

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЭПОКСИГЕНАЗ НА Ca^{2+} -ОТВЕТЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ГЛУТОКСИМОМ И МОЛИКСАНОМ, В МАКРОФАГАХ

© Л. С. Миленина, З. И. Крутецкая, А. А. Наумова, С. Н. Бутов,
Н. И. Крутецкая, В. Г. Антонов

Кафедра биофизики, С.-Петербургский государственный университет, 199034;
электронный адрес: cozzy@mail.ru

С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM исследовали возможное участие эпосигеназного пути окисления арахидоновой кислоты во влиянии глутоксиима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в перитонеальных макрофагах крысы. Впервые показано, что преинкубация клеток с ингибиторами эпосигеназа противогрибковыми агентами проадифеном и эконазолом значительно подавляет увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , вызываемое глутоксиимом или моликсаном. Добавление ингибиторов эпосигеназа на фоне развившегося депозависимого входа Ca^{2+} , индуцированного глутоксиимом или моликсаном, вызывает существенное подавление входа Ca^{2+} . Полученные данные свидетельствуют об участии продуктов и (или) ферментов эпосигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты во влиянии глутоксиима и моликсана на процессы Ca^{2+} -сигнализации в макрофагах.

Ключевые слова: внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , перитонеальные макрофаги, глутоксим, моликсан, арахидоновая кислота, эпосигеназы.

Принятые сокращения: АК — арахидоновая кислота, 5,6-ЭЭТК — 5,6-эпоксиэйкозатриеновая кислота, $[Ca^{2+}]_i$ — внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , GSSG — окисленный глутатион.

Синтетический аналог окисленного глутатиона (GSSG) — препарат глутоксим® (динатриевая соль GSSG с нанодобавкой d-металла, ФАРМА-ВАМ, Санкт-Петербург) — используется как иммуномодулятор и гемостимулятор в комплексной терапии бактериальных и вирусных заболеваний, псориаза, лучевой и химиотерапии в онкологии (Борисов и др., 2001; Соколова и др., 2002; Антушевич и др., 2013). Другой препарат, моликсан® (ФАРМА-ВАМ, Санкт-Петербург), комплекс глутоксиима и нуклеозида инозина, имеет противовирусное, иммуномодулирующее и гепатопротекторное действие и применяется в терапии острого и вирусного гепатитов В и С, микст-гепатита и цирроза печени (Борисов и др., 2001). Глутоксим и моликсан относятся к группе лекарственных средств тиопозтинов, влияющих на процессы редокс-регуляции в клетках. Однако понимание механизмов клеточного и молекулярного действия этих препаратов далеко от полного.

Одной из основных мишеней действия глутоксиима и моликсана являются такие важные иммунокомпетентные клетки, как макрофаги (Еремеев, Гергерт, 2013). Ранее нами было впервые обнаружено, что GSSG, глутоксим и моликсан увеличивают внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), вызывая мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргин-чувствительных Ca^{2+} -депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы (Крутецкая и др., 2007а; Курилова и др., 2008, 2011; Krutetskaya et al., 2014). Кроме того, с использованием широкого спектра агентов, влияющих на компоненты сигналь-

ных систем в клетках, нами впервые показано, что ключевыми участниками сигнального каскада, запускаемого GSSG и глутоксиимом и приводящего к увеличению $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах, являются тирозинкиназы и тирозинфосфатазы (Крутецкая и др., 2007б; Курилова и др., 2008; Krutetskaya et al., 2014), фосфатидилинозитолкиназы (Крутецкая и др., 2008; Krutetskaya et al., 2014) и важнейшие ферменты фосфоинозитидной системы передачи сигнала — фосфолипаза С и протеникиназа С (Крутецкая и др., 2009; Krutetskaya et al., 2014). Выявлено также участие элементов актинового цитоскелета (Крутецкая и др., 2011; Курилова и др., 2012; Krutetskaya et al., 2014), актинсвязывающих белков (Миленина и др., 2014а, 2014б; Krutetskaya et al., 2014) и микротрубочек (Крутецкая и др., 2013а; Krutetskaya et al., 2014), а также малых G-белков суперсемейства Ras и процессов везикулярного транспорта (Крутецкая и др., 2014; Krutetskaya et al., 2014) во влиянии глутоксиима или моликсана на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах.

Макрофаги отвечают на воздействие разнообразных агонистов, быстро гидролизуют мембранные фосфолипиды, что приводит к генерации большого числа внутриклеточных и экстраклеточных мессенджеров (Крутецкая и др., 2003). Так, активированные фагоциты продуцируют большое количество арахидоновой кислоты (АК) — полиненасыщенной жирной кислоты (20 : 4, ω6), освобождаемой из мембранных фосфолипидов при действии фосфолипазы A_2 (Dennis, 2000).

Свободная АК легко окисляется с образованием широкого спектра биологически активных соединений —

эйкозаноидов — простагландинов, тромбосанов, лейкотриенов и различных гидроксикислот (Needleman et al., 1986; Крутецкая, Лебедев, 1993). Известны три основных энзиматических пути окисления АК — с участием циклооксигеназ, липоксигеназ и эпоксигеназ (цитохром P-450-подобных ферментов) (Needleman et al., 1986; Крутецкая, Лебедев, 1993). Продукты метаболизма АК являются аутокринными и паракринными факторами, которые регулируют широкий спектр физиологических и патологических процессов — воспаление, аллергические реакции, апоптоз и др. (Dubois et al., 1998).

Ферменты метаболизма АК имеют высокую редокс-чувствительность и являются мишенями для действия окисляющих и восстанавливающих агентов (Hafner et al., 2011). С использованием ингибиторов циклооксигеназ и липоксигеназ нами ранее было впервые показано участие циклооксигеназного и липоксигеназного путей окисления АК во влиянии глутоксима и моликсана на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах (Крутецкая и др., 2013б; Курилова и др., 2014; Krutetskaya et al., 2014).

