

## Влияние гамавита на активность катепсина D в перитонеальных макрофагах мышей

Киреева И.В., к.м.н., Тимофеева Т.Н., Степанова Т.Н., к.м.н.,  
ФГБУ НИЦЭМ им.Гамалеи Минздрава России, Москва

**Аннотация.** Изучали воздействие гамавита на активность лизосомального фермента катепсина D в перитонеальных макрофагах мышей. Установлено, что гамавит оказывает зависимое от дозы модулирующее воздействие на активность катепсина D, что подтверждает ранее обнаруженные иммуномодулирующие свойства гамавита.

**Ключевые слова:** гамавит, иммуномодулятор, лизосомальные ферменты, катепсин D, макрофаги

### Введение

Лизосомальные протеазы, в том числе катепсин D, играют важную роль в иммунном ответе, участвуя в процессировании и презентации антигенов, а также в активации NOD-like PAR и ряда других рецепторов [21]. Препарат гамавит широко используется в практической ветеринарии как био- и гемостимулятор [3,13,14,17], иммуномодулятор [5,9,] и детоксикант [8,9].

Настоящая работа проведена с целью изучения влияния гамапрена на активность катепсина D в перитонеальных макрофагах.

### Материалы и методы

Мышам вводили внутривентриально гамавит в дозах: 0,05; 0,1 и 0,5 мл. Через 1 сутки получали перитонеальные макрофаги и определяли активность катепсина D, как описано ранее [6,8]. Кратко: пробы центрифугировали 30 мин при 4000 об/мин. После

центрифугирования отбирали 100 мкл надосадочной жидкости и определяли количество образовавшегося тирозина методом Лоури. Колориметрирование проводили при  $\lambda=750$  нм. Активность фермента определяли как разность в оптической плотности между опытными и контрольными пробами и выражали в мкг тирозина, образовавшегося за 1 мин инкубации в пересчете на 1 мг белка. Все указанные тесты выполнялись параллельно, в одной системе с использованием одного и того же пула перитонеальных макрофагов для каждой группы животных, состоящей из 6 мышей.

### Результаты и обсуждение

В таблице приведены результаты эксперимента по динамике изменения количества тирозина, как продукта реакции катепсина D с гемоглобином, под воздействием гамавита.

Таблица. Влияние гамавита на активность катепсина D

Доза гамавита, мл	Уровень катепсина D (мкг тирозина/мг белка)	Индекс стимуляции, %
-	915±34	100,0
0,05	825±24	89,0
0,1	1275±45*	138,1
0,5	558,8±21	61,0

\* разница по сравнению с контролем достоверна,  $P \leq 0,01$

Препарат в дозе 0,5 мл снижает активность катепсина D на 39%. Доза 0,1 мл гамавита является оптимальной из 3 испытанных: она усиливает активность катепсина D на 38,1 %, способствуя процессированию и презентации антигенов, апоптозу воспалительных клеток. Доза 0,05 мл гамавита недостаточна для преодоления стресса мышей, связанного с внутривентриальной инъекцией. Эти данные хорошо согласуются с ранее полученными результатами о наличии у гамавита антиоксидантных свойств и модуляции кислородного метаболизма макрофагов [7,16]. Гамавит широко используется в практической ветеринарии при лечении инфекционных и паразитарных заболеваний [1,2,15,18,20], анемии [13,17], отравлений [11,12] кожных заболеваний и иной патологии [4,19]. Катепсину D принадлежит важная роль

не только в распаде белка, но и при развитии ряда патологических состояний [10]. Также катепсин D является важным медиатором апоптоза [22], его активация предшествует активации каспаз и изменению мембранного потенциала митохондрий [23]. Усиленная работа лизосомного аппарата под действием гамавита, наряду с активным кислородным метаболизмом, способствует естественной работе макрофагов, необходимой для взаимодействия с патогеном. При условии нормализации фагоцитарного процесса, бактерицидной активности, работы лизосомного аппарата в макрофагах на ранних сроках, можно в целом говорить о восстановлении (коррекции) поврежденных звеньев иммунного ответа.

### Литература:

1. Анников В.В., Красников А.В., Санин А. В. Эффективность Гамавита при проведении дегельминтизации котят и щенков. Ветеринарная клиника 2018 N5 с.24-25.

