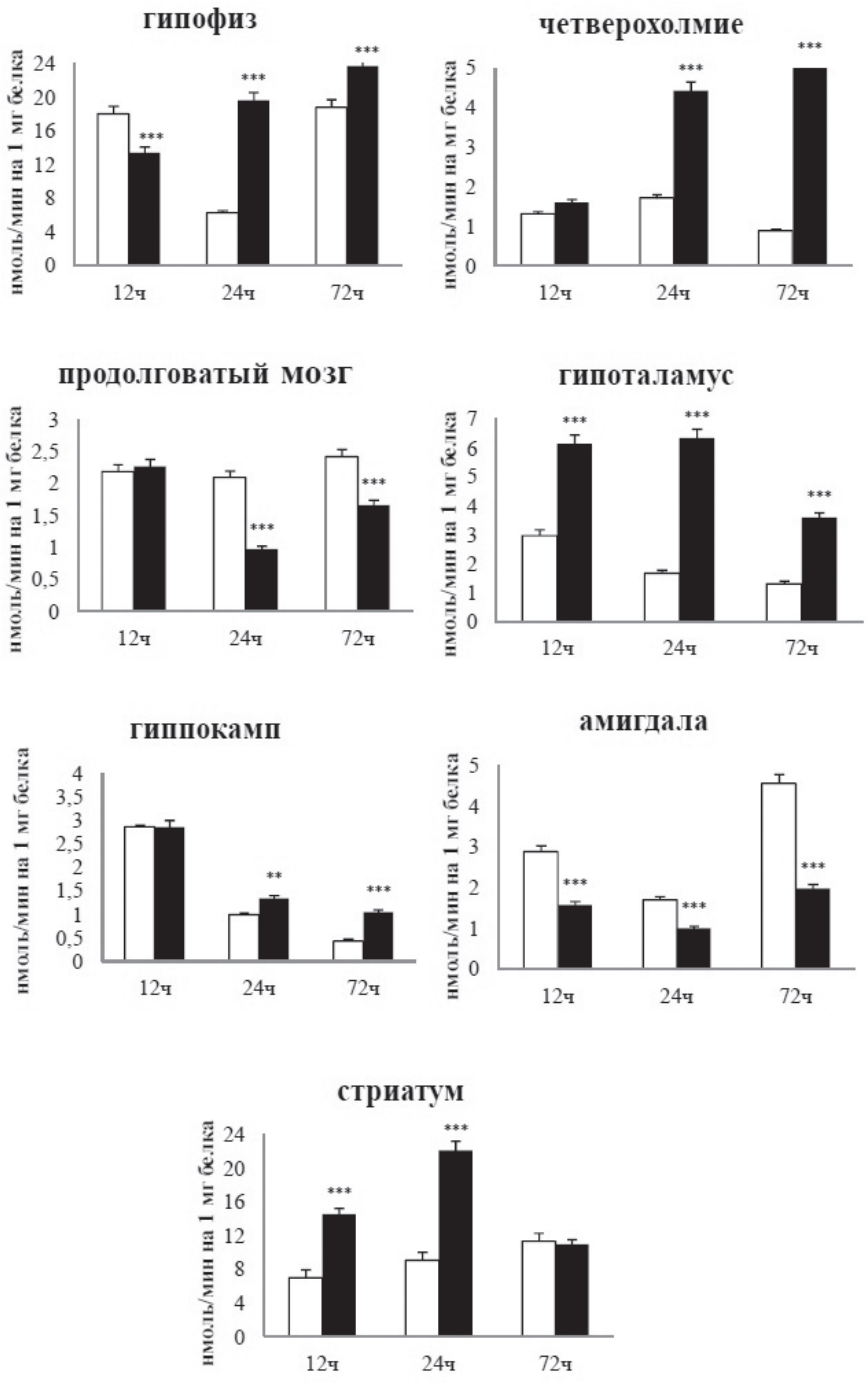

Рис. 1. Активность пептидил-дипептидазы *A* при однократном введении флуоксетина в отделах мозга крыс (нмоль продукта, образовавшегося за 1 минуту инкубации на 1 мг белка, $M \pm m$, $n = 4 – 6$):

□ — контроль, ■ — флуоксетин 10 мг/кг,
** — $p < 0{,}01$, *** — $p < 0{,}001$ относительно контроля

надпочечниковой оси [14]. Этим может быть объяснен анксиогенный эффект флуоксетина, возникающий при кратковременном приеме препарата [8].

По-видимому, эффект препаратов, применяемых для лечения депрессии, может быть обусловлен изменением активности ферментов обмена регуляторных пептидов и, как следствие, изменением уровня биологически активных пептидов, вовлеченных в развитие заболевания. Таким образом, компоненты пептидергической системы можно рассматривать в качестве терапевтических мишеней для коррекции патологического состояния.