Эпоксигеназный путь метаболизма АК связан с системой монооксигеназного окисления, которая локализована у млекопитающих в мембранах эндоплазматического ретикулума, а в некоторых тканях, например в клетках коры надпочечников, и в мембранах митохондрий. Система монооксигеназного окисления обладает низкой субстратной специфичностью, поэтому в ней происходит метаболизм разнообразных липофильных субстратов — стероидных гормонов, холестерина, жирорастворимых витаминов, простагландинов, жирных кислот, а также различных ксенобиотиков. Основным компонентом этой системы являются цитохромы P-450 (57 кДа), относящиеся к особому суперсемейству ферментов-монооксигеназ (Крутецкая и др., 2003). Метаболиты эпоксигеназного пути окисления АК имеют различное биологическое действие: усиливают секрецию лютеинизирующего гормона, стимулируют выработку соматостатина, ингибируют поглощение Na^+ и секрецию K^+ в почках, стимулируют секрецию инсулина и глюкагона (Needleman et al., 1986). Показано также, что окисление свободной АК по эпоксигеназному пути имеет большое значение для предотвращения апоптоза в эпителиальных клетках (Chen et al., 2001).

В связи с этим представлялось целесообразным исследовать возможную роль эпоксигеназного пути окисления АК во влиянии глутоксима и моликсана на $[Ca^{2+}]_i$ в перитонеальных макрофагах крысы. Для этого использовали два эффективных блокатора эпоксигеназ — эконазол и проадифен (SKF525A). Они являются противогрибковыми агентами имидазольной природы, которые в микромолярной концентрации блокируют цитохром P-450-подобные ферменты (Rodrigues et al., 1987; Capdevila et al., 1988).

Материал и методика

Клетки. Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar. Резидентные макрофаги выделяли из перитонеальной полости крыс массой 180—250 г по методу, описанному ранее (Conrad, 1981; Randriamampita, Trautmann, 1987). Сразу после выделения клетки имели сферическую форму (диаметр 10—20 мкм). Суспензию клеток помещали в бакпечатки, содержащие кварцевые стекла

размером 10 × 10 мм. Клетки на стеклах культивировали в течение 1—3 сут при 37 °С в среде 199 (pH 7.2), содержащей 20 % сыворотки крови быка, глутамин (3 %), пенициллин (100 ед./мл) и стрептомицин (100 мг/мл). Тест на α -нафтил эстеразу (Mohan et al., 1981) показал, что по меньшей мере 96 % клеток в монослоях были макрофагами.

Эксперименты проводили при комнатной температуре (22—24 °С) через 1—2 сут после начала культивирования клеток. Кварцевые стекла с клетками помещали в экспериментальную камеру, заполненную физиологическим раствором следующего ионного состава (мМ): 140 NaCl, 5 KCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂ и 5 HEPES-NaOH, pH 7.3—7.4. Бескальциевая среда отличалась тем, что содержала 0 мМ CaCl₂ и 1 М ЭГТА. Подробно процедура культивирования макрофагов описана ранее (Крутецкая и др., 1997).

Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный зонд Fura-2 AM (Sigma-Aldrich, США). Макрофаги инкубировали в течение 45 мин в физиологическом растворе, содержащем 2 мкМ Fura-2 AM, при 22—24 °С. Стекла с окрашенными клетками отмывали физиологическим раствором и переносили в экспериментальную камеру флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия). Возбуждение флуоресценции объекта производили при длинах волн 340 и 380 нм через объектив микроскопа. Для выделения соответствующих участков спектра использовали узкополосные оптические фильтры. Эмиссию регистрировали при длине волны 510 нм при помощи специализированной видеокамеры Leica DFC340FX. Для выделения света с длиной волны 510 нм использовали оптический фильтр. Для управления экспериментом использовали систему обработки изображения ImageJ (плагин Micro-Manager 1.4).

Результатом измерений являлось отношение интенсивностей флуоресценции Fura-2 AM при облучении светом с длиной волны 340 нм к интенсивности флуоресценции при облучении светом с длиной волны 380 нм ($Ratio(F_{340}/F_{380})$), где F_{340} — интенсивность флуоресценции Fura-2 AM, связанного с Ca^{2+} , а F_{380} — интенсивность флуоресценции Fura-2 AM, не связанного с Ca^{2+} , отражающее изменения $[Ca^{2+}]_i$ в клетках во время измерений (Bruce, Elliott, 2000; Xie et al., 2002). Для избежания фотовыгорания измерения проводили через каждые 20 с, облучая объект в течение 2 с. В экспериментах применяли объектив 10× с апертурой 8 мм. Статистический анализ проводили с применением *t*-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения. На рисунках представлены результаты типичных экспериментов.

Для выявления и усиления входа Ca^{2+} в клетки использовали классическую схему эксперимента (Ca^{2+} -free/ Ca^{2+} -reintroduction protocol) (Alonso-Torre, Trautmann, 1993). Макрофаги инкубировали в номинально бескальциевой среде, затем на них действовали глутоксином или моликсаном, вызывая мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных депо. После добавления в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} и восстановления физиологического градиента концентрации Ca^{2+} наблюдалось быстрое повышение $[Ca^{2+}]_i$, отражающее вход Ca^{2+} в клетку. Ингибиторы эпоксигеназ добавляли до введения глутоксима или моликсана или во время развивающегося входа Ca^{2+} из наружной среды.

Использовали реактивы фирмы Sigma-Aldrich (США). Использовали маточные растворы глутоксима

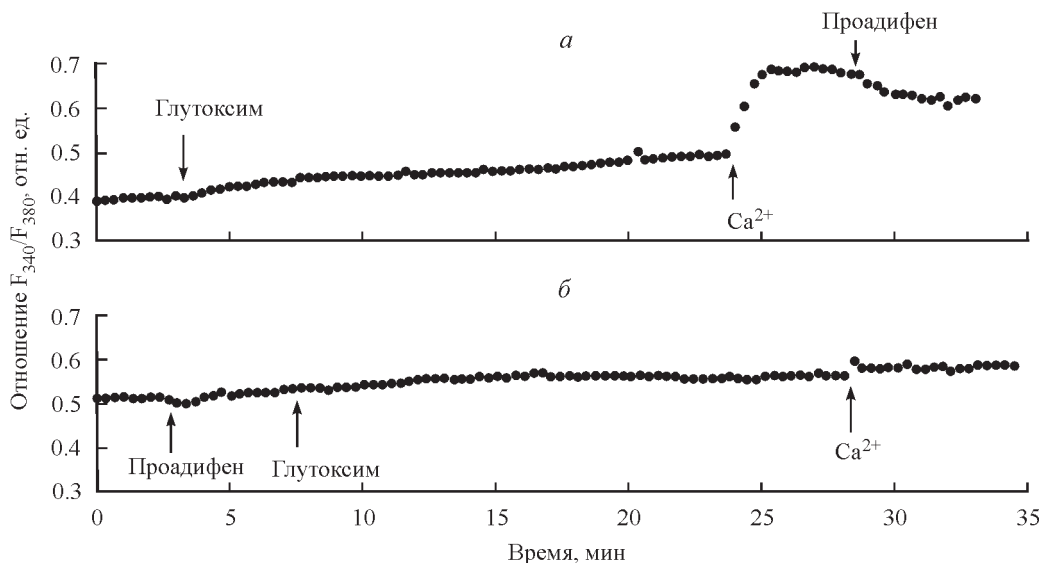


Рис. 1. Влияние проадифена на увеличение $[Ca^{2+}]_i$, вызываемое глутоксимом, в перитонеальных макрофагах крысы.