2. Васильев И.К., Шелапутина И.А., Цветкова Н.Н., Богаутдинова Т.В., Санин А.В. Применение нового комплексного иммуномодулятора гамавита при лечении пироплазмоза у собак. Ветеринарная патология. 2003. N1 (5). С.159-161.
3. Гордеева Е.В., Васильев И.К., Зайцева Л.Г., Киреева И.В., Санин А.В. Опыт применения гамавита в ветеринарной гериатрии. Ветеринарный доктор 2011 №9, с.2-3.
4. Гордеева Е.В. О применении гамавита при парапроктитах и сопутствующей кожной патологии. Школа науки 2018 N10. С.21-22
5. Григорьева Е.А., Пронин А.В., Санин А.В., Наровлянский А.Н., Кожевникова Т.Н., Тимофеева Т.Ю., Санина В.Ю., Степанова Т.Н., Герасимова Е.В., Иванова А.М. Воздействие препарата Гамавит на активность естественных киллерных клеток. Ветеринария Кубани 2016 №4, с.27-28.
6. Зайцева Л.Г., Васильева Е.И., Горская Е.М. Функциональная активность макрофагов при экспериментальных дисбактериозах кишечника крыс. Журн. микробиол. 1991, 8: 68 – 71.
7. Зайцева Л.Г., Бехало В.А., Васильев И.К., Годунов Р.С., Киреева И.В., Кожевникова Т.Н., Нагурская Е.В., Наровлянский А.Н., Ожерелков С.В., Пронин А.В., Санин А.В. Коррекция функциональной активности перитонеальных макрофагов мышей фоспренилом и гамавитом при введении высоких доз альфа-токсина *Staphylococcus aureus*. Журн. микробиол. 2005. №6. С. 51-57.
8. Киреева И.В. Воздействие гамапрена на активность катепсина D в перитонеальных макрофагах мышей. Школа науки 2019 N1 с 31-32
9. Козлов В.Г., Ожерелков С.В., Санин А.В., Кожевникова Т.Н. Адьюванты в современной медицине и ветеринарии. Журн.микробиол., 2014, №1, С.91-102.
10. Нецадим Д.В., Архипов С.А., Шкурупий В.А., Ахраменко Е.С., Троицкий А.В. Исследование влияния липосомальной формы декстразида на экспрессию катепсинов В и D макрофагами *in vitro*. Сибирский научный медицинский журнал. 2017. Т. 37, № 6. С. 16-21
11. Переслегина И.О., Дубровина Т.С., Клинцева Т.Ю., Зотова С.Н., Кожевникова Т.Н., Санин А.В. Клинические случаи хронического отравления кошек: опыт применения препарата Гамавит. Ветеринария Кубани 2017 N5 с.23-26
12. Переслегина И.О. Комплексная терапия хронического отравления и сопутствующей патологии у собаки: клинический случай Школа науки 2018 N9 с.26-278
13. Савойская С.Л., Санин А.В., Кожевникова Т.Н. Лечение собак с анемией при хронической болезни почек с помощью гемостимулятора и детоксиканта. Ветеринария 2019 N12 с.50-52
14. Санин А.В., Липин А.В., Зинченко Е.В. Ветеринарный справочник традиционных и нетрадиционных методов лечения собак. М.Центрполиграф 2006, 580 с.
15. Санин А.В., Васильев И.К. Проблема снижения токсичности антипротозойных препаратов при бабезиозе собак. Российский Ветеринарный Журнал 2007 №2 с.43-45. 15
16. Санин А.В., Зайцева Л.Г., Киреева И.В., Березина Л.К., Санина В.Ю., Пронин А.В., Наровлянский А.Н. Гамавит – антидотная терапия при оксидативном стрессе. Ветеринарный доктор 2008. №6. с.7-8.
17. Санин А.В. Гамавит – эффективное средство при экстракорпускулярных анемиях. Ветеринарная клиника 2009.№4 с.16-19
18. Санин А.В., Васильев И.К. К вопросу о повышении эффективности лечения бабезиоза собак. Ветеринария Кубани. 2008. №2. с.14-15.
19. Санин А.В., Кожевникова Т.Н., Сосновская О. Ю., Ожерелков С.В. Антитоксический эффект Гамавита при экспериментальной нейротоксической энцефалопатии у мышей. Евразийское научное объединение 2019 Т.3 N3 (49) С.212-214
20. Фурман И.М., Федорченко О.А., Гламаздин И.Г., Шелапутина И.А., Зинкина Т.С., Богаутдинова Т.В., Никитин О.А., Васильев И.К., Санин А.В. Новый подход к лечению пироплазмоза у собак. Ветеринар. 2005.N1. С.24-25
21. Gruber E.J., Leifer C.A. Molecular regulation of TLR signaling in health and disease: mechano-regulation of macrophages and TLR signaling. *Innate Immun.*2020 Vol.26 (1).P.15-25
22. Kagedal K., Zhao M., Svensson I. et.al. Sphingosine-induced apoptosis is dependent on lysosomal proteases. *Biochem. J.* 2001,359 (2): 335-343.
23. Ollinger K. Inhibition of cathepsin D prevents free-radical-induced apoptosis in rat cardiomyocytes. *Arch.Biochem.Biophys.* 2000,373(2): 346-351.