Литература

1. *Елисеев Ю.Ю.* Психосоматические заболевания. Полный справочник. М.: Эксмо, 2003. 608 с.

2. *Лакин Г.Ф.* Биометрия: учебное пособие для биол. спец. вузов. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

3. *Мосолов С.Н.* Современные биологические гипотезы рекуррентной депрессии (обзор) // Журнал неврологии и психиатрии. 2012. Т. 11. № 2. С. 29–40.

4. *Соловьев В.Б., Генгин М.Т.* Активность пептидилдипептидазы *A* и карбоксипептидазы *N* в сыворотке крови пациентов с болезнью Альцгеймера // Укр. біохім. журн. 2007. Т. 79. № 6. С. 106−108.

5. *Baghai T.C., Binder E.B., Schule C., Salyakina D., Eser D., Lucae S., Zwanzger P., Haberger C., Zill P., Ising M., Deiml T., Uhr M., Illig T., Wichmann H.E., Modell S., Nothdurfter C., Holsboer F., Müller-Myhsok B.,. Möller H.J, Rupprecht R., Bondy B.* Polymorphisms in the angiotensin-converting enzyme gene are associated with unipolar depression, ACE activity and hypercortisolism // Mol Psychiatry. 2006. V. 11. № 11. P. 1003–1015.

6. *Baudin B.* New aspects on angiotensin-converting enzyme: from gene to disease // Clin Chem Lab Med. 2002. V. 40. № 3. P. 256–265.

7. *Castren E.* Is mood chemistry? // Nat Rev Neurosci. 2005. V. 6. № 3. P. 241−246.

8. *Gomez F., Venero C., Viveros M.P., García-García L.* Short-term fluoxetine treatment induces neuroendocrine and behavioral anxiogenic-like responses in adolescent male rats // Exp Brain Res. 2015. V. 233. № 3. P. 983−995.

9. *Guo F., Chen X.L., Wang F., Liang X., Sun Y.X., Wang Y.J.* Role of angiotensin II type 1 receptor in angiotensin II-induced cytokine production in macrophages // Interferon Cytokine Res. 2011. V. 31. № 4. P. 351−361.

10. *Hirschfeld R.M.* History and evolution of the monoamine hypothesis of depression // J Clin Psychiatry. 2000. V. 61. № 6. P. 4−6.

11. *Humble M.* Noradrenaline and serotonin reuptake inhibition as clinical principles: a review of antidepressant efficacy // Acta Psychiatr Scand Suppl. 2000. V. 402. P. 28−36.

12. *Kormos V., Gaszner B.* Role of neuropeptides in anxiety, stress, and depression: from animals to humans // Neuropeptides. 2013. V. 47. № 6. P. 401–419.

13. *Lowry O.H., Rosebrought N.J., Farr A.G., Randall R.J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. № 1. P. 265–275.

14. *Reis W.L., Giusti-Paiva A., Ventura R.R., Margatho L.O., Gomes D.A., Elias L.L., Antunes-Rodrigues J.* Central nitric oxide blocks vasopressin, oxytocin and atrial natriuretic peptide release and antidiuretic and natriuretic responses induced by central angiotensin II in conscious rats // Exp Physiol. 2007. V. 92. № 5. P. 903−911.

15. *Schiepers O.J., Wichers M.C., Maes M.* Cytokines and major depression // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2005. V. 29. № 2. P. 201-217.

16. *Taylor W.D, Aizenstein H.J., Alexopoulos G.S.* The Vascular Depression Hypothesis: Mechanisms Linking Vascular Disease with Depression // Mol Psychiatry. 2013. V. 18. № 9. P. 963–974.

17. *Valera E., Ubhi K., Mante M., Rockenstein E., Masliah E.* Antidepressants reduce neuroinflammatory responses and astroglial alpha-synuclein accumulation in a transgenic mouse model of multiple system atrophy // Glia. 2014. V. 62. № 2. P. 317−337.

18. *Ventura-Junca R., Symon A., Lopez P., Fiedler J.L., Rojas G., Heskia C., Lara P., Marín F., Guajardo V., Araya A.V., Sasso J., Herrera L.* Relationship of cortisol levels and genetic polymorphisms to antidepressant response to placebo and fluoxetine in patients with major depressive disorder: a prospective study // BMC Psychiatry. 2014. V. 14. P. 220.

Literatura

1. *Eliseev U.U.* Psixosomaticheskie zabolevaniya. Polnij spravochnik. M.: E'xmo, 2003. 608 s.

2. *Lakin G.F.* Biometriya. M.: Vischaya shkola, 1990. 352 s.

3. *Mosolov S.N.* Sovremennie biologicheskie gipotezi rekkurentnoj depressii (obzor) // Zhurnal nevrologii i psixiatrii. 2012. T. 11. № 2. S. 29–40.