Здесь и на рис. 2, 3 по оси ординат — отношение интенсивностей флуоресценции Fura-2AM при длинах волн возбуждающего излучения 340 нм и 380 нм соответственно, отн. ед. *а* — клетки инкубировали с 200 мкг/мл глутоксима в номинально бескальциевой среде, затем вход Ca^{2+} индуцировали введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} ; во время развившегося входа Ca^{2+} вводили 100 мкМ проадифена. *б* — макрофаги предварительно инкубировали 5 мин со 100 мкМ проадифена в бескальциевой среде, затем добавляли 200 мкг/мл глутоксима, через 20 мин вход Ca^{2+} инициировали введением 2 мМ Ca^{2+} в наружную среду. Здесь и на рис. 2, 3 каждая регистрация получена для группы из 40—50 клеток и представляет собой типичный вариант из 5—7 экспериментов.

(50 мг/мл) и моликсана (50 мг/мл) (ФАРМА-ВАМ, Санкт-Петербург) в воде, а также маточные растворы проадифена (100 мМ) и эконазола (5 мМ) в диметилсульфоксиде.

Результаты и обсуждение

В контрольных экспериментах показали, что инкубация макрофагов в номинально бескальциевой среде в течение 20—25 мин в присутствии 200 мкг/мл глутоксима (рис. 1, *а*) или 200 мкг/мл моликсана (рис. 2, *а*) вызывает нарастающее и существенное повышение $[Ca^{2+}]_i$, отража-

ющее мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо. Добавление в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} индуцирует вход Ca^{2+} в цитозоль, обусловленный, по-видимому, опустошением Ca^{2+} -депо (рис. 1, *а*; 2, *а*).

Для выявления возможного участия эпоксигеназного пути окисления АК во влиянии глутоксима и моликсана на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах использовали два структурно различных ингибитора эпоксигеназ — проадифен и эконазол. Обнаружено, что предварительная инкубация клеток со 100 мкМ проадифена (рис. 1, *б*) в течение 5 мин до введения 200 мкг/мл глутоксима приводит к практически полному подавлению как фазы мобилизации Ca^{2+} из депо (на $95.6 \pm 6.3\%$, $n = 7$), так и фазы входа Ca^{2+} (на

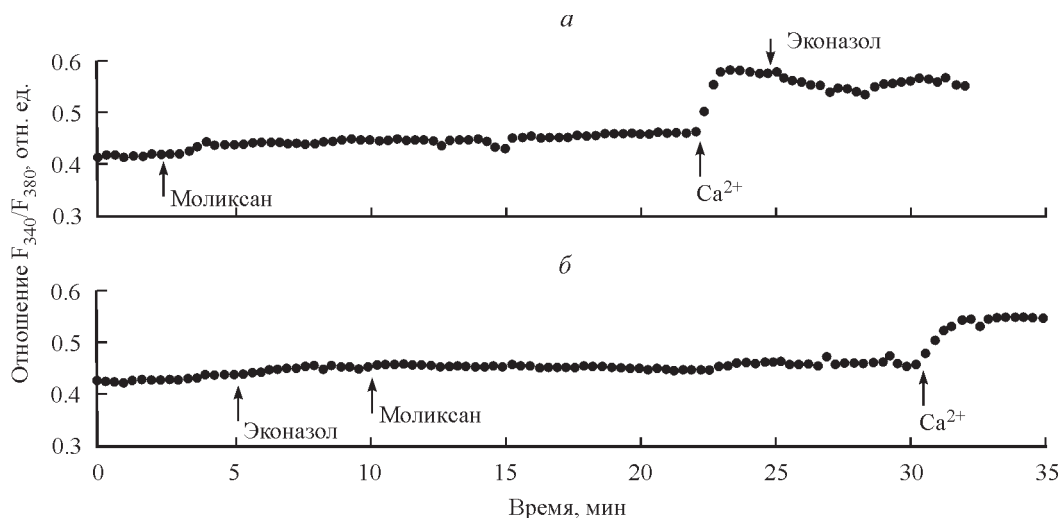


Рис. 2. Влияние эконазола на увеличение $[Ca^{2+}]_i$, вызываемое моликсаном, в перитонеальных макрофагах крысы.

а — макрофаги инкубировали с 200 мкг/мл моликсана в номинально бескальциевой среде, затем вход Ca^{2+} индуцировали введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} ; во время развившегося входа Ca^{2+} вводили 5 мкМ эконазола. *б* — клетки предварительно инкубировали 5 мин с 5 мкМ эконазола в бескальциевой среде, затем добавляли 200 мкг/мл моликсана, через 20 мин инициировали вход Ca^{2+} введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} .

92.3 ± 5.7 %, n = 7), вызываемых глутоксимом. Сходные результаты получены при использовании 200 мкг/мл моликсана (не показано). Предварительная инкубация макрофагов с 5 мкМ эконазола (рис. 2, б) в течение 5 мин до введения 200 мкг/мл моликсана также приводит к практически полному подавлению фазы мобилизации Ca^{2+} из депо (на 87.1 ± 5.8 %, n = 7) и частичному подавлению входа Ca^{2+} (на 32.3 ± 4.9 %, n = 7), вызываемых моликсаном (рис. 2, б). Сходные данные получены при использовании 200 мкг/мл глутоксима (не показано).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что эпоксигеназы и (или) продукты эпоксигеназного пути метаболизма АК участвуют в регуляции Ca^{2+} -ответов, индуцируемых глутоксимом или моликсаном, в макрофагах.

Показано также, что добавление 100 мкМ проадифена на фоне развившегося входа Ca^{2+} , индуцированного глутоксимом (рис. 1, а) или моликсаном (не показано), приводит к существенному (на 37.5 ± 4.2 %, n = 5) подавлению входа Ca^{2+} в макрофаги. Добавление 5 мкМ эконазола на фоне развившегося входа Ca^{2+} , индуцированного моликсаном (рис. 2, а) или глутоксимом (не показано), также приводит к существенному (на 35.8 ± 5.0 %, n = 6) подавлению входа Ca^{2+} в макрофаги. Это свидетельствует об участии продуктов эпоксигеназного пути окисления АК в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} , индуцированного глутоксимом или моликсаном, в макрофагах.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что эпоксигеназы наряду с другими ферментами метаболизма АК (циклооксигеназами и липоксигеназами) принимают участие в генерации и поддержании обеих фаз Ca^{2+} -ответов, индуцированных глутоксимом и моликсаном, в перитонеальных макрофагах крысы. Кроме того, данные об ингибировании эконазолом и проадифеном действия глутоксима и моликсана позволяют предположить, что противогрибковые агенты, ингибирующие эпоксигеназы, нежелательно использовать в клинической практике в комбинации с иммуномодуляторами глутоксимом или моликсаном.

Подавление ингибиторами эпоксигеназ мобилизации Ca^{2+} из депо, индуцированной глутоксимом или моликсаном, свидетельствует о том, что эпоксигеназы и (или) продукты эпоксигеназного пути окисления АК являются участниками комплексного сигнального каскада, вызываемого глутоксимом и моликсаном в макрофагах и приводящего к постепенному высвобождению Ca^{2+} из депо. Можно предположить, что при действии глутоксима и моликсана происходит запуск каскада метаболизма АК. Участие продуктов циклооксигеназного и липоксигеназного путей метаболизма АК во влиянии глутоксима и моликсана на $[Ca^{2+}]_i$ может быть опосредовано их взаимодействием с элементами цитоскелета (Курилова и др., 2014; Krutetskaya et al., 2014). В то же время роль продуктов и (или) ферментов эпоксигеназного пути окисления АК может заключаться в дополнительной регуляции IP_3 -рецепторов или Ca^{2+} -АТФаз в мембране Ca^{2+} -депо, необходимой для мобилизации Ca^{2+} из депо.

Результаты настоящей работы согласуются с полученными ранее данными о влиянии ингибиторов эпоксигеназ на Ca^{2+} -сигналы в невозбудимых клетках. Одной из моделей депозависимого (емкостного) входа Ca^{2+} является модель с участием растворимого посредника — фактора входа Ca^{2+} (calcium influx factor, CIF), который высвобождается в цитозоль при опустошении внутриклеточных Ca^{2+} -депо и активирует вход Ca^{2+} в клетки (Putney et al., 2001; Крутецкая и др., 2003). Предполагают, что

роль фактора входа Ca^{2+} может выполнять цитохром P-450, локализованный в мембране эндоплазматического ретикула, или продукт эпоксигеназного окисления АК — 5,6-эпоксиэйкозатриеновая кислота (5,6-ЭЭТК) (Alvarez et al., 1991, 1992; Rzigalinski et al., 1999; Xie et al., 2002; Ben-Amor et al., 2006).

Так, на клетках эндотелия роговицы быка установлено, что активатор цитохрома P-450 β-нафтофлавоном усиливает вход Ca^{2+} после опустошения внутриклеточных депо (Xie et al., 2002). Показано также, что добавляемый с наружной поверхности мембраны метаболит цитохрома P-450 5,6-ЭЭТК активирует вход Ca^{2+} в эндотелиоциты. Оба эффекта блокируются классическим ингибитором емкостного входа Ca^{2+} 2-аминоэтоксифенилборатом (Xie et al., 2002). Кроме того, обнаружено, что внеклеточная 5,6-ЭЭТК активирует депозависимый вход Ca^{2+} в тромбоциты человека (Ben-Amor et al., 2006). Эти результаты позволяют предположить, что продукты эпоксигеназного пути метаболизма АК могут играть роль факторов, активирующих депозависимый вход Ca^{2+} .

В пользу этой модели свидетельствуют данные об активном подавлении депозависимого входа Ca^{2+} ингибиторами эпоксигеназ. Так, ранее нами было установлено, что эконазол и проадифен практически полностью подавляют депозависимый вход Ca^{2+} , индуцируемый пуринергическими агонистами АТФ и УТФ и ингибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз тапсигаргином и циклопьязониковой кислотой в перитонеальных макрофагах крысы (Крутецкая и др., 1998, 2000, 2003). Показано также, что эконазол и другие имидазольные ингибиторы эпоксигеназ (миконазол, клотримазол, кетоконазол, SK&F 96365), а также проадифен являются эффективными ингибиторами депозависимого входа Ca^{2+} , индуцированного широким спектром агонистов, в тимоцитах крысы (Alvarez et al., 1991, 1992), лейкоцитарных клетках линий HL60 и U937 (Alonso-Torre et al., 1993), эндотелиоцитах быка (Graier et al., 1995; Xie et al., 2002) и ацинарных клетках поджелудочной железы крысы (Bruce, Elliott, 2000).

Кроме того, в клетках эндотелия роговицы быка выявлено сосуществование двух механизмов входа Ca^{2+} — с участием растворимого посредника и «связывания по типу секреции» (secretion-like coupling model) (Xie et al., 2002). Последний предполагает обратимую транслокацию внутриклеточного Ca^{2+} -депо к плазматической мембране и белок-белковые взаимодействия между IP_3 -рецептором и депозависимым Ca^{2+} -каналом, приводящие к активации емкостного входа Ca^{2+} . При этом в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} важную роль играют актиновые филаменты (Rosado, Sage, 2000). Известно, что фармакологические агенты, вызывающие реорганизацию актина, ингибируют депозависимый вход Ca^{2+} в клетках различного типа. Так, каликулин А, вызывающий образование толстого слоя примембранного (кортикального) актина, препятствующего передаче сигнала об опустошении депо, подавляет депозависимый вход Ca^{2+} в тромбоциты человека (Rosado, Sage, 2000) и перитонеальные макрофаги крысы (Курилова и др., 2009). В то же время на клетках эндотелия роговицы быка установлено, что каликулин А не вызывает подавления входа Ca^{2+} , активируемого β-нафтофлавоном или 5,6-ЭЭТК (Xie et al., 2002). Вероятно, это связано с тем, что метаболиты цитохромов P-450, выступающие в роли факторов входа Ca^{2+} , являются малыми водорастворимыми молекулами, которые могут диффундировать к плазмалемме сквозь плотный слой