4. *Solov'ew V.B., Gengin M.T.* Aktivnost' peptidildipeptidazy' *A* i carboksipeptidazy' *N* v sy'vorotke krovi pacientov s bolezn'yu Al'czgejmera // Ukr. bioxim. zhurn. 2007. T. 79. № 6. C. 106−108.

5. *Baghai T.C., Binder E.B., Schule C., Salyakina D., Eser D., Lucae S., Zwanzger P., Haberger C., Zill P., Ising M., Deiml T., Uhr M., Illig T., Wichmann H.E., Modell S., Nothdurfter C., Holsboer F., Müller-Myhsok B.,. Möller H.J, Rupprecht R., Bondy B.* Polymorphisms in the angiotensin-converting enzyme gene are associated with unipolar depression, ACE activity and hypercortisolism // Mol Psychiatry. 2006. V. 11. № 11. P. 1003–1015.

6. *Baudin B.* New aspects on angiotensin-converting enzyme: from gene to disease // Clin Chem Lab Med. 2002. V. 40. № 3. P. 256–265.

7. *Castren E.* Is mood chemistry? // Nat Rev Neurosci. 2005. V. 6. № 3. P. 241−246.

8. *Gomez F., Venero C., Viveros M.P., García-García L.* Short-term fluoxetine treatment induces neuroendocrine and behavioral anxiogenic-like responses in adolescent male rats // Exp Brain Res. 2015. V. 233. № 3. P. 983−995.

9. *Guo F., Chen X.L., Wang F., Liang X., Sun Y.X., Wang Y.J.* Role of angiotensin II type 1 receptor in angiotensin II-induced cytokine production in macrophages // Interferon Cytokine Res. 2011. V. 31. № 4. P. 351−361.

10. *Hirschfeld R.M.* History and evolution of the monoamine hypothesis of depression // J Clin Psychiatry. 2000. V. 61. № 6. P. 4−6.

11. *Humble M.* Noradrenaline and serotonin reuptake inhibition as clinical principles: a review of antidepressant efficacy // Acta Psychiatr Scand Suppl. 2000. V. 402. P. 28−36.

12. *Kormos V., Gaszner B.* Role of neuropeptides in anxiety, stress, and depression: from animals to humans // Neuropeptides. 2013. V. 47. № 6. P. 401–419.

13. *Lowry O.H., Rosebrought N.J., Farr A.G., Randall R.J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. № 1. P. 265–275.

14. *Reis W.L., Giusti-Paiva A., Ventura R.R., Margatho L.O., Gomes D.A., Elias L.L., Antunes-Rodrigues J.* Central nitric oxide blocks vasopressin, oxytocin and atrial natriure-

tic peptide release and antidiuretic and natriuretic responses induced by central angiotensin II in conscious rats // Exp Physiol. 2007. V. 92. № 5. P. 903–911.

15. *Schiepers O.J., Wichers M.C., Maes M.* Cytokines and major depression // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2005. V. 29. № 2. P. 201-217.

16. *Taylor W.D, Aizenstein H.J., Alexopoulos G.S.* The Vascular Depression Hypothesis: Mechanisms Linking Vascular Disease with Depression // Mol Psychiatry. 2013. V. 18. № 9. P. 963–974.

17. *Valera E., Ubhi K., Mante M., Rockenstein E., Masliah E.* Antidepressants reduce neuroinflammatory responses and astroglial alpha-synuclein accumulation in a transgenic mouse model of multiple system atrophy // Glia. 2014. V. 62. № 2. P. 317–337.

18. *Ventura-Junca R., Symon A., Lopez P., Fiedler J.L., Rojas G., Heskia C., Lara P., Marín F., Guajardo V., Araya A.V., Sasso J., Herrera L.* Relationship of cortisol levels and genetic polymorphisms to antidepressant response to placebo and fluoxetine in patients with major depressive disorder: a prospective study // BMC Psychiatry. 2014. V. 14. P. 220.

A.D. Kruchinina

Activity of Peptidyl-dipeptidase *A* in the Brain Regions of Rats after a Single Administration of Fluoxetine

The article considers the problem of depression, which became topical in the connection with a high prevalence of mental disorders. Depression is associated with decreased levels of monoamines, activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, increased levels of cytokines and changes in the level of regulatory peptides in the brain. It was revealed that stress is a major factor leading to the development of disease. Selective serotonin reuptake inhibitor — fluoxetine is widely used nowadays for the treatment of the disease. Since depression and cardiovascular pathologies are closely linked, it is suggested to realize the involvement of peptidyl-dipeptidase A in the pathogenesis of these diseases. Thus, antidepressant effect of drugs can be conditioned with changes of enzyme activity. This work is directed at study of activity of peptidyl-dipeptidase A in brain regions of rats after 12 h, 24 h, 72 h after a single administration of fluoxetine.

Keywords: peptidyl-dipeptidase A; serotonin; fluoxetine; regulatory peptides; depression.