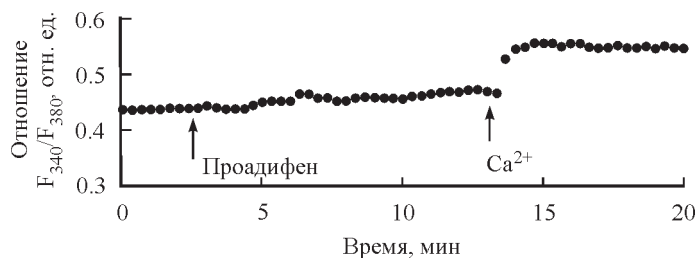


Рис. 3. Влияние проадифена на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в перитонеальных макрофагах крысы.

Клетки инкубировали 11 мин со 100 мкМ проадифена в номинально бескальциевой среде, затем инициировали вход Ca^{2+} введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} .

кортикального актина, формирующийся при действии калькулина А (Xie et al., 2002).

Однако существуют данные о том, что цитохромы Р-450 не принимают участия в активации депозависимого входа Ca^{2+} , а подавление Ca^{2+} -сигналов связано с непосредственным действием имидазольных антимикотических агентов на Ca^{2+} -каналы (Koch et al., 1994).

Известно, что производные имидазола ингибируют активность цитохромов Р-450 путем взаимодействия электронов атома азота в третьем положении имидазольного кольца с гемом цитохрома Р-450 (Koch et al., 1994). Введение заместителей во второе положение имидазольного кольца приводит к значительному (в 10—100 раз и более) уменьшению активности ингибиторов. Чтобы выяснить, связано ли ингибирование Ca^{2+} -сигналов с подавлением эпоксигеназ, авторы синтезировали производное эконазола, отличающееся присутствием метильной группы во втором положении имидазольного кольца. Как предполагали, это соединение менее эффективно (в 10 раз) подавляло активность цитохромов Р-450. В то же время эконазол и его производное одинаково эффективно подавляли вход Ca^{2+} , вызванный тапсигаргином (Koch et al., 1994). Таким образом, авторами был сделан вывод о том, что в клетках HL-60 имидазольные противогрибковые агенты ингибируют депозависимый вход Ca^{2+} не за счет ингибирования цитохромов Р-450, а путем прямого влияния на Ca^{2+} -каналы плазмалеммы (Koch et al., 1994).

Обнаружено также, что ингибиторы эпоксигеназ сами могут индуцировать Ca^{2+} -ответы в клетках. Нами показано, что проадифен (100 мкМ) вызывает в бескальциевой среде постепенно нарастающее повышение $[\text{Ca}^{2+}]_i$, связанное, по-видимому, с мобилизацией Ca^{2+} из внутриклеточных депо в перитонеальных макрофагах крысы (рис. 3). Последующее введение в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} вызывает вход Ca^{2+} в макрофаги (рис. 3). Кроме того, на рис. 1, б и 2, б видно, что проадифен и эконазол вызывают небольшое увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (на 13.6 ± 2.4 % относительно базального уровня, $n = 14$) до введения глутоксима или моликсана.

Эти результаты согласуются с более ранними данными о влиянии ингибиторов эпоксигеназ эконазола и проадифена на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в перитонеальных макрофагах крысы (Крутецкая и др., 1998, 2000, 2003) и клетках аденокарциномы прямой кишки линии HT29 (Carrillo et al., 2013). Так, ранее нами показано, что проадифен и эконазол вызывают двухфазное увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$, связанное с мобилизацией Ca^{2+} из внутриклеточных депо и последующим входом Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы (Крутецкая и др., 1998, 2000, 2003). Для выявления природы внутриклеточных Ca^{2+} -депо, на которые действуют эконазол и проадифен, провели эксперименты, в которых

эконазол или проадифен добавляли к макрофагам после того, как Ca^{2+} -депо были опустошены ингибитором эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз тапсигаргином. В этих условиях ингибиторы эпоксигеназ не вызывали увеличения $[\text{Ca}^{2+}]_i$, что свидетельствует о том, что эконазол и проадифен индуцируют мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргин-чувствительных Ca^{2+} -депо (Крутецкая и др., 2000, 2003). Сходные данные о природе внутриклеточных Ca^{2+} -депо, на которые действует эконазол, получены на клетках аденокарциномы прямой кишки линии HT29 (Carrillo et al., 2013). Кроме того, учитывая относительно медленную кинетику высвобождения Ca^{2+} из депо при действии эконазола и проадифена (рис. 3), можно предположить, что противогрибковые агенты увеличивают $[\text{Ca}^{2+}]_i$, ингибируя Ca^{2+} -АТФазы в мембране Ca^{2+} -депо (Крутецкая и др., 1998, 2000). В пользу этого предположения свидетельствуют данные о том, что имидазольные соединения наряду с тапсигаргином, циклопьязониновой кислотой и ВНQ ингибируют Ca^{2+} -АТФазы в мембране саркоплазматического ретикулума (Mason et al., 1993; Snajdrova et al., 1998).

В связи с этим можно предположить, что подавление проадифеном и эконазолом мобилизации Ca^{2+} из депо, индуцированной глутоксином или моликсаном, может быть связано с тем, что к моменту введения глутоксима или моликсана депо уже были частично опустошены действием проадифена или эконазола.

Таким образом, результаты, полученные в этой работе и ранее (Курилова и др., 2014; Krutetskaya et al., 2014), свидетельствуют о том, что одним из важных участников сигнального каскада, запускаемого глутоксином и моликсаном в макрофагах, является каскад метаболизма АК, причем во влиянии глутоксима и моликсана на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ задействованы все три пути окисления АК — циклооксигеназный, липоксигеназный и эпоксигеназный.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта СПбГУ № 1.0.127.2010.

Список литературы

- Антушевич А. А., Антонов В. Г., Гребенюк А. Н., Антушевич А. Е., Ладанова Т. В., Бузова Е. Б. 2013. Патологические основы эффективности глутоксима как средства сопровождения лучевой терапии рака ротоглотки. Вестник Рос. Военно-мед. акад. 3 (43): 32—37. (Antushevich A. A., Antonov V. G., Grebenyuk A. N., Antushevich A. E., Ladanova T. V., Burova E. B. 2013. Pathophysiologic rationale of effectiveness of glutoxim supportive therapy add-on to radiotherapy management of oropharyngeal cancer. Vestnik Ross. Voenno-med. akad. 3 (43): 32—37.)

- Борисов А. Е., Кожмякин Л. А., Антушевич А. Е., Кетлицкая О. С., Кащенко В. А., Чепур С. В., Кацалуха В. В., Васюкова Е. Л., Новиченков А. О., Мотушук И. Е. 2001. Клинико-экспериментальное обоснование регионарного и системного введения препаратов группы тиопеоитинов при циррозе печени. Вестник хирургии им. И. И. Грекова. 4 : 32—38. (Borisov A. E., Kozhemyakin L. A., Antushevich A. E., Kettliskaya O. S., Kashchenko V. A., Chepur S. V., Katsalucha V. V., Vasyukova E. L., Novichenkov A. O., Motushchuk I. E. 2001. Clinical and experimental grounds of the regional and systemic administration of the thiopoeitin group medicines for cirrhosis of the liver. First communication. Vestnik Hirurgii im. I. I. Grekova. 4 : 32—38.)
- Еремеев В. В., Гергерт В. Я. 2013. Изучение способности препарата глутоксим влиять на антимикобактериальную активность фагоцитов чувствительных и резистентных к туберкулезу мышей. Туберкулез и болезни легких. 7 : 43—47. (Eremeev V. V., Gergert V. Ya. 2013. Investigation of the ability of glutoxim to affect the antimycobacterial activity of phagocytes in tuberculosis-susceptible and resistant mice. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 7 : 43—47.)
- Крутецкая З. И., Курилова Л. С., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. 2013а. Участие микротрубочек в действии глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Докл. РАН. 451 (3) : 344—346. (Krutetskaya Z. I., Kurilova L. S., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. 2013. Involvement of microtubules in the effects of glutoxim and molixan on the intracellular concentration of Ca^{2+} in macrophages. Doklady Biol. Sci. 451 (3) : 196—198.)
- Крутецкая З. И., Курилова Л. С., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. 2013б. Ингибиторы циклооксигеназ и липоксигеназ модулируют эффект глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Докл. РАН. 452 (6) : 690—693. (Krutetskaya Z. I., Kurilova L. S., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. 2013b. Cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors modulate the glutoxim and molixan effects on the intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. Doklady Biol. Sci. 452 (6) : 277—279.)
- Крутецкая З. И., Курилова Л. С., Наумова А. А., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. 2014. Участие малых G-белков и везикулярного транспорта в действии глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Докл. РАН. 457(2) : 244—246. (Krutetskaya Z. I., Kurilova L. S., Naumova A. A., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. 2014. Involvement of small G proteins and vesicle traffic in the glutoxim and molixan effects on the intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. Doklady Biol. Sci. 457 (2) : 252—254.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е. 1993. Арахидоновая кислота и ее продукты: пути образования и метаболизма в клетках. Цитология. 35(11/12) : 3—35. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E. 1993. Arachidonic acid and its oxygenated derivatives: mechanisms for release and metabolism in cells. Tsitologiya. 35 (11/12) : 3—35.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Крутецкая Н. И. 2000. Механизмы Ca^{2+} -сигналикации в перитонеальных макрофагах. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 86(8) : 1030—1048. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Krutetskaya N. I. 2000. Mechanisms of Ca^{2+} -signalling in peritoneal macrophages. Ros. Physiol. J. im. I. M. Sechenova. 86 (8) : 1030—1048.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Крутецкая Н. И., Бутов С. Н., Булкин Н. В., Ченцов И. Г. 1998. Роль продуктов метаболизма арахидоновой кислоты в регуляции рецептор- и депозависимого входа ионов Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы. В кн.: Физико-химические основы функционирования белков и их комплексов. Воронеж: Изд-во ВГУ. 116—121. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Krutetskaya N. I., Butov S. N., Bulkin N. V., Chentsov I. G. 1998. The role of arachidonic acid metabolism products in the regulation of receptor- and store-operated Ca^{2+} entry in rat peritoneal macrophages. In: Physical and chemical principles of proteins and protein complexes function. Voronezh: VGU. 116—121.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Курилова Л. С. 2003. Механизмы внутриклеточной сигнализации. СПб.: Изд-во СПбГУ. 208 с. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Kurilova L. S. 2003. Mechanisms of intracellular signaling. SPb.: SPb State University. 208 p.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Курилова Л. С., Антонов В. Г., Антушевич А. Е., Ноздрачев А. Д. 2007а. Возможное участие ионов кальция в регуляторном действии окисленного глутатиона на макрофаги. Докл. РАН. 412 (5) : 700—703. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Kurilova L. S., Antonov V. G., Antushevich A. E., Nozdrachev A. D. 2007a. The possible involvement of calcium ions in the regulatory effect of oxidized glutathione on macrophages. Doklady Biol. Sci. 412 (5) : 700—703.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Курилова Л. С., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. 2007б. Роль тирозинкиназ и тирозинфосфатаз в действии окисленного глутатиона и препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Докл. РАН. 417 (2) : 273—275. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Kurilova L. S., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. 2007b. The role of tyrosine kinases and tyrosine phosphatases in the effect of glutoxim and oxidized glutathione on the intracellular Ca^{2+} -concentration in macrophages. Doklady Biol. Sci. 417 (2) : 417—419.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Курилова Л. С., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. 2008. Возможное участие фосфатидилинозитолкиназы в действии окисленного глутатиона и препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Докл. РАН. 422 (4) : 562—563. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Kurilova L. S., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. 2008. Possible involvement of phosphatidylinositol kinases in the effect of the oxidized glutathione and glutoxim on the intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. Doklady Biol. Sci. 422 (4) : 296—297.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Курилова Л. С., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. 2009. Роль ключевых ферментов фосфоинозитидного пути передачи сигнала в действии окисленного глутатиона и препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Докл. РАН. 428 (2) : 272—274. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Kurilova L. S., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. 2009. The role of the key enzymes of the phosphoinositide signaling pathway in the effect of oxidized glutathione and glutoxim on intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. Doklady Biol. Sci. 428 (2) : 407—409.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Курилова Л. С., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. 2011. Участие актиновых филаментов в действии окисленного глутатиона и препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Докл. РАН. 346 (5) : 705—708. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Kurilova L. S., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. 2011. Involvement of actin filaments in the effect of oxidized glutathione and drug glutoxim on the intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. Doklady Biol. Sci. 346 (5) : 705—708.)
- Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Тюшев В. Е., Крутецкая Н. И., Рощина Н. Г. 1997. Влияние ингибиторов тирозинкиназы и тирозинфосфатаз на вход Ca^{2+} , индуцируемый АТФ и тапсигаргин в перитонеальных макрофагах. Цитология. 39 (2/3) : 164—176. (Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Tyushhev V. E., Krutetskaya N. I., Roschina N. G. 1997. The effect of tyrosine kinase and tyrosine phosphatase inhibitors on Ca^{2+} -entry induced by ATP and thapsigargin in peritoneal macrophages. Tsitologiya. 39 (2/3) : 164—176.)
- Курилова Л. С., Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Антонов В. Г. 2008. Влияние окисленного глутатиона и его фармакологического аналога препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. Цитология. 50 (5) : 452—461. (Kurilova L. S., Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Antonov V. G. 2008. The effect of oxidized glutathione and its pharmacological analogue glutoxim on intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. Cell Tissue Biol. 2 : 322—332.)
- Курилова Л. С., Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Крутецкая Н. И., Антонов В. Г. 2011. Влияние препарата моликсан на процессы Ca^{2+} -сигналикации в макрофагах. Цитология. 53 (9) : 708. (Kurilova L. S., Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Krutetskaya N. I., Antonov V. G. 2011. The effect of drug molixan on

Ca²⁺-signaling processes in macrophages. *Tsitologiya*. 53 (9) : 708.)

Курилова Л. С., Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Крутецкая Н. И., Антонов В. Г. 2012. Участие актинового цитоскелета во влиянии препаратов глутоксим и моликсан на внутриклеточную концентрацию Ca²⁺ в макрофагах. *Цитология*. 54 (2) : 135—142. (Kurilova L. S., Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Krutetskaya N. I., Antonov V. G. 2012. The involvement of actin cytoskeleton in glutoxim and molixan effect on intracellular Ca²⁺-concentration in macrophages. *Cell Tissue Biol*. 6 : 240—247.)

Курилова Л. С., Крутецкая З. И., Лебедев О. Е., Крутецкая Н. И., Игловикова О. И., Шамшев А. В., Войцехович К. О. 2009. Влияние каликулина А на Ca²⁺-сигналы в макрофагах. В кн.: *Биология — наука XXI века*. Пушино: Изд-во Пушино. 141—142. (Kurilova L. S., Krutetskaya Z. I., Lebedev O. E., Krutetskaya N. I., Iglovikova O. I., Shamshev A. V., Voitsekho-vich K. O. 2009. Effect of calyculin A on Ca²⁺ signals in macrophages. In: *Biology — the science of the XXI century*. Puschino: Puschino. 141—142.)

Курилова Л. С., Крутецкая З. И., Наумова А. А., Бутов С. Н., Крутецкая Н. И., Антонов В. Г. 2014. Влияние ингибиторов циклооксигеназ и липоксигеназ на Ca²⁺-ответы, вызываемые глутоксимом и моликсаном, в макрофагах. *Цитология*. 56 (5) : 353—360. (Kurilova L. S., Krutetskaya Z. I., Naumova A. A., Butov S. N., Krutetskaya N. I., Antonov V. G. 2014. The effect of cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors on Ca²⁺-responses induced by glutoxim and molixan in macrophages. *Tsitologiya*. 56 (5) : 353—360.)

Миленина Л. С., Крутецкая З. И., Наумова А. А. 2014а. Ингибиторы Arp2/3 комплекса и WASP-белков подавляют эффект глутоксима на внутриклеточную концентрацию Ca²⁺ в макрофагах. *Международный научный институт «Educatio»*. Ежемесячный научный журнал. 4 (3) : 80—82. (Milenina L. S., Krutetskaya Z. I., Naumova A. A. 2014а. The inhibitors of Arp2/3 complex and WASP-proteins suppress glutoxim and molixan effect on intracellular Ca²⁺-concentration in macrophages. *Education*. 4 (3) : 80—82.)

Миленина Л. С., Крутецкая З. И., Наумова А. А., Крутецкая Н. И., Бутов С. Н., Антонов В. Г. 2014б. Arp2/3-комплекс участвует в действии глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca²⁺ в макрофагах. *Биофизика*. 59 (5) : 907—912. (Milenina L. S., Krutetskaya Z. I., Naumova A. A., Krutetskaya N. I., Butov S. N., Antonov V. G. 2014б. Arp2/3 complex is involved in the effect of glutoxim and molixan on intracellular Ca²⁺-concentration in macrophages. *Biophysics*. 59 (5) : 907—912.)

Соколова Г. Б., Синицын М. В., Кожемякин Л. А., Перельман М. И. 2002. Глутоксим в комплексной терапии туберкулеза. *Антибиот. Химиотер*. 47 (2) : 20—23. (Sokolova G. B., Sinitsyn M. V., Kozhemiakin L. A., Perel'man M. I. 2002. Glutoxim in the complex treatment of tuberculosis. *Antibiot. Khimioter*. 47 (2) : 20—23.)

Alonso-Torre S. R., Alvarez J., Montero M., Sanchez A., Garcia-Sancho J. 1993. Control of Ca²⁺ entry into HL60 and U937 human leukaemia cells by the filling state of the intracellular Ca²⁺ stores. *Biochem. J*. 289 : 761—766.

Alonso-Torre S. R., Trautmann A. 1993. Calcium responses elicited by nucleotides in macrophages. Interaction between two receptor subtypes. *J. Biol. Chem*. 268 : 18 640—18 647.

Alvarez J., Montero M., Garcia-Sancho J. 1991. Cytochrome P-450 may link intracellular Ca²⁺ stores with plasma membrane Ca²⁺ influx. *Biochem. J*. 274 : 193—197.

Alvarez J., Montero M., Garcia-Sancho J. 1992. Cytochrome P-450 may regulate plasma membrane Ca²⁺ permeability according to the filling state of the intracellular Ca²⁺ stores. *FASEB J*. 6 : 786—792.

Ben-Amor N., Redondo P. C., Bartegi A., Pariente J. A., Salido G. M., Rosado J. A. 2006. A role for 5,6-epoxyeicosatrienoic acid in calcium entry by de novo conformational coupling in human platelets. *J. Physiol*. 570 : 309—323.

Bruce J. I. E., Elliott A. C. 2000. Pharmacological evaluation of the role of cytochrome P450 in intracellular calcium signaling in rat pancreatic acinar cells. *Brit. J. Physiol*. 131 : 761—771.

Capdevilla J., Gil L., Orellana M., Marnett L. J., Mason J. J., Ydagiri P., Falk J. R. 1988. Inhibitors of cytochrome P-450-dependent arachidonic acid metabolism. *Arch. Biochem. Biophys*. 261 : 257—263.

Carrillo C., Cavia M. del M., Alonso-Torre S. R. 2013. Effect of econazole on Ca²⁺ signaling in human colorectal adenocarcinoma cells. *Turk. J. Biochem*. 38 : 126—132.

Chen J. K., Capdevilla J., Harris R. C. 2001. Cytochrome P-450 epoxygenase metabolism of arachidonic acid inhibits apoptosis. *Mol. Cell. Biol*. 21 : 6322—6331.

Conrad R. E. 1981. Induction and collection of peritoneal exudate macrophages. In: *Manual of macrophages methodology*. New York: Marcell Dekker. 5—11.

Dennis E. A. 2000. Phospholipase A₂ in eicosanoid generation. *Amer. J. Respir. Crit. Care. Med*. 161 : 532—535.

Dubois R. N., Abramson S. B., Crofford L., Gupta R. A., Simon L. S., Van de Putte L. B. A., Lipsky P. E. 1998. Cyclooxygenase in biology and disease. *J. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol*. 12 : 1063—1073.

Graier W. F., Simecek S., Sturek M. 1995. Cytochrome P450 mono-oxygenase-regulated signaling of Ca²⁺ entry in human and bovine endothelial cells. *J. Physiol*. 482 : 259—274.

Hafner A. K., Cernescu M., Hofmann B., Ermisch M., Hornig M., Metzger J., Schneider G., Brutschy B., Steinhilber D. 2011. Dimerization of human lipoxygenase. *J. Biol. Chem*. 392 : 1097—1111.

Koch B. D., Faurot G. F., Kopanitsa M. V., Swinney D. C. 1994. Pharmacology of Ca²⁺-influx pathway activated by emptying the intracellular Ca²⁺ stores in HL-60 cells: evidence that a cytochrome P-450 is not involved. *Biochem. J*. 302 : 187—190.

Krutetskaya Z. I., Milenina L. S., Melniitskaya A. V., Naumova A. A., Antonov V. G. 2014. Redox modulation of Ca²⁺ and Na⁺ transport in nonexcitable cells. SPb.: SPb. State Polytechnical Univ. Publ. House. 171 p.

Mason M. J., Mayer B., Hymel L. J. 1993. Inhibition of Ca²⁺ transport pathways in thymic lymphocytes by econazole, miconazole, and SKF 96365. *Amer. J. Physiol*. 264 : 654—662.

Monahan R. A., Dvorak H. F., Dvorak A. M. 1981. Ultrastructural localization of nonspecific esterase activity in guinea pig and human monocytes, macrophages and lymphocytes. *Blood*. 58 : 1089—1099.

Needleman P., Turk J., Jacksick B. A., Morrison A. R., Lefkowitz J. B. 1986. Arachidonic acid metabolism. *Annu. Rev. Biochem*. 55 : 69—102.

Putney J. W., Broad L. M., Braun F. -J., Lievre-mont J.-P., Bird G. St. J. 2001. Mechanisms of capacitance calcium entry. *J. Cell. Sci*. 114 : 2223—2229.

Randriamampita C., Trautmann A. 1987. Ionic channels in murine macrophages. *Cell Biol*. 105 : 761—769.

Rodriguez A. D., Gibson G. G., Ioannides C., Parke D. V. 1987. Interaction of imidazole antifungal agents with purified cytochrome P-450 proteins. *Biochem. Pharmacol*. 36 : 4277—4281.

Rosado J. A., Sage St. O. 2000. The actin cytoskeleton in the store-operated calcium entry. *J. Physiol*. 526 : 221—229.

Rzagalinski B. A., Willoughby K. A., Hoffman S. W., Falck J. R., Ellis E. F. 1999. Calcium influx factor, further evidence it is 5,6-epoxyeicosatrienoic acid. *J. Biol. Chem*. 274 : 175—182.

Snajdrova L., Xu A., Narayanan N. 1998. Clotrimazole, an antimycotic drug, inhibits the sarcoplasmic reticulum calcium pump and contractile function in heart muscle. *J. Biol. Chem*. 273 : 28 032—28 039.

Xie Q., Zhang Y., Zhai C., Bonanno J. A. 2002. Calcium influx factor from cytochrome P-450 metabolism and secretion-like coupling mechanisms for capacitance calcium entry in corneal endothelial cells. *J. Biol. Chem*. 277 : 16 559—16 566.

THE EFFECT OF EPOXYGENASE INHIBITORS ON Ca²⁺-RESPONSES INDUCED
BY GLUTOXIM AND MOLIXAN IN MACROPHAGES

*L. S. Milenina, Z. I. Krutetskaya, A. A. Naumova, S. N. Butov,
N. I. Krutetskaya, V. G. Antonov*

Chair of Biophysics, St. Petersburg State University, 199034;
e-mail: cozy@mail.ru

Using Fura-2AM microfluorimetry the possible involvement of epoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism in the effect of glutoxim and molixan on intracellular Ca²⁺ concentration in rat peritoneal macrophages was investigated. It was shown for the first time that preincubation of the macrophages with epoxygenase inhibitors, proadifen and econazole, significantly decreases the intracellular Ca²⁺ concentration increase induced by glutoxim and molixan. The addition of the epoxygenase inhibitors during the already developed store-dependent Ca²⁺-entry induced by glutoxim or molixan partially inhibits Ca²⁺-entry. The obtained data suggest the involvement of the products and/or enzymes of epoxygenase pathway of the arachidonic acid metabolism in the glutoxim and molixan effect on the Ca²⁺ signaling processes in macrophages.

Key words: intracellular Ca²⁺ concentration, peritoneal macrophages, glutoxim, molixan, arachidonic acid, epoxygenases.

—